

Aus der Universitätsklinik für Frauenheilkunde, Geburtshilfe
und Reproduktionsmedizin

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. W. Schmidt

**Untersuchung der Plazentamorphologie und
immunhistochemischer Färbungen bei fetaler
Wachstumsretardierung mit und ohne
enddiastolischem Fluss in der Arteria umbilicalis.**

*Dissertation zur Erlangung
des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes*

2009

vorgelegt von: Andrea Demarrez
geboren am: 01.01.1977 in Frechen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
0	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS 4
1	ZUSAMMENFASSUNG 5
2	EINFÜHRUNG 9
3	PATIENTENGUT, MATERIALIEN UND METHODEN 14
3.1	<u>Statistischer Teil</u> 14
3.1.1	Auswahl der Patienten 14
3.1.2	Der Duplex-Scanner 14
3.1.3	Die Doppler-Flow-Untersuchungen 15
3.1.4	Auswertung der Doppler-Flow-Kurven 15
3.1.5	Klinische Befunde 16
3.1.6	Geburtsbefund 16
3.2	<u>immunhistochemische Färbungen</u> 16
3.2.1	Apoptose/Tunel-Färbung 17
3.2.2	Mib-1-Färbung 18
3.2.3	Bcl-2-Färbung 18
3.2.4	TNF- α -Färbung 18
3.2.5	IGF-1-Färbung 18
3.2.6	VEGF-Färbung 18
3.3	<u>ibas</u> 20
3.4	<u>Dateneingabe und statistische Auswertung</u> 20
4	ERGEBNISSE 22
4.1	<u>Statistischer Teil</u> 22
4.1.1	Kindliche Blutgaswerte 22
4.1.1.1	Base Excess 22
4.1.1.2	Bicarbonatkonzentration 22
4.1.1.3	Kohlendioxidpartialdruck – pCO ₂ 23
4.1.1.4	pH 24
4.1.1.5	Sauerstoffpartialdruck – pO ₂ 25
4.1.1.6	Standard Bicarbonat-Konzentration 25
4.1.1.7	Standard Base Excess 26

4.1.1.8	Kohlendioxidkonzentration	27
4.1.1.9	Sauerstoffkonzentration	27
4.1.2	APGAR-Werte	28
4.1.3	Schwangerschaftsalter	29
4.1.4	Plazentagewicht	29
4.1.5	Geburtsgewicht	30
4.1.6	Kindliche Blutparameter	31
4.1.6.1	Hämatokrit	31
4.1.6.2	Hämoglobin	32
4.1.6.3	Normoblasten	34
4.1.6.4	Leukozyten	35
4.1.6.5	Thrombozyten	36
4.2	<u>Immunhistochemische Färbungen</u>	38
4.2.1	Apoptose/Tunel-Färbung	38
4.2.2	Mib-1-Färbung	41
4.2.3	Bcl-2-Färbung	43
4.2.4	TNF- α -Färbung	45
4.2.5	IGF-1-Färbung	47
4.2.6	VEGF-Färbung	49
4.3	<u>Ibas-Analyse</u>	51
5	DISKUSSION	61
6	LITERATURVERZEICHNIS	75
7	DANK	99
8	LEBENS LAUF	100

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS:

A.	Arteria
Aa.	Arterien
Abb.	Abbildung
APGAR	Score zur Vitalitätsbeurteilung des Neugeborenen in den ersten 10 Lebensminuten
Art.	arteriell
ABEc	Base Excess (Basenabweichung)
EDB	Enddiastolischer Block
HCO _{3c}	Bicarbonatkonzentration
IRS	Immunreactivityscore
IUGR	Intrauterine Growth Retardation
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
Perz.	Perzentile
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PP	Prozentsatz der positiven Zellen
RF	Reverse Flow
SBCc	Standard Bicarbonat-Konzentration
SBEc	Standard Base Excess
Sens.	Sensitivität
SI	Staining Intensity = Färbeintensität
Spez.	Spezifität
SS	Schwangerschaft
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
tO _{2c}	Sauerstoffkonzentration
tCO _{2c}	Kohlendioxidkonzentration
Ven.	venös
Wo.	Wochen

1 ZUSAMMENFASSUNG

Als Grundlage dieser Arbeit stellte sich die Frage, ob sich Unterschiede bezüglich der Plazentamorphologie, immunhistochemischer Marker, maternalen und fetaler Blutparameter sowie der Daten der postpartalen Zustandsbeschreibung des Neugeborenen bei zwei Gruppen mit fetaler Wachstumsretardierung mit und ohne enddiastolischem Fluss finden lassen.

Im Rahmen dieser Studie wurden 11 Fälle mit in der antepartal durchgeführten Doppleruntersuchung diagnostiziertem Reverse Flow und 20 Fälle mit enddiastolischem Block untersucht. Diese wurden mit zwei Kontrollgruppen mit etwa gleichem Schwangerschaftsalter korreliert (matched pairs Analyse):

Untersucht wurden diese Gruppen bezüglich

- morphometrischer Parameter
 - maximaler und minimaler Zottendurchmesser (μm), Zottenfläche (μm^2), Zottenumfang (μm), Anzahl der Gefäße pro Zotte, mittlere Fläche eines Zottengefäßes (μm^2), Summe der Gefäßflächen pro Zotte (μm^2), Vaskularisationsgrad (= Summe der Gefäßflächen pro Zotte / Zottenfläche), Anzahl der Epithelplatten pro Zotte, Summe der Epithelplattenlängen pro Zotte (μm), Anteil der Epithelplatten am Zottenumfang (%), mittlerer Abstand Gefäß zu Zottenoberfläche (μm), Sprouts pro Zotte, Sproutfläche pro Zotte (μm^2),
- immunhistochemischer Parameter
 - Mib-1, TNF- α , Bcl-2, IGF-1, VEGF, Apoptose,
- kindlicher Blutparameter
 - Hämatokrit, Hämoglobin, Normoblasten, Leukozyten, Thrombozyten
- Blutgaswerte der Mutter
 - ABEC, HCO₃c, pCO₂, pH, pO₂, SBCC, SBEC, tCO₂c, tO₂c
- der APGAR-Werte des Kindes,
- des Plazentagewichtes (inkl. Nabelschnur und Eihäute) und
- des Geburtsgewichtes.

Bei der Auswertung der **morphometrischen Parameter** zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich der mittleren Fläche eines Zottengefäßes, der Summe der Gefäßflächen pro Zotte, der Anzahl der Sprouts sowie der Sproutfläche pro Zotte. Insgesamt entsprechen diese Veränderungen einer mangelnden Ausdifferenzierung von Plazentastrukturen bei Vorliegen einer biometrisch und dopplersonographisch festgestellten uteroplazentaren Dysfunktion.

Bei der Untersuchung der **immunhistochemischen Parameter** fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Die Analyse der **kindlichen Blutparameter und der Blutgaswerte der Mutter** zeigte im Vergleich der K1-Gruppe mit der EDB-Gruppe einen signifikant höheren arteriellen und venösen pH, einen höheren venösen pO_2 und SBCc sowie einen höheren arteriellen und venösen tO_2c . Bei den kindlichen Blutparametern fanden sich am 2. Tag signifikant niedrigere Normoblastenwerte, am 5. Tag höhere Leukozytenwerte sowie am 1. und 3. - 5. Tag signifikant höhere Thrombozytenwerte. Zusätzlich war am ersten Tag der Hämatokrit-Wert signifikant niedriger. Diese Veränderungen können hinweisen auf eine chronische Hypoxämie des Feten, da Normoblasten, also kernhaltige unreife Vorstufen der Erythrozytopoese, im peripheren Blut als Ausdruck einer deutlichen Stimulation der Blutbildung gelten.

Der Unterschied der Mittelwerte der **APGAR-Werte** war nicht signifikant.

Das **Plazentagewicht** sowie das **Geburtsgewicht** der EDB-Gruppe waren signifikant geringer gegenüber der Kontrollgruppe 1, hinweisend auf eine Wachstumsretardierung bei mangelhafter Ausbildung der Plazenta.

SUMMARY:

Analysis of morphometry of the placenta and immunohistochemical staining in cases of fetal growth retardation with and without end-diastolic flow in the umbilical arteria.

As basis of this work the question was risen, whether differences can be found referring to placenta morphology, immunohistochemical parameters, maternal and fetal blood parameters as well as data describing the postpartal condition of the newborn in two groups with foetal growth retardation with and without end-diastolic flow.

In the scope of this study 11 cases with in the antepartal performed Doppler ultrasonography found reverse end-diastolic flow (RF) and 20 cases with absent end-diastolic flow (EDB) were examined. These were correlated to two control groups with approximately the same gestation time (matched pairs analysis):

These groups were tested in respect of:

- morphometric parameters
 - maximum and minimum villous diameter (μm), villous area (μm^2), villous circumference (μm), number of vessels per villous, mean area of a villous vessel (μm^2), sum of the vessel areas per villous (μm^2), degree of vaskularization (= sum of the vessel areas per villous in relation to the villous area), number of epithelial plates per villous, sum of the length of epithelial plates per villous (μm), percentage of epithelial plates per villous circumference (‰), mean distance between vessel and villous surface (μm), sprouts per villous, sprout area per villous (μm^2),
- immunohistochemical parameters
 - Mib-1, TNF- α , Bcl-2, IGF-1, VEGF, Apoptosis
- puerile blood parameters
 - hematocrit, haemoglobin, normoblasts, leukocytes, thrombocytes
- maternal blood gas parameters

- ABEC, HCO₃c, pCO₂, pH, pO₂, SBCc, SBEC, tCO₂c, tO₂c
- puerile APGAR-score
- placental weight (including umbilical cord and fetal membranes)
- weight at birth.

The evaluation of the **morphometric parameters** showed significant differences referring to the mean area of a villous vessels, the sum of vessel areas per villous, the number of sprouts as well as the sprout area per villous. In summary these variations correspond to a defective differentiation of placental structures in case of biometrically and Doppler ultrasonographically detected uteroplacental dysfunction.

The analysis of the **immunohistochemical parameters** showed no statistical significant differences between these groups.

The analysis of the **puerile blood parameters** and the **maternal blood gas parameters** showed for the K1-group compared to the EDB-group a significantly higher arterial and venous pH, a higher venous pO₂, and SBCc as well as a higher arterial and venous tO₂c. The results of the puerile blood parameters demonstrated on the second day significantly lower numbers of normoblasts, on the 5th day higher numbers of leukocytes, and on the 1st and 3^{dr} – 5th day higher numbers of thrombocytes. Additionally on the first day the hematocrit value was significantly lower. These variations can indicate a chronic hypoxemia of the fetus, because normoblasts - nucleated dysmature precursor cells of erythrocytopoiesis in the peripheral blood - are considered as an expression of an intense stimulation of blood formation.

The differences of the means of the **APGAR-scores** were not significant.

The **placental weight** as well as the **birth weight** of the EDB-group were significantly lower compared to control group 1, referring to a growth retardation at defective development of the placenta.

2 EINFÜHRUNG

Die antepartale, nichtinvasive Blutflussmessung der fetalen Gefäße mittels Doppler-Sonographie hat sich in den letzten Jahren zunehmend als ein wertvolles Instrument zur Überwachung von Risikoschwangerschaften erwiesen. Bei diversen Fragestellungen in der Pränataldiagnostik hat sie ihren festen Platz [1]. Durch die Messung der uteroplazentaren Perfusion ist die Dopplersonographie eine Methode zur Beurteilung der Plazentafunktion [28] und zur Feststellung einer chronischen Mangelversorgung bei Risikoschwangerschaften [60, 116, 146]. Eine erhöhte Mortalität sowie eine erhebliche Morbidität lassen sich bei Feten mit einem Reverse Flow bzw. einem Enddiastolischen Block in der A. umbilicalis und / oder der fetalen Aorta nachweisen [45, 105, 116]. Da beim Fetus, im Gegensatz zum Erwachsenen, das Blut in der Plazenta oxygeniert wird, war eine der zugrunde liegenden Fragen dieser Arbeit, inwiefern pathologische Dopplerwerte in der Arteria umbilicalis, die hinweisend auf eine erhöhte Impedanz im uteroplazentaren Stromgebiet [51] und somit auf eine chronische Mangelversorgung sind, mit Veränderungen der Plazentaarchitektur korrelieren. Hierzu wurden Plazentaendzotten in der Plazentonperipherie morphometrisch analysiert. Unter anderem wurde besonderes Augenmerk auf das Vorkommen von sog. Sprouts gelegt, die Proliferationsknoten entsprechen und als hypoxieassoziiert gelten [141].

Ein weiterer Komplex dieser Arbeit befasst sich mit retrospektiv erhobenen Blutparametern und geburtsbezogenen Werten. Bei der Untersuchung der kindlichen Blutparameter galt u. a. besonderes Augenmerk den Normoblasten. Diese sind rote Vorstufen der Retikulozyten. Es handelt sich um kleine Zellen mit pyknischem Kern, die sich bei massiver Stimulation der Erythrozytopoese im peripheren Blut abgrenzen lassen. Diese könnten einen Hinweis auf eine Hypoxämie im Fetalblut liefern. Als ein weiteres Zeichen der Mangelversorgung wird bei Fällen mit einem Reverse Flow bzw. einem Enddiastolischen Block in der A. umbilicalis und/oder der fetalen Aorta auch gehäuft eine erhöhte neonatale Azidoserate beobachtet [36, 45].

Im Rahmen der Arbeit wurden des Weiteren folgende immunhistochemische Marker an Schnitten von Plazentagewebe untersucht:

Apoptose: Apoptose bezeichnet die Nekrose bestimmter Zellen in einem Gewebe, die das mittelbare oder unmittelbare Resultat eines zelleigenen Selbstzerstörungsprozesses ist und durch eine Schrumpfung der Zellen charakterisiert wird. Die Apoptose läuft ohne Aktivierung des Immunsystems oder eine generalisierte Entzündungsreaktion ab [40, 136]. Der Prozess der Apoptose wurde erstmalig 1972 von Kerr et al. beschrieben [64]. Dieser schilderte eine Form des Zelltodes, die sich von der Nekrose unterschied. Apoptose – auch programmierter Zelltod oder Zell-Suizid genannt – ist ein grundlegendes biologisches Phänomen, welches in einer großen Bandbreite physiologischer und pathologischer Situationen vorkommt und der physiologischen Gewebsumsierung dient. Die Apoptose wird von verschiedensten Faktoren / Mediatoren beeinflusst, die einerseits die Apoptose hemmen, andererseits die Apoptose fördern können. In dieser Studie soll untersucht werden, ob die Apoptoserate in der Plazenta bei pathologischen Dopplerformen erhöht ist.

Mib-1: Ki-67 wurde 1983 durch Gerdes beschrieben: Er untersuchte einen monoklonalen Antikörper, der durch Immunisierung von Mäusen mit der nukleären Fraktion von L428-Zellen generiert wurde [39]. Das Ki-67-Protein ist ein nicht-histonisches Protein, das zu 90-95% in den Nukleoli und zu 5-10% im Nukleoplasma lokalisiert ist [138]. Das humane Ki-67-Gen liegt auf Chromosom 10 (10q25-qter) [34]. Bei Mib-1 handelt es sich um das Epitop, also die antigene Determinante des Ki-67-Gens. Das Ki-67-Antigen läßt sich während der G1-, G2-, S- und M-Phase in proliferierenden Zellen nachweisen. Hingegen werden Zellen, die sich in der G0-Phase befinden, nicht angefärbt. Während der G1-Phase beginnt die Expression, sie steigt im Verlauf während der S- und G2-Phase weiter an und erreicht ein Maximum während der M-Phase (= Mitose-Phase), sinkt jedoch wieder rasch während der G1-Phase [38]. Aus dieser Beobachtung ergibt sich, dass Ki-67 somit einem Marker der endothelialen Zellproliferation eines Gewebes entspricht [66]. Der Mib-1-Antikörper wird als einer der besten proliferativen Marker bei der Analyse von formalin-fixierten Geweben, im Vergleich zu anderen proliferativen Markern mit immunhistochemischer Färbung, welche monoklonale Ki-67-Antikörper nutzen [35, 103], angesehen. Ki-67 lässt sich im Endometrium und der Dezidua nachweisen [111]. Die optische Unterscheidung zwischen der relativ kleinen Anzahl von Zytotrophoblastenzellkernen und der

deutlich größeren Anzahl von Synzytiotrophoblastenzellkernen ist für die Analyse mittels Mib-1-Färbung nicht relevant, da nur Zytotrophoblasten proliferieren und sich somit nur diese anfärben [10].

Bcl-2: Bcl-2 wurde erstmals bekannt durch seine Rolle in follikulären B-Zell-Lymphomen, wo sich die Gen-Translokation t(14; 18)(q32;q21) [23, 76, 137] fand, die zu einer Überexpression des Bcl-2-Proteins führte und antiapoptotisch wirkte, d.h. den programmierten Zelltod unterdrückte und das Zellüberleben begünstigte [52, 80]. Das Bcl-2 Protoonkogen wurde auf mitochondrialen Membranen, dem endoplasmatischen Retikulum, perinukleären Membranen und dem Nukleus lokalisiert [80, 81]. Bcl-2 wird regelhaft im Plazentagewebe exprimiert [88, 107] und spielt eine wichtige Rollen bei der Tumorgenese und Apoptosehemmung. Bcl-2 wurde immunolokalisiert in Synzytiotrophoblasten der Chorionzotten und scheint vom 1. bis durch das 3. Trimester der Schwangerschaft zu persistieren [108]. Bcl-2 immunpositive Zellen wurden zusätzlich in Endometriumstromazellen Nichtschwangerer und in Drüsenzellen gefunden [71, 130]. Später fand sich, dass Bcl-2 die Apoptose, die durch Drogen, UV-Strahlen, Viren, Tumor-Nekrose-Faktoren und rückläufige Wachstumsfaktoren ausgelöst wurde, hemmen kann [79].

TNF- α : TNF ist einer der zentralen humoralen Mediatoren aus der Gruppe der Zytokine, lokalisiert auf dem Chromosom 6 [22, 126]. Es existieren zwei Formen des Tumor-Nekrose-Faktors: TNF- α (syn. Kachektin) und TNF- β (syn. Lymphotoxin, LT) [90]. TNF- α wird im Wesentlichen durch Monozyten und Makrophagen produziert [11], kann aber auch durch T-Lymphozyten erstellt werden [102]. Als Stimulus der TNF-Expression dienen hauptsächlich Lipopolysaccharide in der Membran gramnegativer Bakterien, jedoch auch andere Erreger wie Pilze, Mykoplasmen, Viren und physikalische Faktoren (ionisierende Strahlung, Sauerstoffradikale, Hitze) [135]. TNF wurde aufgrund seiner zytotoxischen Aktivität gegen Tumorzellen entdeckt [16]. Inzwischen zeigte sich jedoch, dass TNF- α ein weites Spektrum biologischer Funktionen hat und an der Zellproliferation und -differenzierung sowie bei Entzündungen und an verschiedenen immunologischen Funktionen beteiligt ist [7, 8]. Generell findet sich eine erhöhte TNF- α -Konzentration an Orten entzündlichen Geschehens als Teil

einer natürlichen Immunantwort auf physiologische Reize. Diese Abwehrreaktion wird mit Hilfe von TNF eingeleitet und unter anderem über eine kaskadenartige Freisetzung von Sekundärmediatoren aufrecht erhalten. Weiterhin stimuliert TNF die Proliferation von Fibroblasten und die Produktion von PGE2 und Kollagenase, es induziert bei diesen und Endothelzellen die Expression von HLA-A- und -B-Antigenen [17, 24, 27, 91, 139]. Die durch TNF ausgelösten zellulären Reaktionen beinhalten die Aktivierung von T-Lymphozyten, Makrophagen und Endothelzellen sowie die Vermittlung der Interaktion zwischen T- und B-Zellen [2, 3, 13, 42, 63, 85, 94, 112, 115].

IGF-1: Die Wachstumsfaktoren IGF (insulin-like growth factor) -I und IGF-II sind insulinähnliche Polypeptide, welche einen insulinähnlichen Effekt an Zellen bewirken. IGF-I wird auch unter dem Synonym Somatomedin C in der Literatur aufgeführt. Die Expression von IGF wurde im menschlichen Endometrium während des Menstruationszyklus nachgewiesen [43, 70, 78]. Der IGF-I-Rezeptor, der sowohl IGF-I als auch IGF-II bindet, ist strukturell nahe verwandt dem Insulin-Rezeptor. Die Bioverfügbarkeit von IGF-I und IGF-II wird reguliert durch die IGF-bindenden Proteine (IGFBP) 1-6 [104, 132]. Immunhistochemische Färbungen zum Nachweis von IGF haben diese Proteine in der Plazenta, besonders in den Synzytiotrophoblasten nachgewiesen [122]. Man nimmt an, dass IGF in den Zytotrophoblasten synthetisiert und danach im Komplex mit IGFBPs im Synzytium gespeichert wird [14, 49]. Aus früheren Arbeiten ist bekannt, dass die Plazenta sowie die Dezidua eine beträchtliche Anzahl von IGF-I-Rezeptoren aufweist [122]. IGF-I stimuliert die humane Plazentalaktogen-Abgabe aus Plazentazellen sowie die Aufnahme von Glukose und Aminosäuren in Throphoblastzellen in dosisabhängiger Weise [53]. In immunhistochemischen Studien fand man, dass sich IGF-I in Synzytiotrophoblasten anfärbte, hinweisend auf eine Regulation der plazentaren Funktionen über autokrine Wege [122]. IGF-I zeigt einen deutlichen Anstieg der Konzentration im dritten Trimester einer regelrechten Schwangerschaft. Jedoch zeigten Studien eine positive Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht (der korrespondierenden Perzentile) und steigendem mütterlichen IGF-I-Spiegel. Somit ergibt sich im Umkehrschluß, dass eine verminderte Bindungsmöglichkeit von IGF-I an seinen plazentaren Rezeptor eine fetale

Wachstumsretardierung, besonders eine beruhend auf vermindertem uteroplazentarem Blutfluss, zur Folge haben kann [18, 55].

VEGF: VEGF ist ein endothel-spezifisches Peptid [98], an Position 6p 12-p21 lokalisiert [140], welches die Proliferation und Migration von Endothelzellen initiieren [32] und die Kapillarpermeabilität steigern kann (zunächst als Vaskulärer Permeabilitätsfaktor (VPF) beschrieben [117]). Es existieren mehrere verschiedene Isoformen, welche durch alternatives Spleißen der VEGF-mRNA entstehen [26, 27]: VEGF₂₀₆, VEGF₁₈₉, VEGF₁₈₂, VEGF₁₆₅, VEGF₁₆₂, VEGF₁₄₈, VEGF₁₄₅, VEGF₁₃₈, VEGF₁₂₁ [6, 77, 133, 142]. Die Expression von VEGF₁₄₅ ist im humanen Uterus, der Plazenta und in mehreren Tumorzelllinien der weiblichen Reproduktionsorgane nachgewiesen [19, 99]. VEGF gilt als der selektivste endothelstimulierende Faktor, welcher auf Endothelzellen direkt mitogen, tubusbildend und Gefäßpermeabilität fördernd wirkt [12, 62, 65, 93]. Er ist ein entscheidender Wachstumsfaktor für die physiologische und pathologische Angiogenese; er ist ein sehr wirkungsvoller Stimulator der vaskulären Permeabilität [30]. Während der Embryonalzeit ist VEGF der wichtigste Angiogenesefaktor [98]. Unter hypoxischen Bedingungen finden sich sowohl in vitro als auch in vivo eine erhöhte VEGF-Expression [9, 96, 97, 120, 121]. Des Weiteren wird der Wachstumsfaktor selber wiederum von verschiedenen Wachstumsfaktoren und inflammatorischen Zytokinen moduliert [15, 127, 128]. Eine wichtige Rolle spielt VEGF bei der Proliferationsregulation von Endothelzellen, sowohl in differenziertem als auch in entdifferenziertem Gewebe [5, 67] und beim zellulären Transport von Blutglukose [124].

Die vorliegende Arbeit will versuchen, zu folgenden Fragen neues Diskussionsmaterial zu liefern und Teilantworten zu geben:

- inwiefern korrelieren pathologische Dopplerwerte in der Arteria umbilicalis mit morphometrisch erfassbaren Veränderungen der Plazentaarchitektur.
- finden sich Zeichen einer chronischen Mangelversorgung oder entsprechender Gegenregulationsversuche in den Färbungen, belegt durch eine pathologische Apoptoserate bzw. eine veränderte Expression von VEGF, TNF- α , Mib-1, Bcl-2, IGF-1?

3 PATIENTENGUT, MATERIALIEN UND METHODEN

3.1 Statistischer Teil

3.1.1 Auswahl der Patienten

Für die Studie wurden 11 Fälle mit Reverse Flow und 20 Fälle mit EDB untersucht.

Parameter für die 20 Fälle der Kontrollgruppe 1 waren: kein pathologischer Dopplerbefund, etwa in der 30. SSW entbunden und normal entwickeltes Kind.

Parameter für die 15 Fälle der Kontrollgruppe 2 waren: leicht pathologischer Dopplerbefund (d. h. kein RF oder EDB), etwa in der 30. SSW entbunden, aber wachstumsretardiert (< 10. Perzentile des intrauterinen Gewichtswachstums).

Bezogen wurde sich auf die Perzentileneinteilungen intrauteriner Wachstumskurven [1].

Um Vergleichbarkeit unter den 4 Gruppen zu erreichen, wurden Fälle mit etwa gleichem Schwangerschaftsalter (RF: $31,08 \pm 3,36$, EDB: $30,23 \pm 1,56$, K1: $30,43 \pm 1,49$, K2: $30,99 \pm 1,21$) genommen.

Die Plazenten der Patientinnen wurden nach der Geburt formalinfixiert und in Paraffinblöcken im Institut für allgemeine Pathologie (Direktor Prof. Dr. Remberger) aufbewahrt.

3.1.2 Der Duplex-Scanner

Die Messungen wurden an hochauflösenden Farbdopplersonographiegeräten der Firma Acuson 128 XP/10 (Mountain View, California, USA) oder mit einem Siemens-Sonoline-Elegra (Siemens, Erlangen, Deutschland) durchgeführt. Es wurde ein 3.5-5 MHz Curved-Array Schallkopf verwendet. Ein Wandfilter von 100 Hz wurde gewählt.

3.1.3+4 Doppler-Flow-Untersuchungen & Auswertung der Doppler-Flow-Kurven

Die dopplersonographischen Untersuchungen wurden im letzten Trimenon der Schwangerschaft in der Abteilung für Pränataldiagnostik und gynäkologischen Ultraschall in der Universitäts-Frauenklinik Homburg/Saar durchgeführt. Die Doppler-Untersuchungen erfolgten in Halbseitenlage in einer wehenfreien Phase. Um Bewegungsartefakte bei der Messung kindlicher Gefäße zu vermeiden, befanden sich die Feten in einer Ruhephase ohne Atembewegungen. Das Sample Volumen des Ultraschalls wurde über den gesamten Gefäßquerschnitt gelegt.

Als Widerstandsparameter im materno-fetalen Gefäßkompartiment wurde die A/B-Ratio bestimmt. Sie beschreibt das Verhältnis zwischen systolischer Frequenzverschiebung A und enddiastolischer Frequenzverschiebung B und ermöglicht somit eine qualitative Beschreibung der Dopplerfrequenzkurve. Eine A/B-Ratio >2 SD für das Schwangerschaftsalter in den vor Ort erstellten Referenzkurven wurde für die Aorta fetalis, die Arteria umbilicalis sowie die Arteria uterina als pathologisch erachtet. Für die Arteria cerebri media wurde eine A/B-Ratio <2 SD für das Schwangerschaftsalter als pathologisch eingestuft. Das Auftreten eines enddiastolischen Flussverlustes bzw. eines Reverse-Fluss in der Arteria umbilicalis oder Aorta fetalis wurde gesondert betrachtet.

Fünf Herzzyklen gleicher Qualität wurden zur Auswertung herangezogen. Aufgrund der relativ kleinen Fallzahl mit einseitige Dopplerpathologie in der Arteria uterina wurde auf eine Unterscheidung von unilateralem oder bilateralem Notch der Arteria uterina, als Ausdruck der mangelhaften Trophoblastinvasion, verzichtet. Die letzte Doppleruntersuchung erfolgte in einem Zeitraum zwischen 6 Stunden und 96 Stunden vor Geburt.

Die Messung der Arteria uterina erfolgte nach Lokalisation des Abganges des Ramus ascendens vom uterinen Hauptstamm. Die Messung der Arteria umbilicalis wurde an einem freien zentralen Anteil der Nabelschnur in einer fetalen Ruhephase ohne Atembewegungen oder Arrhythmien vorgenommen. Die Aorta fetalis wurde im abdominellen Teil im Bereich des Abganges der Arteria renalis untersucht. Ein Winkel $<55^\circ$ zwischen dem Ultraschallstrahl und dem zu untersuchenden Gefäß wurde akzeptiert. Die Arteria cerebri media wurde in typischer Lokalisation zwischen vorderer und mittlerer Schädelgrube im Bereich

des Abgangs aus dem Circulus Wilisii aufgesucht. Der Einstrahlwinkel des Ultraschalles für die Untersuchung der Arteria cerebri media wurde $<15^\circ$ gewählt.

3.1.5 Klinische Befunde

Retrospektiv wurden aus der Krankenakte der Mutter folgende Daten erhoben:

- Base Excess (art., ven.)
- Bicarbonatkonzentration (art., ven.)
- Kohlendioxidpartialdruck (art., ven.)
- Sauerstoffpartialdruck (art., ven.)
- Standard Bicarbonat-Konzentration (art., ven.)
- Standard Base Excess (art., ven.)
- pH (art., ven.)
- Kohlendioxidkonzentration (art., ven.)
- Sauerstoffkonzentration (art., ven.)

Aus der Krankenakte des Kindes wurden des weiteren retrospektiv folgende Daten erhoben:

- Hämatokrit am 1., 2., 3., 4., 5. Tag
- Hämoglobin am 1., 2., 3., 4., 5. Tag
- Normoblasten am 1., 2., 3., 4., 5. Tag
- Leukozyten am 1., 2., 3., 4., 5. Tag
- Thrombozyten am 1., 2., 3., 4., 5. Tag

3.1.6 Geburtsbefund

Retrospektiv wurden aus den Krankenakten der Mutter und des Kindes folgende Daten erhoben:

- Apgar-Werte
- Geburtsgewicht
- Plazentagewicht (inkl. Nabelschnur und Eihäute)
- Schwangerschaftsalter

3.2 Immunhistochemische Färbungen

Für die immunhistochemischen Färbungen wurden Paraffinschnitte mit einer Schichtdicke von 2-3 µm verwendet.

Untersucht wurden die Plazentaschnitte auf:

- Apoptose/Tunel-Färbung
- Mib-1 (Ki-67) (BioGenex, Monoklonal Antibody to Ki-67 Antigen, Cat. No MU370-UC)
- Bcl-2 (Oncogene Research Products, Monoklonal Antibody to bcl-2 (Ab-1), Cat.# OP60)
- TNF-α (Oncogene Research Products, Monoklonal Antibody to TNF-α)
- IGF-1 (DAKO EnVision)
- VEGF (Oncogene Research Products, Monoklonal Antibody to VEGF (Ab-3), Cat.#GF25)

3.2.1 Apoptose/Tunel-Färbung

Bei der Färbung der Schnitte auf Apoptose verwandten wir ein In situ "Zell-Tod-Erkennungs-" Kit, AP der Firma Boeringer („In Situ Cell Death Detection Kit, AP“; Cat. No. 1 684 809).

Prinzip: Bei der TUNEL-Färbung (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP) nick end labeling) bindet das Enzym TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase) an freie 3'-Hydroxygruppen ("nick ends") von DNA Einzelstrangbrüchen, die als typische Zeichen der Apoptose gelten. An das TdT ist ein fluoreszierender Stoff gebunden, an den wiederum ein Antifluoreszenz-Antikörper bindet, dabei handelt es sich um ein mit alkalischer Phosphatase konjugiertes Fab-Fragment. Nun wird noch ein daran bindendes Farb-Substrat zugefügt, damit eine Analyse unter dem Lichtmikroskop möglich wird.

Diese Methode wurde erstmals von Gavrieli et al. 1992 beschrieben [37].

Zu Beginn wurden die 5 µm dicken Schnitte zunächst entparaffiniert und rehydriert. Dann wurden sie mit Proteinase K versetzt und für 15 - 30 Minuten bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert. Anschließend wurden die Schnitte mit je 50 µl "Tunel-Mischung" versehen und für weitere 60 Minuten bei

37°C inkubiert. Danach wurde den Schnitten der Umwandlungsantikörper zugefügt. Für die notwendige Farbentwicklung benutzten wir ein Neurofuchsin-Kit; die Farbentwicklung war rot. Dann wurden die Schnitte in Hämatoxylin gegengefärbt, über eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol dehydriert und zum Schluß eingedeckt.

Bei der Auswertung der Apoptose-Schnitte gingen wir nach folgendem Prinzip vor:

1. Schritt: aus jeder der 4 Gruppen wählten wir willkürlich 5 Schnitte. Pro Schnitt wurde nun in einem zufällig unter dem Mikroskop mit 10facher Vergrößerung eingestellten Bereich mit einem Zählraster, das dann einem Bereich der Größe 1 mm² entspricht, die Anzahl der darin enthaltenen Zellen ausgezählt.

2. Schritt: nun wurden wieder unter dem Mikroskop mit dem gleichen Zählraster pro Schnitt 5 willkürlich gewählte Felder eingestellt und darin die Anzahl der apoptotischen Zellen, unterschieden nach Zytotrophoblasten und Synzytiotrophoblasten, ausgezählt.

3.2.2 – 6 Mib-1-, Bcl-2-, TNF- α -, IGF-1-, VEGF-Färbung

Bei der immunhistochemischen Färbung wurden die 5 μ m dicken Schnitte zunächst entparaffiniert und rehydriert. Dann fand die Hemmung der endogenen Peroxydase mit 3%igem H₂O₂ statt. Eine Demaskierung wurde durch Kochen der Schnitte in Citrat in der Mikrowelle mit anschließender Abkühlungsphase erreicht. Eine unspezifische Antikörperbindung wurde verhindert, indem die Schnitte in dazu passendem Normalserum inkubiert wurden. Dann wurden die Schnitte mit dem jeweiligen Primärantikörper über Nacht bei 4°C inkubiert.

Als Detektionsmöglichkeit für die Antikörper benutzten wir am folgenden Tag die Streptavidin-Biotin-Methode. Dann wurden die Schnitte in Hämatoxylin gegengefärbt, über eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol dehydriert und zum Schluß eingedeckt.

Bei der Auswertung der Mib-1 Schnitte bezogen wir uns auf folgenden Immunreaktiven Score (modifizierter Remmele-Score) [101]:

*SI-Einteilung:

- 0 = keine Färbereaktion
- 1 = schwache Färbereaktion
- 2 = mäßige Färbereaktion
- 3 = starke Färbereaktion

*PP-Einteilung:

- 0 = keine positiven Zellen
- 1 = <10% positive Zellen
- 2 = 10-50% positive Zellen
- 3 = 51-80% positive Zellen
- 4 = >80% positive Zellen

Den Immunreactivityscore bildet dann das Produkt der beiden Werte: $IRS = SI \times PP$

Bei der Auswertung der anderen Färbungen (Bcl-2, TNF- α , IGF-1, VEGF) legten wir den normalen Remmele-Score zugrunde:

*SI-Einteilung:

- 1 = schwache Färbereaktion
- 2 = mäßige Färbereaktion
- 3 = starke Färbereaktion

*PP-Einteilung:

- 1 = 1-25% positive Zellen
- 2 = 25-50% positive Zellen
- 3 = >50% positive Zellen

Den Immunreactivityscore bildet dann ebenfalls das Produkt der beiden Werte: $IRS = SI \times PP$

SI = **S**taining **I**ntensity = Färbeintensität

PP = **P**rozentsatz der **p**ositiven Zellen

Zur Untermauerung der Ergebnisse wurden von jeder Probe Negativ-Kontrollen angefertigt, indem jeweils der primäre Antikörper durch Maus-Immunglobulin in identischer Konzentration ersetzt wurde. Die Negativ-Kontrolle war stets negativ.

3.3 Ibas

Die morphometrische Plazentazottenanalyse wurde mit dem computergestützten Bildanalysesystem IBAS 2000 der Fa. Kontron durchgeführt. Untersucht wurden nach Masson-Goldner (Trichromfärbung nach Goldner / Haematoxylin-Ponceau-Säurefuchsin-Lichtgrün-Färbung) gefärbte Paraffinschnitte der Schichtdicke 2-3 µm. Pro Präparat wurden 50 nahezu runde Zotten (es muss gelten: maximaler Durchmesser / minimalen Durchmesser < 1,3) in der Plazentonperipherie nach untenstehenden Parametern vermessen, indem Strukturen mittels eines Cursors umfahren bzw. markiert und anschließend rechnerisch ausgewertet wurden.

Untersucht wurden folgende Parameter:

- P01 maximaler Zottendurchmesser (µm)
- P02 minimaler Zottendurchmesser (µm)
- P03 $P01:P02 = D_{max} / D_{min} \leq 1,29$
- P04 Zottenfläche (µm²)
- P05 Zottenumfang (µm)
- P06 Anzahl der Gefäße pro Zotte
- P07 mittlere Fläche eines Zottengefäßes (µm²)
- P08 Summe der Gefäßflächen pro Zotte (µm²)
- P09 Vaskularisationsgrad (= Summe der Gefäßflächen pro Zotte / Zottenfläche)
- P10 Anzahl der Epithelplatten pro Zotte
- P11 Summe der Epithelplattenlängen pro Zotte (µm)
- P12 Anteil der Epithelplatten am Zottenumfang (‰)
- P13 mittlerer Abstand Gefäß zu Zottenoberfläche (µm)
- P14 Sprouts pro Zotte
- P15 Sproutfläche pro Zotte (µm²)

3.4 Dateneingabe und statistische Auswertung

Die Dateneingabe erfolgte mit Hilfe des Programms Excel auf einem PC. Alle Daten, die sich aus den mütterlichen und kindlichen Blutuntersuchungen, dem Geburtsbefund, den immunhistochemischen Färbungen und der Ibas-Analyse ergaben, wurden, sofern numerische Größen vorlagen, unverschlüsselt eingegeben. Im Rahmen der Auswertung der Färbung griffen wir auf bewährte Scores (z. B. modifizierter Remmele-Score) und deren Zahlenschlüssel zurück. Fehlende Daten wurden als solche für das Statistikprogramm kenntlich gemacht.

Die statistische Ausarbeitung und die graphische Bearbeitung wurden mit Hilfe des Computerprogramms SPSS am hiesigen Biometrischen Institut und des Tabellen-Kalkulations-Programms Excel durchgeführt.

Bei allen Werten wurde jeweils das arithmetische Mittel, der Median, die einfache Standardabweichung, sowie das Minimum und das Maximum der Werte berechnet.

Zur Prüfung von Signifikanzen wurden bei den mütterlichen und kindlichen Blutwerten, dem Geburtsbefund und der Ibas-Analyse der Post-Hoc-Test (mit angewandter Scheffé-Prozedur) und die einfaktorielle Anova-Analyse angewendet. Bei der Auswertung der immunhistochemischen Färbungen legten wir den Chi-Quadrat-Test nach Pearson zu Grunde.

4 ERGEBNISSE

4.1 Statistischer Teil

4.1.1 Kindliche Blutgaswerte

4.1.1.1 Base Excess (art., ven.)

Im Mittel betrug der art. ABEC in der RF-Gruppe $-3,68$ (Median $-2,85$; Bereich $-10,4 - 0,4$), der EDB-Gruppe $-2,59$ (Median $-4,1$; Bereich $-11,8 - 33,9$), der K1-Gruppe im Mittel $-1,97$ (Median $-1,3$; Bereich $-7,6 - 1,8$) und der K2-Gruppe im Mittel $-4,55$ (Median $-3,5$; Bereich $-14 - 0,9$). Der venöse ABEC lag im Mittel in der RF-Gruppe bei $-3,48$ (Median $-2,85$; Bereich $-8,8 - 0,3$), in der EDB-Gruppe bei $-1,64$ (Median $-3,3$; Bereich $-12,3 - 41,8$), in der K1-Gruppe bei $-1,01$ (Median $-0,8$; Bereich $-6,8 - 2$) und in der K2-Gruppe bei $-4,62$ (Median $-3,9$; Bereich $-13,3 - 0,7$). Der Unterschied der art. und ven. Mittelwerte der vier Gruppen zeigte sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

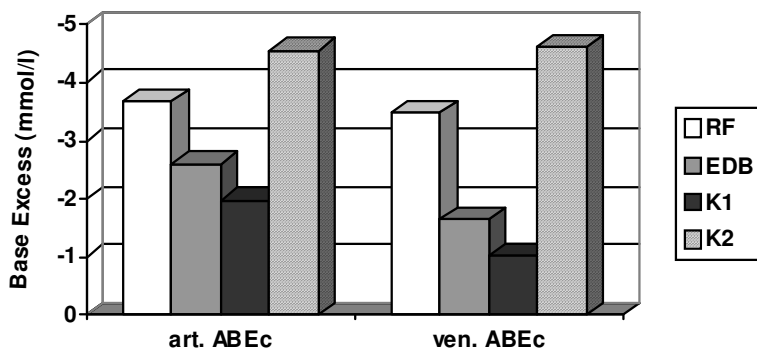


Abb. 1: Mittelwerte der arteriellen bzw. venösen Basenabweichung

4.1.1.2 Bicarbonatkonzentration (art., ven.)

Im Mittel betrug der art. HCO_3c in der RF-Gruppe $23,16$ (Median $24,95$; Bereich $16,5 - 25,2$), in der EDB-Gruppe im Mittel $22,54$ (Median $22,65$; Bereich $13,6 - 28,8$), in der K1-Gruppe im Mittel $23,86$ (Median $24,45$; Bereich $18,6 - 29,2$) und in der K2-Gruppe im Mittel $22,91$ (Median 23 ; Bereich $17,7 - 28,4$). Der venöse HCO_3c lag im Mittel in der RF-Gruppe bei $22,29$ (Median $23,4$; Bereich $18 - 25,2$), in der EDB-Gruppe bei $22,36$ (Median $22,3$; Bereich $17 - 27,9$), in der K1-Gruppe

bei 24,26 (Median 23,8; Bereich 19,3 – 28,3) und in der K2-Gruppe bei 22,51 (Median 22,3; Bereich 18,2 – 28). Auch hier zeigte sich der Unterschied der art. und ven. Mittelwerte der vier Gruppen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

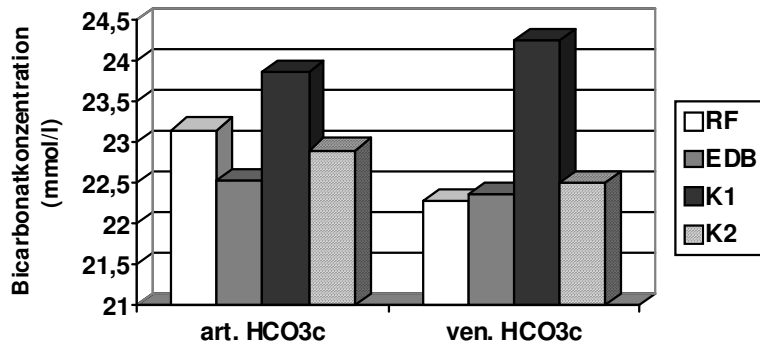


Abb. 2: Mittelwerte der arteriellen bzw. venösen Bicarbonatkonzentration

4.1.1.3 Kohlendioxidpartialdruck (art., ven.)

Der Unterschied im unmittelbar postpartal gemessenen art. pCO₂ zeigte sich als nicht signifikant. Die Auswertung ergab für die jeweiligen Gruppen folgende Mittelwerte: in der RF-Gruppe 51,24 (Median 50,6; Bereich 41,9 – 59,2), in der EDB-Gruppe 53,39 (Median 52,75; Bereich 39,2 – 71,7), in der K1-Gruppe 47,12 (Median 46,1; Bereich 34,7 – 59,0) und in der K2-Gruppe 53,39 (Median 51,4; Bereich 43,2 – 66,1).

Jedoch bei den venösen pCO₂-Werten zeigte sich, dass die Werte der K1-Gruppe mit einem Mittelwert von 44,75 (Median 45,2; Bereich 29,8 – 53,8) signifikant kleiner gegenüber der K2-Gruppe mit 51,28 (Median 49,9; Bereich 42,5 – 64,0; Signifikanz: 0,022) waren. Bei der RF-Gruppe lagen die Werte im Mittel bei 45,89 (Median 47,55; Bereich 30,9 – 52,3), bei der EDB-Gruppe im Mittel bei 49,29 (Median 49,8; Bereich 43,1 – 53,7). Dort zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede auf.

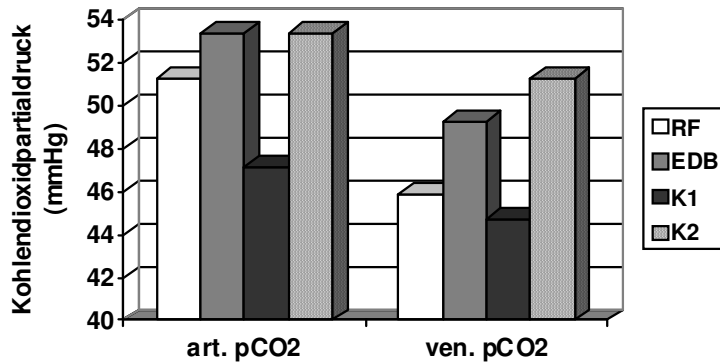


Abb. 3: Mittelwerte des arteriellen bzw. venösen Kohlendioxidpartialdrucks

4.1.1.4 pH (art., ven.)

Im Mittel betrug der direkt postpartal abgenommene arterielle Nabelschnur-pH in der RF-Gruppe 7,28 (Median 7,27; Bereich 7,16 – 7,39), der venöse pH betrug 7,31 (Median 7,29; Bereich 7,20 – 7,44). Der Unterschied der Mittelwerte zeigte sich für diese Gruppe mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

Bei der K1-Gruppe waren sowohl der arterielle pH mit 7,33 (Median 7,33; Bereich 7,25 – 7,42) als auch der venöse pH mit 7,36 (Median 7,35; Bereich 7,24 – 7,51) signifikant höher als die entsprechenden Werte der EDB-Gruppe (art. Signifikanz: 0,009; ven. Signifikanz: 0,007) und der K2-Gruppe (art. Signifikanz: 0,044; ven. Signifikanz: 0,006). In der EDB-Gruppe ergaben sich für den arteriellen pH ein Mittelwert von 7,25 (Median 7,26; Bereich 7,06 – 7,35) und für den venösen pH ein Mittelwert von 7,28 (Median 7,29; Bereich 7,13 – 7,37), in der K2-Gruppe für den art. pH 7,26 (Median 7,28; Bereich 7,07 – 7,33), und 7,26 (Median 7,27; Bereich 7,08 – 7,35) für den venösen pH.

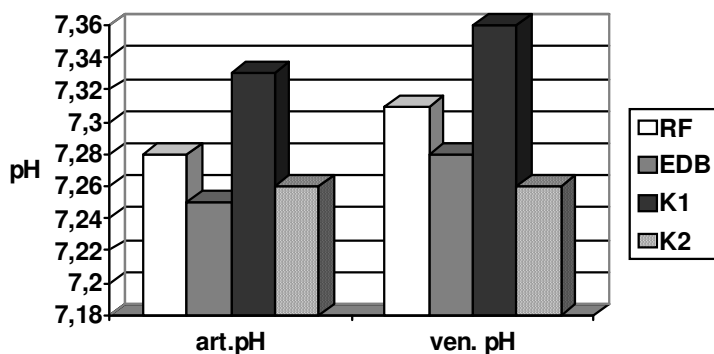


Abb. 4: Mittelwerte des arteriellen bzw. venösen pH

4.1.1.5 Sauerstoffpartialdruck (art., ven.)

Der Unterschied im unmittelbar postpartal gemessenen art. pO_2 zeigte sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant. Die Auswertung ergab für die jeweiligen Gruppen folgende Mittelwerte: in der RF-Gruppe 15,5 (Median 15,05; Bereich 9 – 22,7), in der EDB-Gruppe 22,35 (Median 15,45; Bereich 6,8 – 132,2), in der K1-Gruppe 26,52 (Median 25,25; Bereich 14,2 – 43,8) und in der K2-Gruppe 16,95 (Median 16,9; Bereich 7,1 – 30,9).

Bei den venösen pO_2 -Werten jedoch zeigte sich, dass die Werte der K1-Gruppe mit einem Mittelwert von 30,64 (Median 30,4; Bereich 15,4 – 53,4) jeweils hochsignifikant höher waren als die der EDB-Gruppe mit 20,79 (Median 21; Bereich 15,4 – 29,4; Signifikanz: 0,001), der RF-Gruppe mit 19,93 (Median 19; Bereich 14,8 – 26,8; Signifikanz: 0,006) und der K2-Gruppe mit 21,04 (Median 21,5; Bereich 8,4 – 35,1; Signifikanz: 0,004).

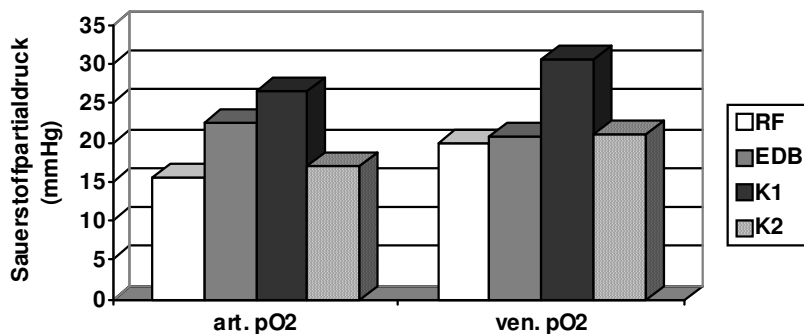


Abb. 5: Mittelwerte des arteriellen bzw. venösen Sauerstoffpartialdrucks

4.1.1.6 Standard Bicarbonat-Konzentration (art., ven.)

Im Mittel betrug der art. SBCc in der RF-Gruppe 20,05 (Median 20,6; Bereich 15,3 – 23,3), in der EDB-Gruppe 17,63 (Median 19,6; Bereich –14,8 – 25,5), in der K1-Gruppe 22,03 (Median 22,4; Bereich 17,4 – 25,6) und in der K2-Gruppe 19,36 (Median 20,5; Bereich 12,4 – 23,7). Der Unterschied der art. Mittelwerte der vier Gruppen zeigte sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

Allerdings zeigte sich bei den venösen SBCc -Werten, dass die Werte der K1-Gruppe mit einem Mittelwert von 23,02 (Median 23; Bereich 17,7 – 25,2) signifikant höher gegenüber der EDB-Gruppe mit 18,35 (Median 19,8; Bereich – 10,6 – 25,7; Signifikanz: 0,038) waren. Bei der RF-Gruppe lagen die Werte im

Mittel bei 20,41 (Median 20,6; Bereich 16,4 – 24), bei der K2-Gruppe im Mittel bei 19,60 (Median 19,4; Bereich 12,9 – 23,8). Dort zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede auf.

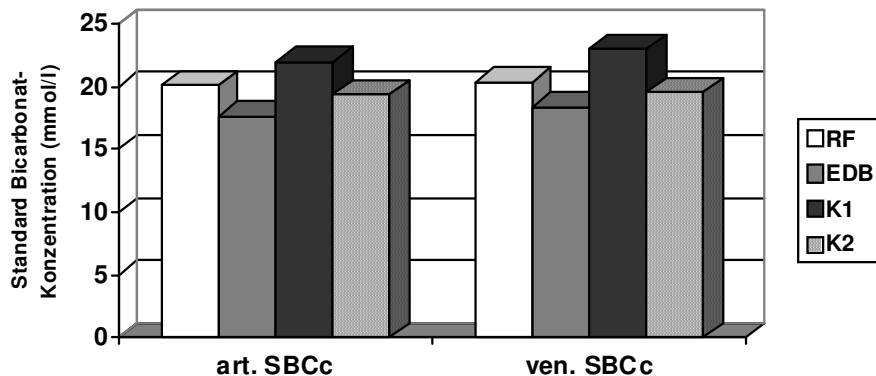


Abb. 6: Mittelwerte der arteriellen bzw. venösen Standard Bicarbonat-Konzentration

4.1.1.7 Standard Base Excess (art., ven.)

Bei der Auswertung des SBEC ergaben sich für die art. und ven. Mittelwerte der vier Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Für den art. SBEC ergaben sich folgende Mittelwerte: in der RF-Gruppe $-2,68$ (Median $-1,25$; Bereich $-9,9 - 0,6$), in der EDB-Gruppe $-3,83$ (Median $-3,4$; Bereich $-17,3 - 3,7$), in der K1-Gruppe $-1,32$ (Median $-0,8$; Bereich $-7,1 - 3,5$) und in der K2-Gruppe $-3,27$ (Median $-3,1$; Bereich $-10,9 - 2,5$). Der ven. SBEC betrug in der RF-Gruppe im Mittel $-3,01$ (Median $-2,3$; Bereich $-8 - 0,4$), in der EDB-Gruppe im Mittel $-3,55$ (Median -3 ; Bereich $-13,1 - 3,1$), in der K1-Gruppe im Mittel $-0,56$ (Median $-0,7$; Bereich $-5,4 - 3,1$) und in der K2-Gruppe im Mittel $-3,49$ (Median $-2,6$; Bereich $-10,2 - 2,2$).

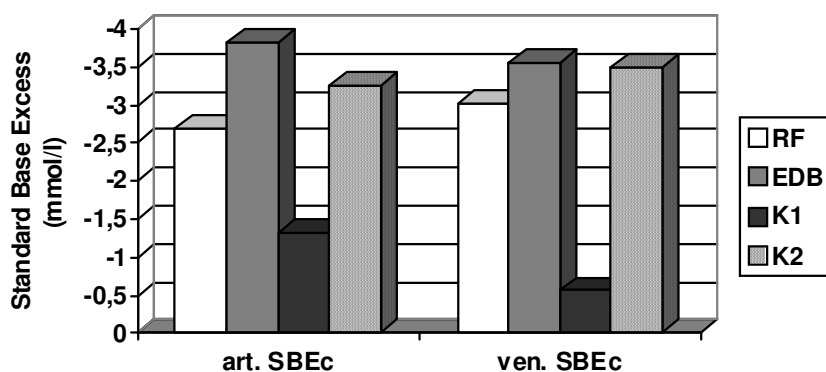


Abb. 7: Mittelwerte des arteriellen bzw. venösen Standard Base Excess

4.1.1.8 Kohlendioxidkonzentration (art., ven.)

Im Mittel betrug der art. tCO₂c in der RF-Gruppe 55,45 (Median 59,2; Bereich 40 – 60,2), in der EDB-Gruppe 52,46 (Median 54,1; Bereich 11,5 – 68,1), in der K1-Gruppe 56,75 (Median 58,1; Bereich 44,2 – 69,4) und in der K2-Gruppe 50,49 (Median 53,3; Bereich 23,5 – 67,8). Der ven. tCO₂c lag im Mittel in der RF-Gruppe bei 53,13 (Median 55,9; Bereich 43,3 – 59,7), in der EDB-Gruppe bei 51,38 (Median 53,2; Bereich 13,5 – 65,9), in der K1-Gruppe bei 57,4 (Median 56,3; Bereich 45,7 – 67,1) und in der K2-Gruppe bei 50,9 (Median 51,6; Bereich 26,1 – 66,7). Der Unterschied der art. und ven. Mittelwerte der vier Gruppen erwies sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

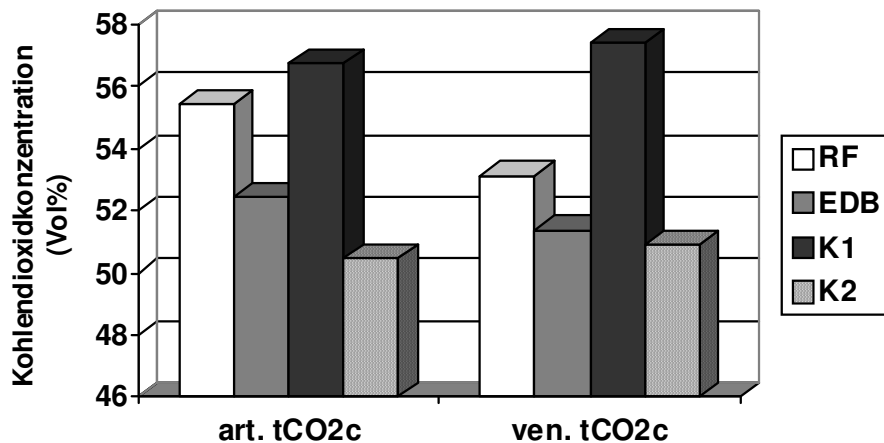


Abb. 8: Mittelwerte der arteriellen bzw. venösen Kohlendioxidkonzentration

4.1.1.9 Sauerstoffkonzentration (art., ven.)

Bei der K1-Gruppe war sowohl der arterielle tO₂c mit 10,63 (Median 10,3; Bereich 4,6 – 16,8) als auch der venöse tO₂c mit 12,95 (Median 12,9; Bereich 5,2 – 17,4) hochsignifikant höher als die entsprechenden Werte der EDB-Gruppe (art. Signifikanz: 0,000; ven. Signifikanz: 0,000), der RF-Gruppe (art. Signifikanz: 0,001; ven. Signifikanz: 0,001) und der K2-Gruppe (art. Signifikanz: 0,000; ven. Signifikanz: 0,006). Für den art. tO₂c ergaben sich als Mittelwerte für die jeweiligen Gruppen 4,93 (Median 4,95; Bereich 2,7 – 7,9) in der RF-Gruppe, 5,27 (Median 4,6; Bereich 1,6 – 15,8) in der EDB-Gruppe und 5,32 (Median 5,4; Bereich 1,6 – 9,8) in der K2-Gruppe. Der tO₂c ven. betrug in der RF-Gruppe im Mittel 7,58 (Median 8,45; Bereich 3,9 – 10,8), in der EDB-Gruppe 8,05 (Median 7,1; Bereich 4,5 – 13,5) und in der K2-Gruppe 8,52 (Median 8,5; Bereich 2,1 – 13,7).

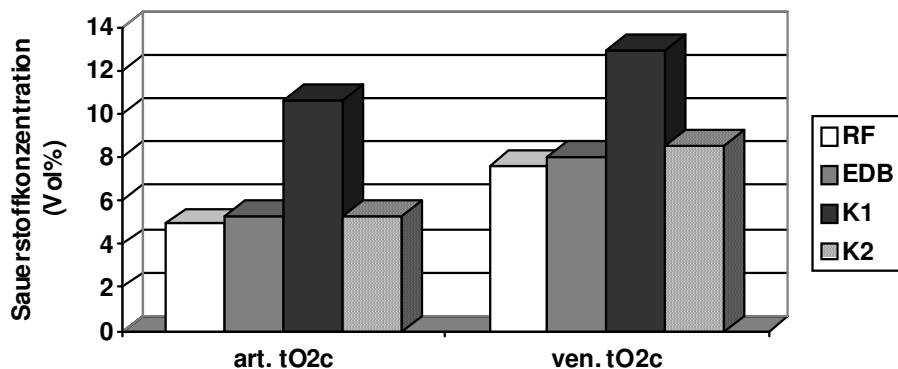


Abb. 9: Mittelwerte der arteriellen bzw. venösen Sauerstoffkonzentration

4.1.2 APGAR-Werte

Der APGAR-Index wird 1, 5 und 10 Minuten nach der Geburt bestimmt. Diese Werte wurden zur statistischen Auswertung verschlüsselt: APGAR 1 entspricht dem 1-, APGAR 2 dem 5- und der APGAR 3 dem 10-Minuten-Index.

4.1.2.1 Apgar 1

Der 1-Minuten-APGAR-Wert betrug in der RF-Gruppe im Mittel 6,11 (Median 6; Bereich 2 – 9), in der EDB-Gruppe 6,10 (Median 7; Bereich 2 – 8), in der K1-Gruppe 5,7 (Median 6; Bereich 1 – 9) und in der K2-Gruppe 4,6 (Median 5; Bereich 1 – 8).

4.1.2.2 Apgar 2

Der Apgar 2, also der 5-Minuten-APGAR-Wert war in jeder Gruppe höher als APGAR 1. Im Mittel war er in der RF-Gruppe 8 (Median 8; Bereich 7 – 10), in der EDB-Gruppe 7,90 (Median 8; Bereich 2 – 10), in der K1-Gruppe 7,6 (Median 7,5; Bereich 6 – 10) und in der K2-Gruppe 7,33 (Median 7; Bereich 6 – 9).

4.1.2.3 Apgar 3

Für den Apgar 3 ergaben sich folgende Mittelwerte: für die RF-Gruppe 8,9 (Median 9; Bereich 6 – 10), für die EDB-Gruppe 8,37 (Median 9; Bereich 2 – 10), für die K1-Gruppe 8,22 (Median 8; Bereich 6 – 10) und für die K2-Gruppe 8,31 (Median 8; Bereich 6 – 10).

Der Unterschied der Mittelwerte der vier Gruppen zeigte sich sowohl für den APGAR 1 als auch für den APGAR 2 und 3 mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

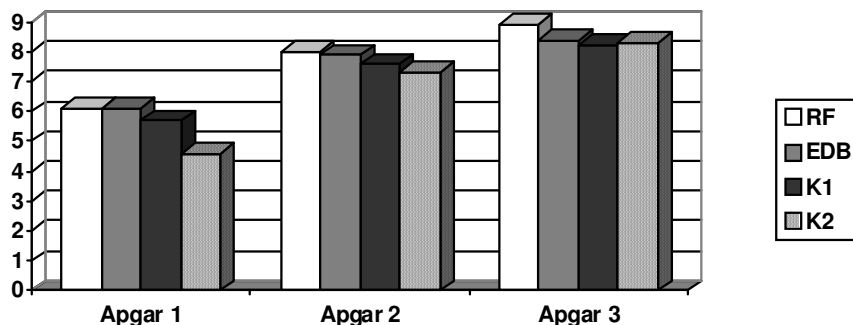


Abb. 10: Darstellung des APGAR-Index 1, 5 und 10 min. nach Geburt

4.1.3 Schwangerschaftsalter

Die statistische Auswertung des Schwangerschaftsalters konnte keine signifikanten Unterschiede nachweisen, da dies eine Grundvoraussetzung zur Vergleichsanalyse war, d. h. es wurden Gruppen etwa gleichen Schwangerschaftsalters zusammengestellt, um eine bessere Vergleichbarkeit und höherer Aussagekraft der Daten zu erreichen.

Aufgeschlüsselt nach den einzelnen Gruppen betrug das Schwangerschaftsalter in der RF-Gruppe im Mittel 31,08 SSW (Median 30,86 SSW; Bereich 27,14 – 37,14 SSW), in der EDB-Gruppe 30,23 SSW (Median 30,71 SSW; Bereich 27,29 – 32,86 SSW), in der K1-Gruppe 30,43 SSW (Median 30,71 SSW; Bereich 27,71 – 33 SSW) und in der K2-Gruppe 30,99 SSW (Median 31,29 SSW; Bereich 27,86 – 32,86 SSW).

4.1.4 Plazentagewicht (inklusive Nabelschnur und Eihäute)

Bei der Untersuchung der Gruppen hinsichtlich des Plazentagewichts ergab sich, dass das Plazentagewicht von K1 mit einem Mittelwert von 440,9 g (Median 380 g; Bereich 202 – 892 g) sowohl hochsignifikant größer gegenüber der EDB-Gruppe mit 207,7 g (Median 208 g; Bereich 110 – 290 g; Signifikanz: 0,000) als auch gegenüber der K2-Gruppe mit 244,6 g (Median 238 g; Bereich 170 – 372 g; Signifikanz: 0,001) war. Bei der RF-Gruppe ergab sich ein Mittelwert von 324,4 g (Median 334 g; Bereich 121 – 493 g). Der Unterschied der Mittelwerte stellte sich

für diese Gruppe mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant heraus.

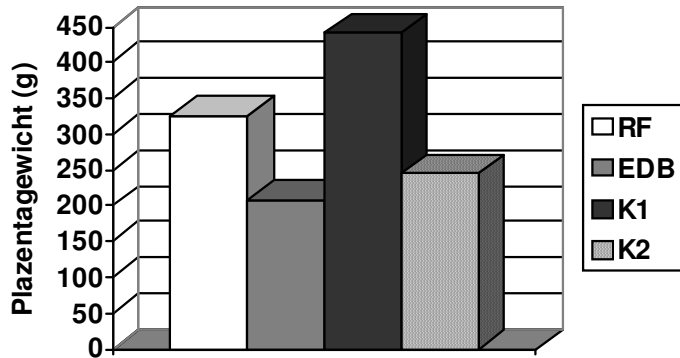


Abb. 11: Darstellung der Mittelwerte des Plazentagewichtes

4.1.5 Geburtsgewicht

Bei der Untersuchung der Gruppen hinsichtlich des Geburtsgewichtes ergab sich, dass die Kinder der EDB-Gruppe mit einem mittleren Gewicht von 963,3 g (Median 960 g; Bereich 530 – 1430 g) sowohl signifikant leichter gegenüber der RF-Gruppe mit 1391,8 g (Median 1220 g; Bereich 630 – 2800 g; Signifikanz: 0,035) als auch gegenüber der K1-Gruppe mit 1511 g (Median 1505 g; Bereich 1005 – 1950 g; Signifikanz: 0,000) waren, jedoch erwiesen sich die Kinder aus K1 mit 1511 g signifikant schwerer als die aus K2 mit 1091,7 g (Median 1060 g; Bereich 840 – 1450 g; Signifikanz: 0,02).

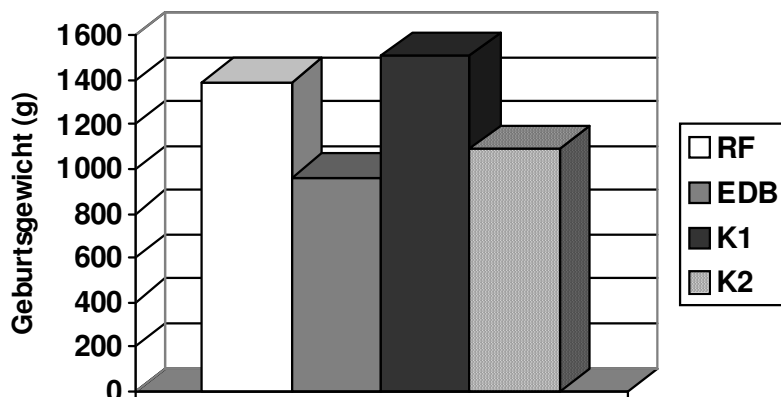


Abb. 12: Darstellung der Mittelwerte des Geburtsgewichtes

4.1.6 Kindliche Blutparameter

4.1.6.1 Hämatokrit am 1., 2., 3., 4., 5. Tag

Nur am ersten Tag zeigten sich signifikante Unterschiede unter den Gruppen. Zu einem späteren Zeitpunkt waren diese Unterschiede jedoch nicht mehr nachzuweisen.

Mit einem Hämatokrit von 50 (Median 50,1; Bereich 36,9 – 62,2) lagen die Werte der EDB-Gruppe am ersten Tag signifikant höher als die der K1-Gruppe mit 44 (Median 44,6; Bereich 32,5 – 53,1; Signifikanz: 0,038). Für die RF-Gruppe fand sich ein Mittelwert von 43,3 (Median 39,7; Bereich 32,2 – 64,8), für die K2-Gruppe einer von 46,2 (Median 47,2; Bereich 36,4 – 53,4). Dort ergab sich jedoch keine Signifikanz.

Am zweiten Tag schwankten die Werte zwischen 46,1 (Median 46,4; Bereich 35,8 – 57,2) in der EDB-Gruppe und 42,8 (Median 43,1; Bereich 34,4 – 51,1) in der K1-Gruppe. Die RF-Gruppe mit 45,3 (Median 43,1; Bereich 32,3 – 62,9) und die K2-Gruppe mit 44,8 (Median 45; Bereich 36,4 – 56) lagen dazwischen.

Der Hämatokrit am 3. Tag betrug in der RF-Gruppe im Mittel 42,7 (Median 39,7; Bereich 34,1 – 63,9), in der EDB-Gruppe 42,6 (Median 43; Bereich 25,8 – 52,8), in der K1-Gruppe 39,8 (Median 39,1; Bereich 32,4 – 49,9) und in der K2-Gruppe 42,1 (Median 42,4; Bereich 35,7 – 48).

Am 4. Tag war der Hämatokrit mit einem Mittelwert von 40,5 (Median 36; Bereich 29,9 – 59,4) in der RF-Gruppe, von 41,1 (Median 39,5; Bereich 29,3 – 53,4) in der EDB-Gruppe, von 38,9 (Median 39; Bereich 29,5 – 49,3) in der K1-Gruppe und von 40,6 (Median 41,5; Bereich 31,8 – 46,9) in der K2-Gruppe wieder niedriger geworden.

Den höchsten Wert am 5. Tag wies die EDB-Gruppe mit einem Hämatokrit von 42 (Median 42; Bereich 27,1 – 54,7) auf. Die anderen Gruppen lagen mit ihren Mittelwerten dicht beieinander. Die Werte lagen in der RF-Gruppe im Mittel bei 39,1 (Median 37,2; Bereich 29,7 – 56,8), in der K1-Gruppe bei 38,1 (Median 37,8;

Bereich 31,8 – 45,4) und in der K2-Gruppe bei 38,64 (Median 37,9; Bereich 29,9 – 45,9).

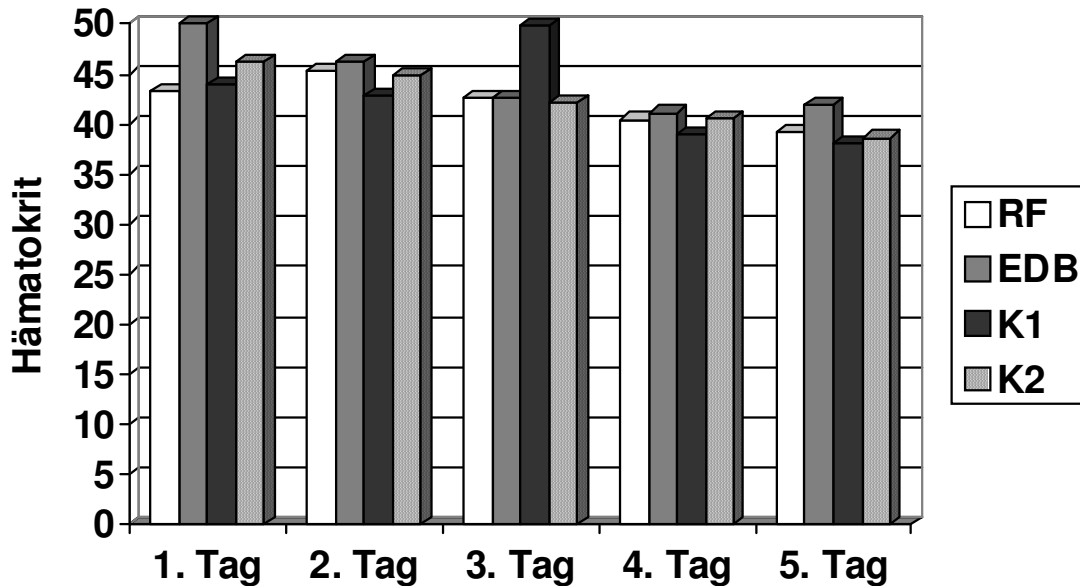


Abb. 13: Mittelwerte der Hämatokritwerte im zeitlichen Verlauf

4.1.6.2 Hämoglobin am 1., 2., 3., 4., 5. Tag

Bei der Untersuchung der Hämoglobinwerte zeigten sich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den vier Gruppen.

Im Mittel betrug der Hämoglobingehalt am 1. Tag in der RF-Gruppe 14,4 (Median 13,7; Bereich 10,7 – 20,4), in der EDB-Gruppe 16,3 (Median 16; Bereich 14,5 – 18,6), in der K1-Gruppe 15,2 (Median 15,3; Bereich 11,8 – 18,1) und in der K2-Gruppe 15,8 (Median 16,1; Bereich 12,2 – 18,7).

Die Auswertung des Hämoglobingehaltes am 2. Tag ergab für die jeweiligen Gruppen folgende Mittelwerte: in der RF-Gruppe 15,1 (Median 14,8; Bereich 11,1 – 20,1), in der EDB-Gruppe 15,5 (Median 15,4; Bereich 12,4 – 20,1), in der K1-Gruppe im Mittel 14,7 (Median 15; Bereich 12,1 – 16,7) und in der K2-Gruppe 15,7 (Median 15,4; Bereich 12,5 – 19,5).

Den niedrigsten Wert am 3. Tag wies die K1-Gruppe mit einem Hämoglobingehalt von 13,6 (Median 13,6; Bereich 11,3 – 17,1) auf. Die anderen Gruppen lagen mit ihren Mittelwerten dicht beieinander. Die Werte lagen in der RF-Gruppe im Mittel bei 14,2 (Median 13,3; Bereich 9,9 – 21), in der EDB-Gruppe im Mittel bei 14,2 (Median 14,5; Bereich 10,3 – 17) und in der K2-Gruppe im Mittel bei 14,2 (Median 14,4; Bereich 12 – 16).

Am 4. Tag reihten sich die Hämoglobinwerte mit Mittelwerten von 13,7 (Median 11,6; Bereich 9,7 – 20,2) in der RF-Gruppe, von 13,5 (Median 13,7; Bereich 9,2 – 16,8) in der EDB-Gruppe, von 13,4 (Median 13,6; Bereich 10,3 – 16,6) in der K1-Gruppe und von 13,6 (Median 13,9; Bereich 10,5 – 15,4) in der K2-Gruppe relativ dicht aneinander.

Ebenfalls sehr dicht beieinander lagen die Hämoglobinwerte des 5. Tages. Es fanden sich folgende Mittelwerte: in der RF-Gruppe 13 (Median 12,4; Bereich 10,3 – 18,4), in der EDB-Gruppe 13,6 (Median 13,4; Bereich 9,9 – 18,4), in der K1-Gruppe 13,3 (Median 13,4; Bereich 10,9 – 15,7) und in der K2-Gruppe 13,1 (Median 13,2; Bereich 10,2 – 14,9).

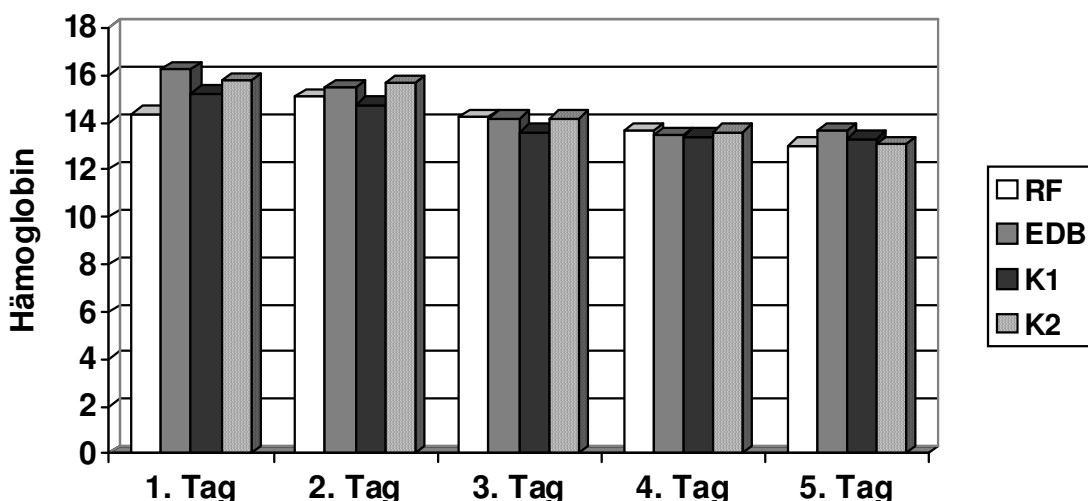


Abb. 14: Mittelwerte der Hämoglobinwerte im zeitlichen Verlauf

4.1.6.3 Normoblasten am 1., 2., 3., 4., 5. Tag (nicht-log. eingegeben)

Signifikante Unterschiede fanden sich nur für die Normoblasten am 2. Tag.

Am 1. Tag wies die RF-Gruppe mit einem Mittelwert von 154,8 Normoblasten (Median 7,5; Bereich 0 – 720) den höchsten Wert auf. Es folgten die EDB-Gruppe mit 77,5 (Median 33; Bereich 0 – 273), die K2-Gruppe im Mittel 26,1 (Median 21; Bereich 0 – 72) und zum Schluss die K1-Gruppe mit 14,4 (Median 9; Bereich 0 – 44) Normoblasten.

Am zweiten Tag zeigten sich signifikant höhere Normoblastenwerte für die EDB-Gruppe mit 45,1 (Median 23; Bereich 0 – 255) bezogen auf die K1-Gruppe mit 2,6 (Median 0; Bereich 0 – 17; Signifikanz:0,028). In der RF-Gruppe ergaben sich Werte von 115,1 (Median 4,5; Bereich 0 – 460), in der K2-Gruppe im Mittel von 9,2 (Median 2,5; Bereich 0 – 54).

Die Normoblasten am 3. Tag folgten der gleichen Reihenfolge: den höchsten Wert hatte die RF-Gruppe mit 91 (Median 0,5; Bereich 0 – 484). Die EDB-Gruppe hatte im Mittel 20,1 (Median 0; Bereich 0 – 154), die K2-Gruppe nur noch 4,9 (Median 0; Bereich 0 – 34) und die K1-Gruppe 1,7 (Median 0; Bereich 0 – 18) Normoblasten.

Die höchsten Normoblasten am 4. Tag fanden sich in der EDB-Gruppe mit 20,6 (Median 0; Bereich 0 - 209). In der K1-Gruppe fanden sich nur noch 4,4 (Median 0; Bereich 0 – 37) in der K2-Gruppe 1,5 (Median 0; Bereich 0 – 13) und in der RF-Gruppe im Mittel 0,1 Normoblasten (Median 0; Bereich 0 – 1).

Die Normoblasten am 5. Tag betragen in der RF-Gruppe im Mittel 0,9 (Median 0; Bereich 0 – 7), in der EDB-Gruppe im Mittel 24,1 (Median 0; Bereich 0 – 235), in der K1-Gruppe 2 (Median 0; Bereich 0 – 29) und in der K2-Gruppe 1,8 (Median 0; Bereich 0 – 10).

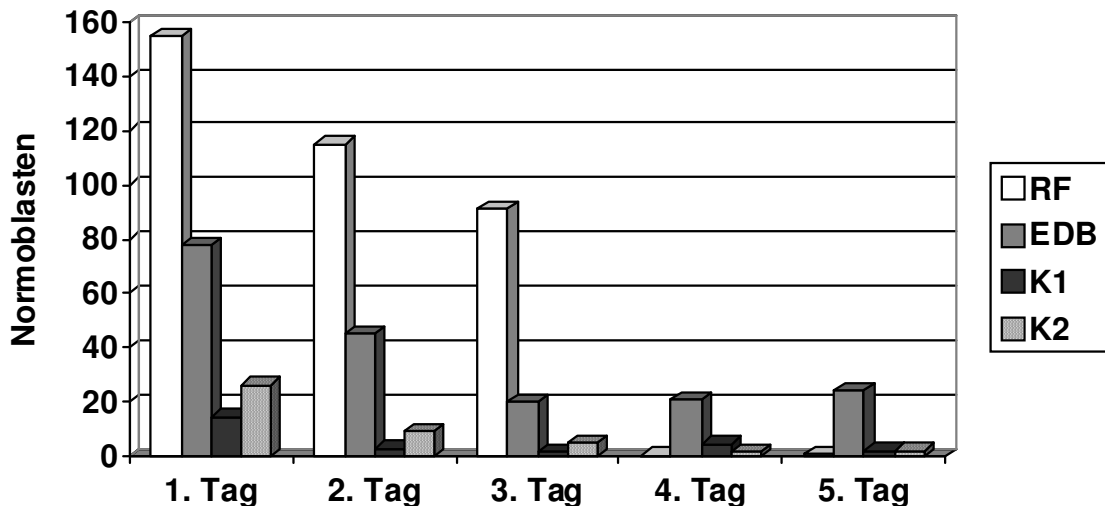


Abb. 15: Mittelwerte der Normoblasten im zeitlichen Verlauf

4.1.6.4 Leukozyten ($\times 10^3$) am 1., 2., 3., 4., 5. Tag (nicht-log. eingegeben)

Bei der Auswertung der Leukozyten ergaben sich nur für die Leukozyten am 5. Tag signifikante Unterschiede.

Die Leukozyten am 1. Tag betragen in der RF-Gruppe im Mittel 15,1 (Median 10,8; Bereich 2,6 – 51,1), in der EDB-Gruppe 10,1 (Median 8,8; Bereich 3,8 – 18,5), in der K1-Gruppe 9,4 (Median 8,9; Bereich 4 – 18) und in der K2-Gruppe 7,8 (Median 8,1; Bereich 4 – 15).

Den höchsten Wert wies am 2. Tag die RF-Gruppe mit einem Mittelwert von 14 (Median 13,6; Bereich 4,7 – 22,2), dicht gefolgt von der K1-Gruppe mit 13,1 (Median 12,3; Bereich 6,1 – 28,4). Die EDB-Gruppe mit 9,9 (Median 9,1; Bereich 4,3 – 21,1) und die K2-Gruppe mit 9,5 (Median 9,3; Bereich 6,3 – 13,2) liegen niedriger, es war aber kein signifikanter Unterschied nachzuweisen.

Am 3. Tag ergab sich die gleiche Konstellation: die RF-Gruppe mit 11,4 (Median 13; Bereich 2,4 – 16,5) und die K1-Gruppe mit 12,7 (Median 10,7; Bereich 5,6 – 29,3) zeigten die höchsten Werte. Die EDB-Gruppe mit 8,4 (Median 7,8; Bereich 2,2 – 25,9) und die K2-Gruppe mit 8,8 (Median 8,1; Bereich 3,9 – 17,8) lagen niedriger, jedoch nicht signifikant.

Die Leukozyten betragen am 4. Tag in der K1-Gruppe im Mittel 11,7 (Median 10,8; Bereich 6,2 – 22,8) und in der RF-Gruppe 10,4 (Median 10,3; Bereich 2,7 – 20,5). Die EDB-Gruppe folgte dahinter mit 7,7 (Median 7,4; Bereich 2,1 – 18,8). Den niedrigsten Wert hatte die K2-Gruppe mit einem Mittelwert von 7,5 (Median 6,9; Bereich 2 – 13,4).

Am 5. Tag fanden sich signifikant höhere Leukozytenwerte für die K1-Gruppe mit 11,8 (Median 10,5; Bereich 7 – 26) bezogen sowohl auf die EDB-Gruppe mit 7,1 (Median 6,7; Bereich 2,2 – 15,7; Signifikanz: 0,013) als auch auf die K2-Gruppe mit 7,1 (Median 5,7; Bereich 2,9 – 14,3; Signifikanz: 0,031). In der RF-Gruppe ergab sich ein Mittelwert von 9,6 (Median 9,4; Bereich 2,3 – 18,6).

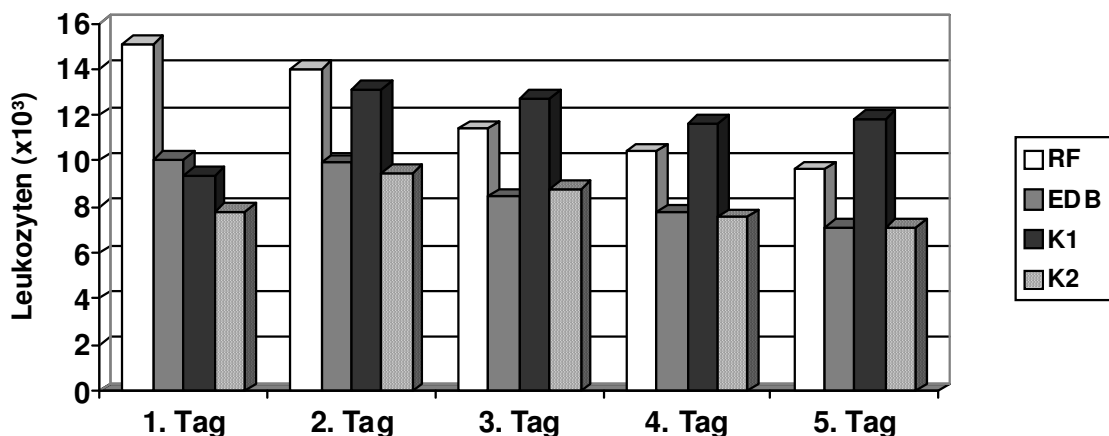


Abb. 16: Mittelwerte der Leukozyten im zeitlichen Verlauf

4.1.6.5 Thrombozyten (x 10³) am 1., 2., 3., 4., 5. Tag (nicht-log. eingegeben)

Signifikante Unterschiede bei der Auswertung der Thrombozyten ergaben sich für die ersten fünf Tage.

Am 1. Tag waren die Thrombozyten der EDB-Gruppe mit einem Mittelwert von 194,8 (Median 198; Bereich 86 – 399) signifikant kleiner als die der K1-Gruppe mit 266,4 Thrombozyten (Median 262,5; Bereich 157 – 389; Signifikanz: 0,030). In der

K2-Gruppe fanden sich 237,2 (Median 237; Bereich 97,5 – 358), in der RF-Gruppe nur noch 200,9 (Median 212; Bereich 69 – 367).

Mit einem Mittelwert von 164,6 (Median 149; Bereich 82 – 376) war die RF-Gruppe am 2. Tag signifikant kleiner als die K1-Gruppe mit 276,7 (Median 261,5; Bereich 215 – 390; Signifikanz: 0,007). Dazwischen lagen die EDB-Gruppe mit 205,6 (Median 221; Bereich 53 – 374) und die K2-Gruppe mit 263,7 (Median 232; Bereich 88,1 – 664).

Am 3. Tag fiel auf, dass sowohl die EDB-Gruppe mit 202 (Median 207; Bereich 32 – 390; Signifikanz: 0,020), als auch die RF-Gruppe mit 175,1 (Median 151; Bereich 48 – 376; Signifikanz: 0,007) signifikant kleiner als die K1-Gruppe mit 289,2 (Median 278,5; Bereich 179 – 405) war. Bezogen auf die K2-Gruppe mit einem Mittelwert von 231,8 (Median 209; Bereich 121 – 431) erwiesen sich keine signifikanten Unterschiede.

Bei der Auswertung der Thrombozyten des 4. Tages zeigte sich, dass die Thrombozyten der EDB-Gruppe mit 180,3 (Median 178; Bereich 78 – 337; Signifikanz: 0,004) und der RF-Gruppe mit 137,5 (Median 137; Bereich 38 – 344; Signifikanz: 0,000) signifikant kleiner waren gegenüber der K1-Gruppe mit 285,7 (Median 287,5; Bereich 150 – 426). Außerdem waren die Thrombozyten der RF-Gruppe signifikant kleiner als die der K2-Gruppe. Dort ergab sich ein Mittelwert von 225,9 (Median 218; Bereich 117 – 384; Signifikanz: 0,008).

Bei den Thrombozyten am 5. Tag zeigte sich, dass die Werte der K1-Gruppe mit einem Mittelwert von 296,2 (Median 281,5; Bereich 145 – 476) hochsignifikant größer gegenüber der RF-Gruppe mit 135,9 (Median 132; Bereich 33 – 311; Signifikanz: 0,000) und der EDB-Gruppe mit 157,1 (Median 157; Bereich 58 – 254; Signifikanz: 0,000) waren. In der K2-Gruppe ergab sich ein Mittelwert von 208,8 (Median 178,5; Bereich 43 – 391).

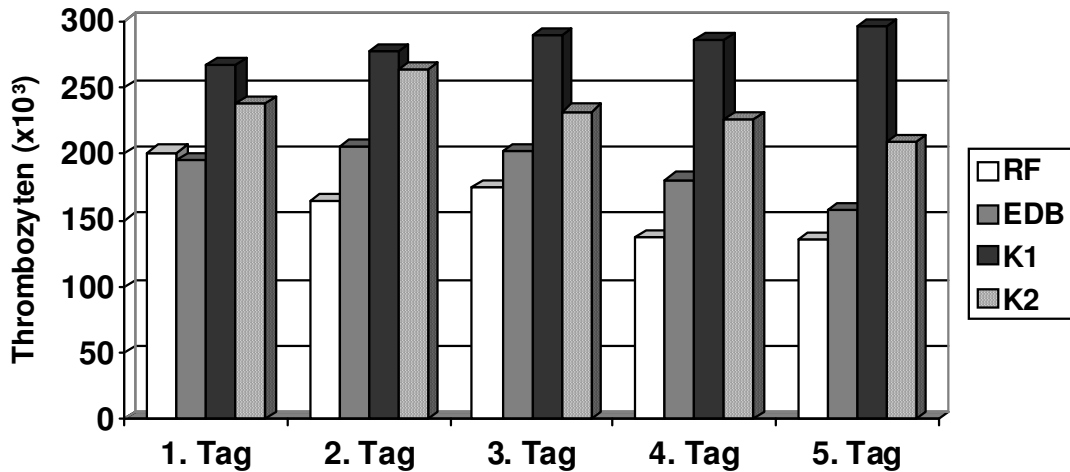


Abb. 17: Kurvenschar der Mittelwerte der Thrombozyten im zeitlichen Verlauf

4.2 Immunhistochemische Färbungen

4.2.1 Apoptose (nicht-log. eingegeben)

Für die RF-Gruppe ergab sich als durchschnittliche Anzahl der Zellen pro mm^2 7086,2 Zellen (Median 6798; Bereich 5827 – 8567). Die Gesamtzahl der apoptotischen Zellen betrug im Mittel 44 (Median 11; Bereich 0 – 288), sie setzt sich zusammen aus den Cytotrophoblasten mit im Mittel 36,9 Zellen (Median 7,0; Bereich 0 – 257) und den Syncytiotrophoblasten mit 7,1 Zellen (Median 4; Bereich 0 – 31).

In der EDB-Gruppe lag die durchschnittliche Zellzahl pro mm^2 bei 6399,6 Zellen (Median 6333; Bereich 5484 – 7840). Die Gesamtzahl der apoptotischen Zellen betrug im Mittel 22,3 (Median 8; Bereich 0 – 93), wobei im Mittel 16,6 Cytotrophoblasten (Median 7,5; Bereich 0 – 48) und 5,7 Syncytiotrophoblasten (Median 1,5; Bereich 0 – 45) vorliegen.

In der K1-Gruppe lag die durchschnittliche Zellzahl pro mm^2 bei 6636,2 Zellen (Median 6839; Bereich 5331 – 8171). Als Gesamtzahl der apoptotischen Zellen ergab sich ein Mittelwert von 33,6 (Median 21; Bereich 4 – 78). Es liegen im Mittel

19,2 Cytotrophoblasten (Median 15; Bereich 4 – 39) und 14,4 Syncytiotrophoblasten (Median 6; Bereich 0 – 39) vor.

Die durchschnittliche Zellzahl pro mm² lag in der K2-Gruppe bei 5583,8 (Median 5638; Bereich 4742 – 6389). Die Gesamtzahl der apoptotischen Zellen betrug 31,4 (Median 28; Bereich 21 – 49), dies waren 22 Cytotrophoblasten (Median 20; Bereich 14 – 41) und 9 Syncytiotrophoblasten (Median 8; Bereich 5 – 18).

Im Vergleich der 4 Gruppen untereinander zeigten sich bezüglich der apoptotischen Zellen keine signifikanten Unterschiede.

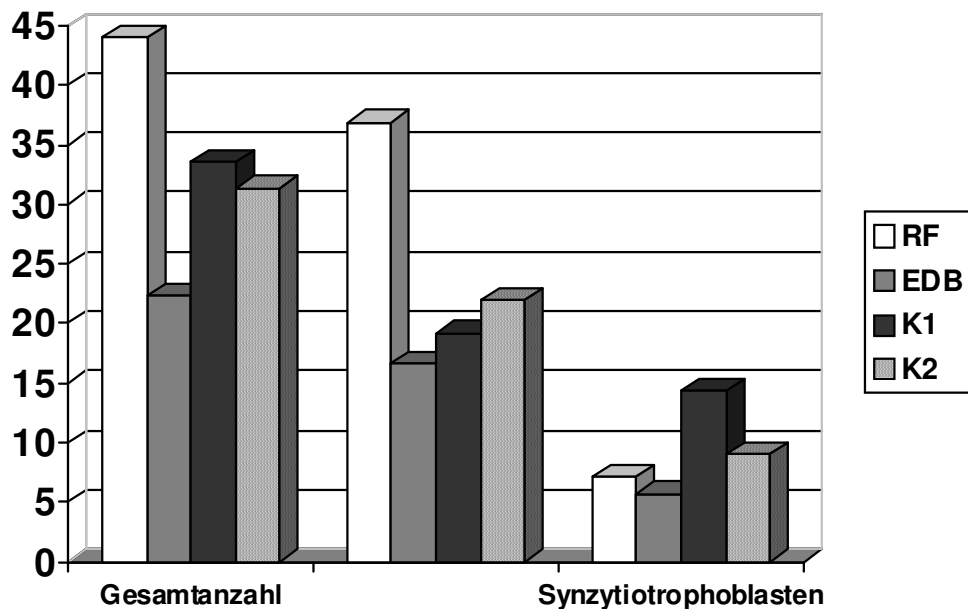
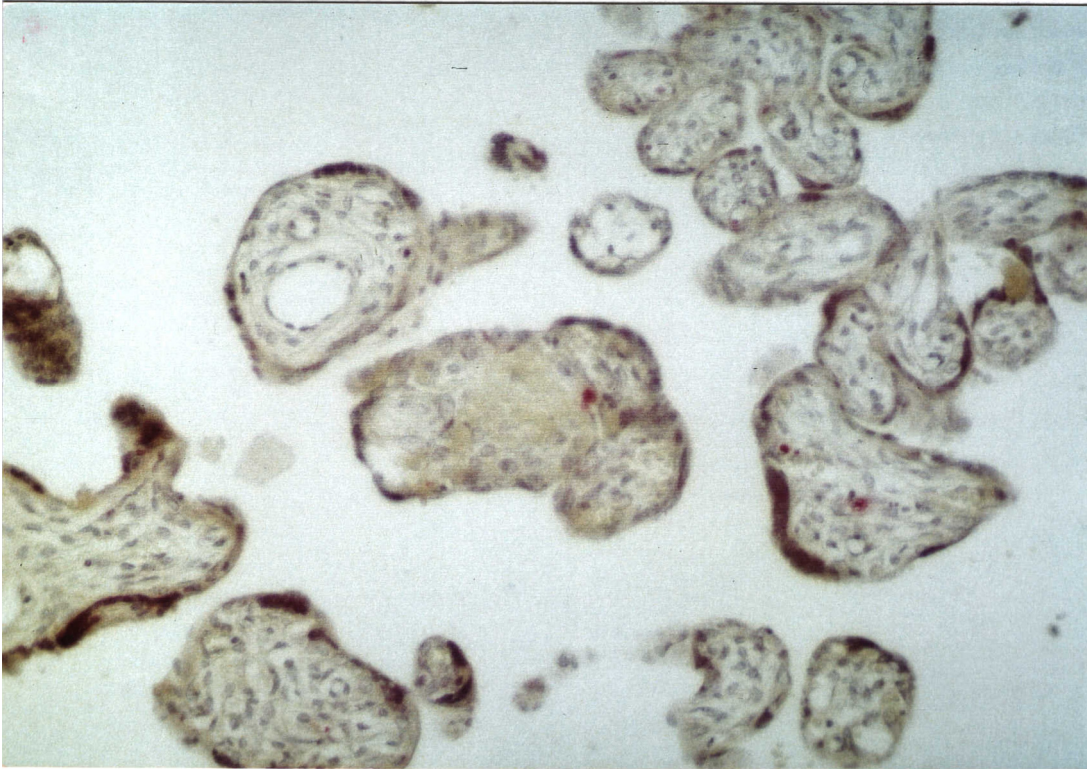
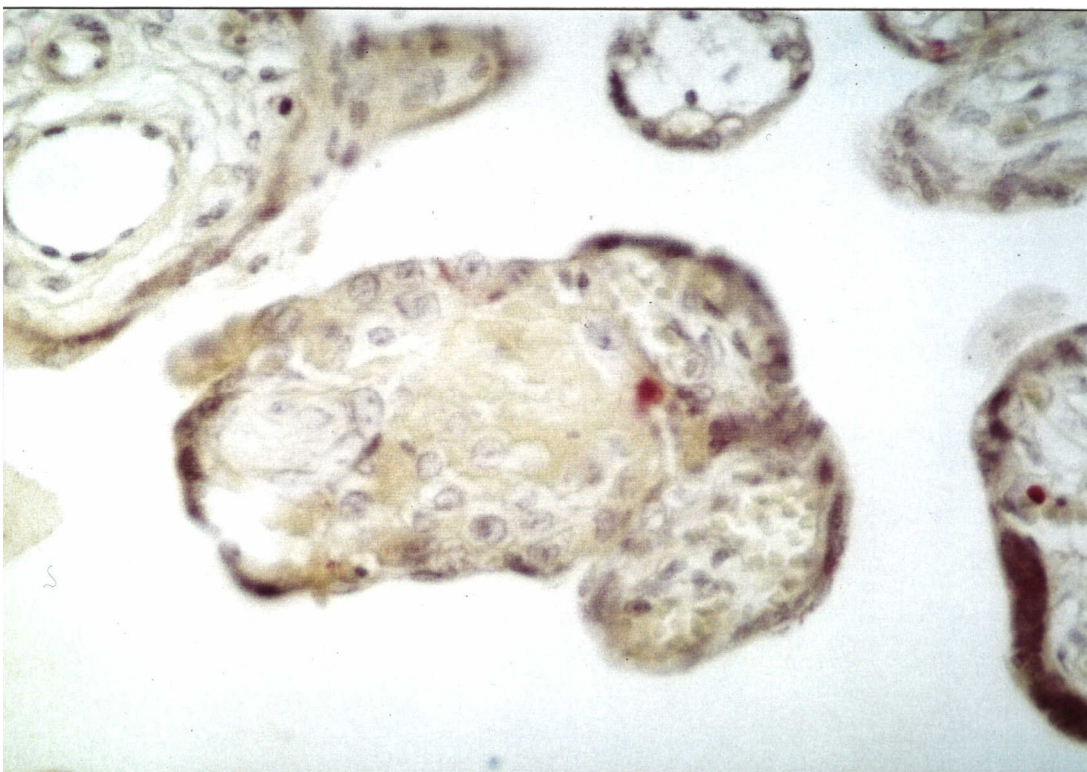


Abb. 18: Darstellung der Mittelwerte der angefärbten apoptotischen Zellen als Gesamtanzahl sowie aufgeschlüsselt in Zytotropho- und Synzytiotrophoblasten



Präparatfotographie 1a:
Apoptose, TUNEL-Färbung (Kernfärbung), Originalvergrößerung von 20x



Präparatfotographie 1b:
Apoptose, TUNEL-Färbung (Kernfärbung), Originalvergrößerung von 40x

4.2.2 Mib-1 (Ki-67)

Den höchsten Immunreactivity-Score fand sich in der RF-Gruppe mit einem Mittelwert von 4,4 (Median 4; Bereich 2 – 6), dicht gefolgt von der K2-Gruppe mit 4,2 (Median 6; Bereich 1 – 6). In der EDB-Gruppe lag der Mittelwert nur noch bei 3,4 (Median 3; Bereich 1 – 6) und die K1-Gruppe wies mit 2,8 (Median 2; Bereich 1 – 6) den niedrigsten Score auf.

Beim prozentualen Anteil positiver Zellen zeigte sich die gleiche Reihenfolge auf: die RF-Gruppe hatte den höchsten Mittelwert mit 1,8 (Median 2; Bereich 1 – 3), danach folgten die K2-Gruppe mit 1,6 (Median 2; Bereich 1 – 2) und die EDB-Gruppe mit 1,43 (Median 1; Bereich 1 – 2). Zuletzt die K1-Gruppe mit 1,4 (Median 1; Bereich 1 – 2).

Auch die Mittelwerte der Färbeintensität folgen dieser Reihe: höchste Werte finden sich in der RF-Gruppe mit einem Mittelwert von 2,5 (Median 2,5; Bereich 2 – 3), gefolgt der K2-Gruppe mit 2,4 (Median 3; Bereich 1 – 3), der EDB-Gruppe mit 2,2 (Median 2; Bereich 1 – 3) und der K1-Gruppe mit 2 (Median 2; Bereich 1 – 3).

Der Unterschied der Mittelwerte zeigte sich für alle drei Kategorien mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

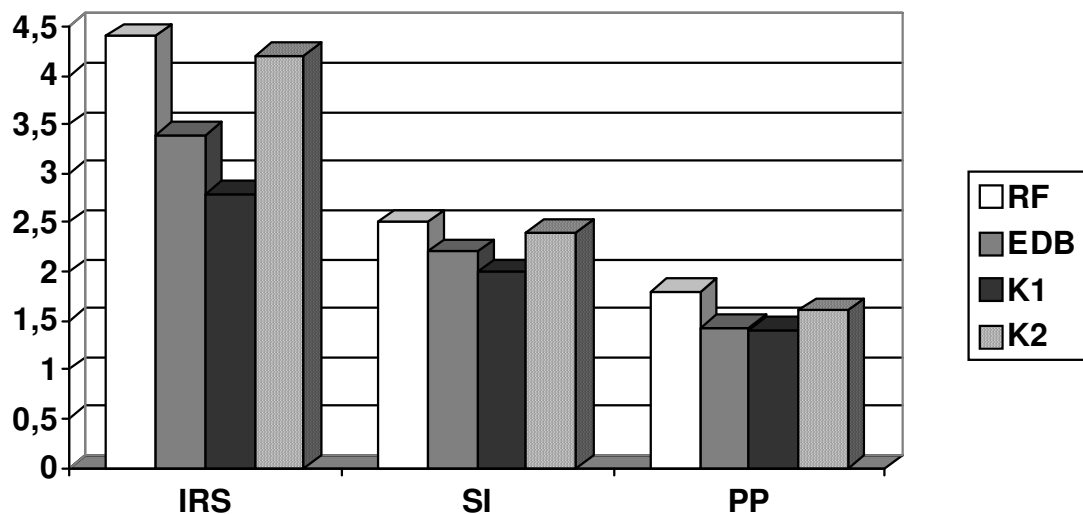
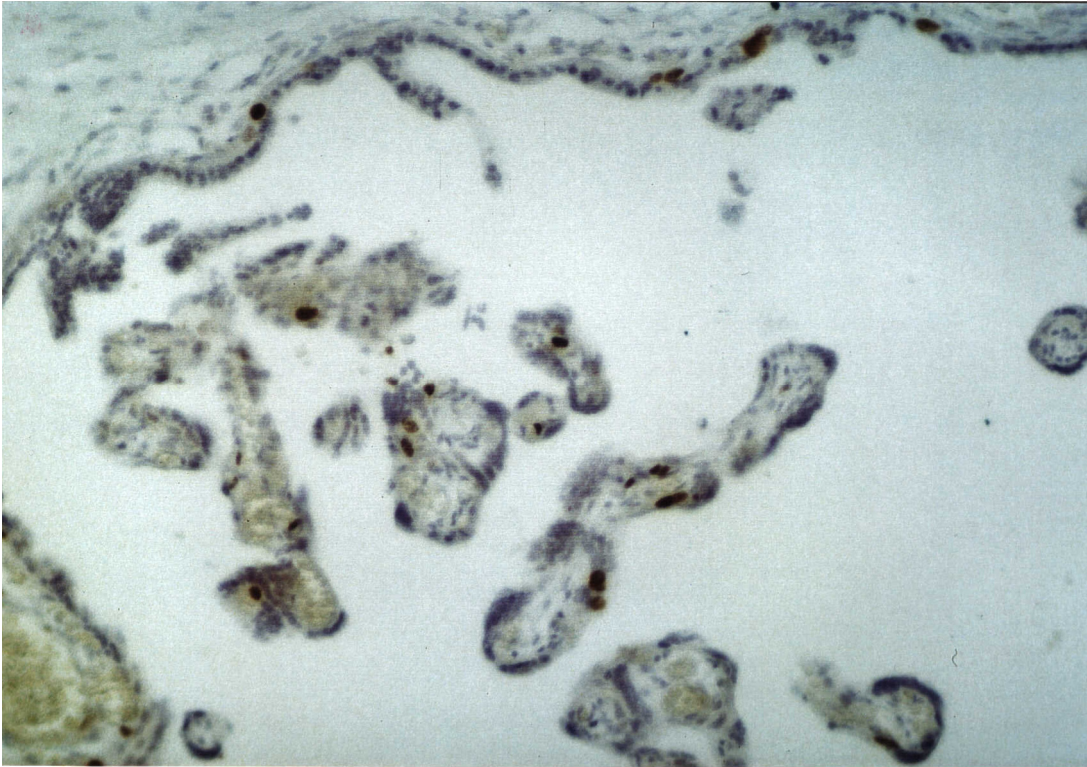
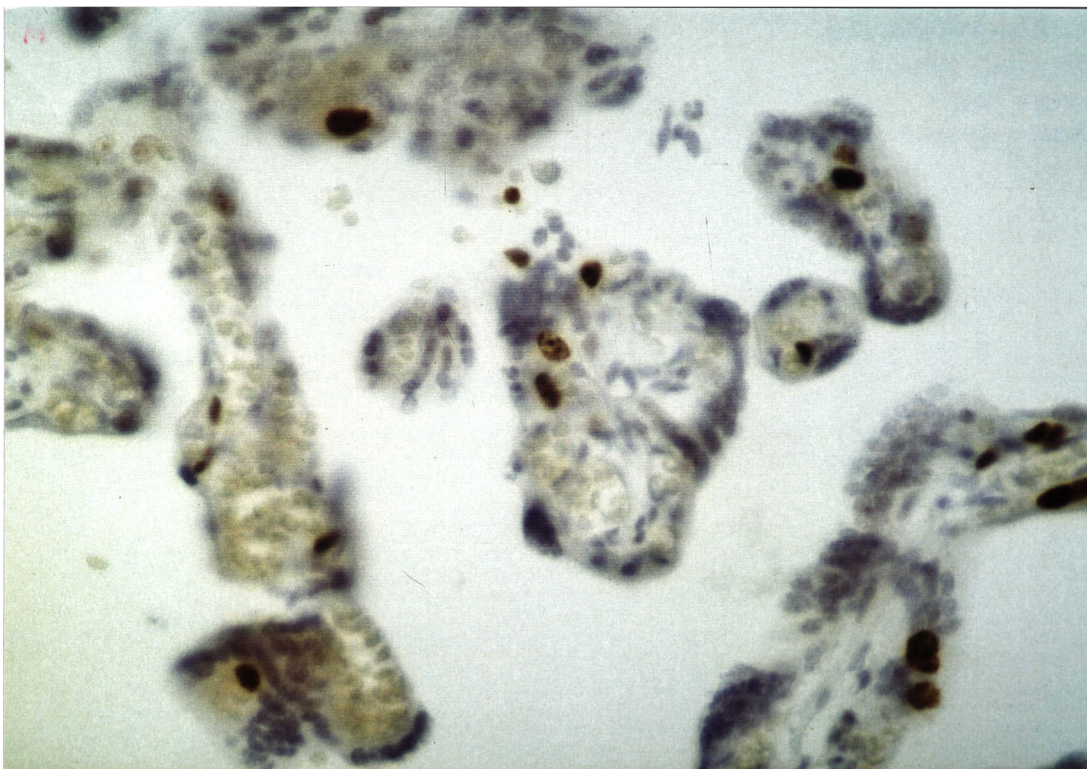


Abb. 19: Darstellung der Mittelwerte des Immunreactivity-Score (IRS), der Färbeintensität (SI) sowie des Prozentsatzes der positiven Zellen (PP) der Mib-1-Färbung



Präparatfotographie 2a:

Mib-1-Färbung (Kernfärbung), Originalvergrößerung von 20x



Präparatfotographie 2b:

Mib-1-Färbung (Kernfärbung), Originalvergrößerung von 40x

4.2.3 Bcl-2

Der Immunreactivity-Score der Bcl-2-Färbung betrug sowohl 5,6 für die K1-Gruppe (Median 4; Bereich 2 – 9) als auch für die K2-Gruppe (Median 4; Bereich 2 – 9). Die RF-Gruppe folgt kurz dahinter mit 5,3 (Median 6; Bereich 2 – 9). Den niedrigsten Score hat die EDB-Gruppe mit einem Mittelwert von 4,8 (Median 3,5; Bereich 2 – 9).

Im Vergleich der vier Gruppen bezüglich des prozentualen Anteils positiver Zellen finden sich keine deutlichen Unterschiede: in der RF-Gruppe ergibt sich ein Mittelwert von 2,6 (Median 3; Bereich 2 – 3), in der EDB-Gruppe von 2,5 (Median 2,5; Bereich 2 – 3) und in den beiden Kontrollgruppen K1 und K2 von jeweils 2,4 (Median 2; Bereich 2 – 3).

Bei der Färbeintensität haben die beiden Kontrollgruppen den höchsten Wert, der Mittelwert beträgt jeweils 2,2 (Median 2; Bereich 1 – 3). In der RF-Gruppe liegt die Färbeintensität im Mittel bei 1,9 (Median 2; Bereich 1 – 3), gefolgt von 1,8 (Median 1,5; Bereich 1 – 3) in der EDB-Gruppe.

Der Unterschied der Mittelwerte zeigte sich für alle vier Kategorien mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant. Auffällig war aber, dass bevorzugt eine Färbung der Syncytiotrophoblasten stattfand.

Bcl-2-Immunoreaktivität fand sich im Zytoplasma der Synzytiotrophoblasten. Das Mesenchym sowie die Zytotrophoblasten waren negativ.

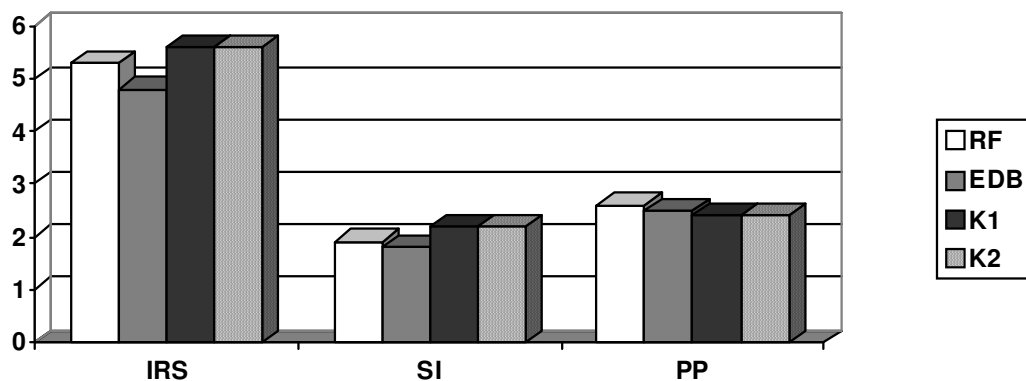
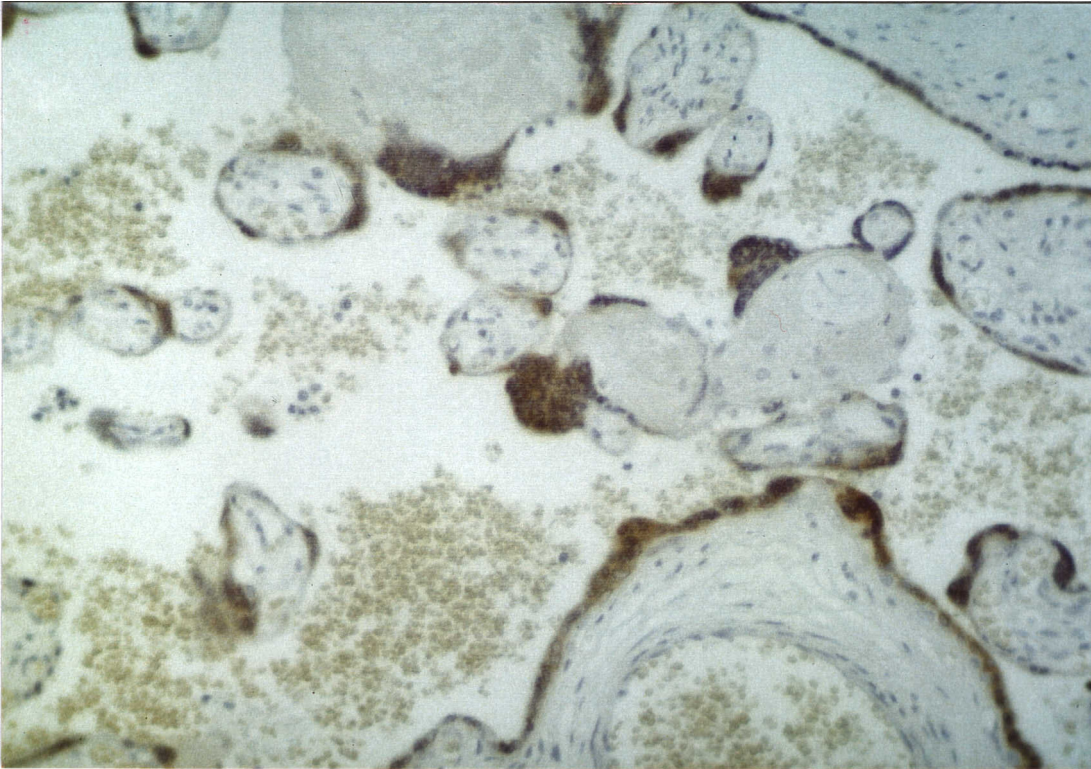
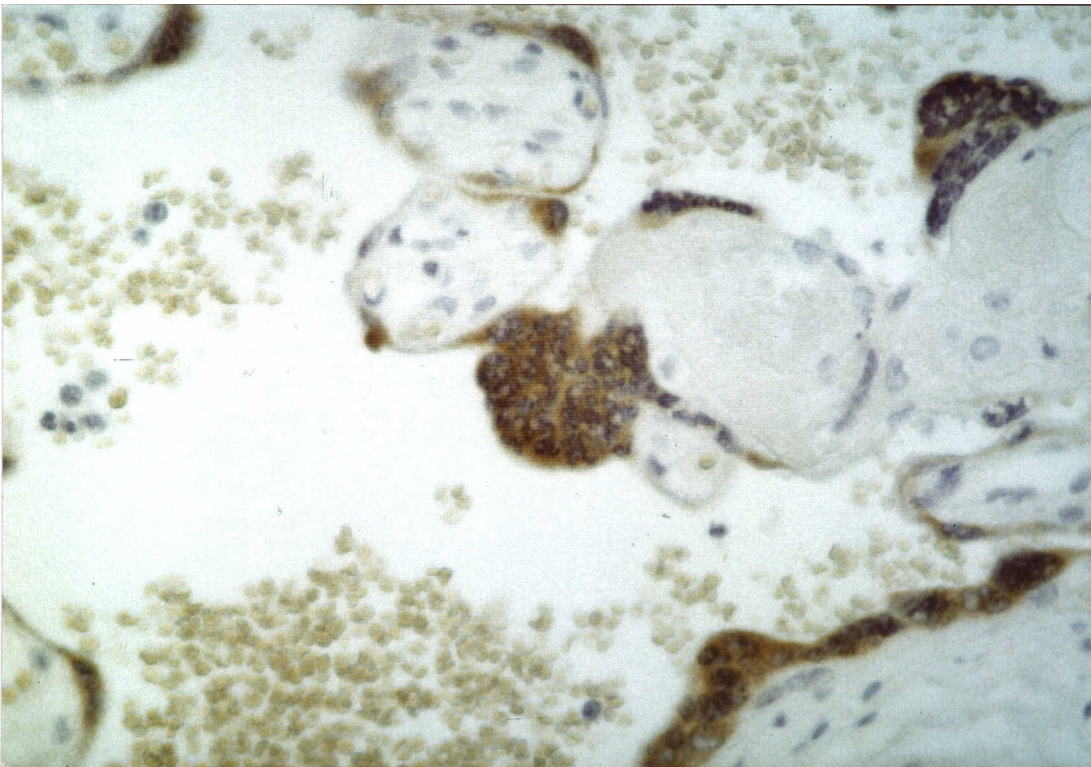


Abb. 20: Darstellung der Mittelwerte des Immunreactivity-Score (IRS), der Färbeintensität (SI) sowie des Prozentsatzes der positiven Zellen (PP) der Bcl-2-Färbung



Präparatfotographie 3a:

Bcl-2-Färbung (Zytoplasmatische Färbung), Originalvergrößerung von 20x



Präparatfotographie 3b:

Bcl-2-Färbung (Zytoplasmatische Färbung), Originalvergrößerung von 40x

4.2.4 TNF- α

Den höchsten Immunreactivity-Score der TNF- α -Färbung wies die RF-Gruppe mit einem Mittelwert von 6 (Median 5; Bereich 3 – 9) auf. Niedrigere Werte fanden sich bei der EDB-Gruppe. Dort ergab sich ein Mittelwert von nur noch 4,5 (Median 5; Bereich 2 – 9). Die Kontrollgruppen lagen mit einem Wert von 4,4 (Median 6; Bereich 2 – 6) kurz darunter.

Bei der Untersuchung des prozentualen Anteils positiver Zellen ergab sich die gleiche Reihenfolge wie beim IRS: die höchsten Werte fanden sich in der RF-Gruppe mit 2,7 (Median 3; Bereich 2 – 3), gefolgt von den Kontrollgruppen mit 2,6 (Median 3; Bereich 2 – 3). Den Schluss bildet die EDB-Gruppe mit 2,5 (Median 2,5; Bereich 2 – 3).

Bei der Färbeintensität steht ebenfalls wieder die RF-Gruppe mit 2,2 (Median 2; Bereich 2 – 3) an der Spitze. Danach folgt nun die EDB-Gruppe mit einem Mittelwert von 1,7 (Median 2; Bereich 1 – 3). Die niedrigsten Werte fanden sich in den Kontrollgruppen mit 1,6 (Median 2; Bereich 1 – 2).

Der Unterschied der Mittelwerte erwies sich für alle drei Kategorien mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

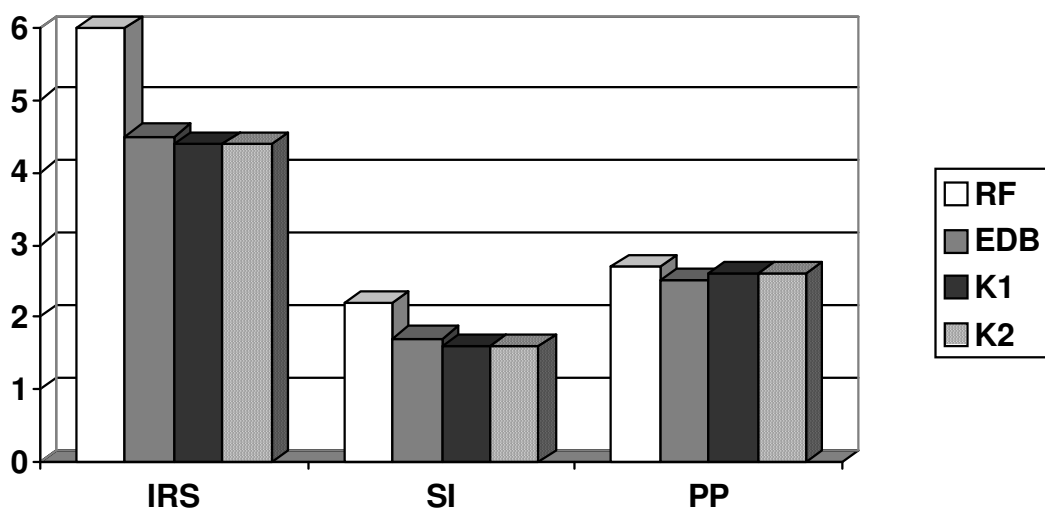
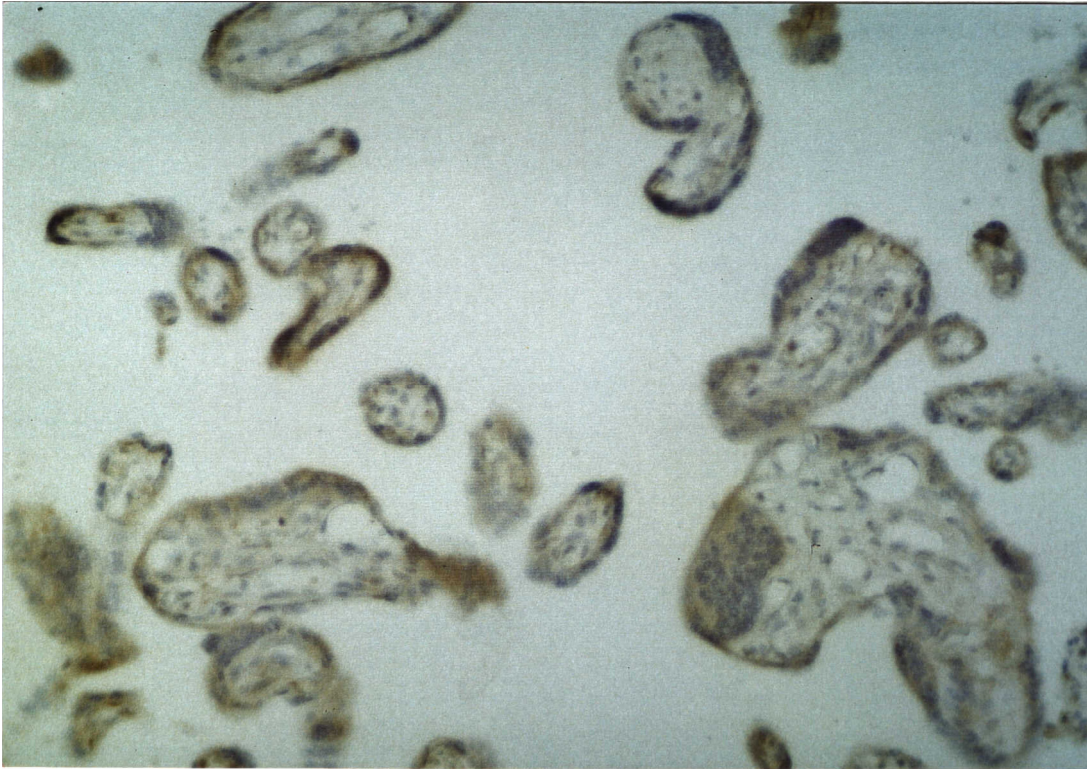
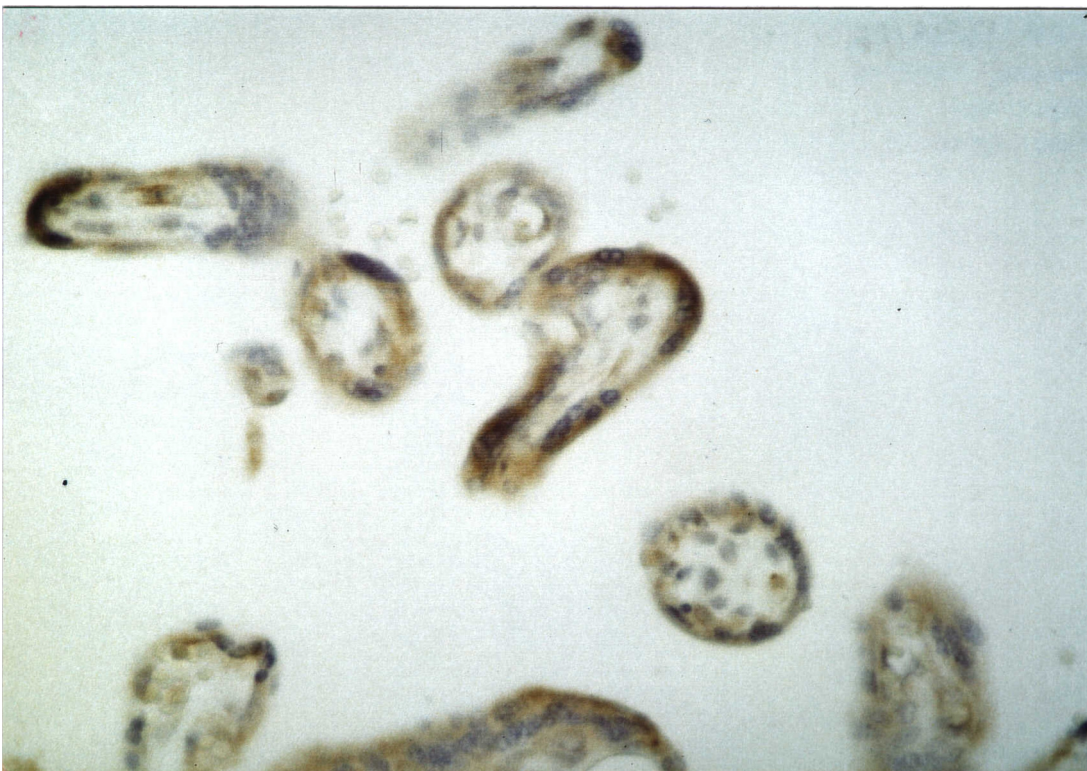


Abb. 21: Darstellung der Mittelwerte des Immunreactivity-Score (IRS), der Färbeintensität (SI) sowie des Prozentsatzes der positiven Zellen (PP) der TNF- α -Färbung



Präparatfotographie 4a:

TNF-Färbung (Zytoplasmatische Färbung), Originalvergrößerung von 20x



Präparatfotographie 4b:

TNF-Färbung (Zytoplasmatische Färbung), Originalvergrößerung von 40x

4.2.5 IGF-1

Den höchsten Immunreactivity-Score hatte die RF-Gruppe mit einem Mittelwert von 3 (Median 3; Bereich 1 – 6). In absteigender Folge kommen dann die K1-Gruppe mit 2,8 (Median 4; Bereich 1 – 4), die EDB-Gruppe mit 2,7 (Median 2; Bereich 1 – 6) und die K2-Gruppe mit 2,4 (Median 2; Bereich 1 – 4).

Bei der Untersuchung des prozentualen Anteils positiver Zellen ergab sich folgende Reihenfolge: die RF-Gruppe mit 1,8 (Median 2; Bereich 1 – 2) sowie die EDB-Gruppe mit 1,8 (Median 2; Bereich 1 – 2) haben die höchsten Werte, gefolgt von der K1-Gruppe (Median 2; Bereich 1 – 2) und der K2-Gruppe mit jeweils 1,6 (Median 2; Bereich 1 – 2).

Mit einem Wert von 1,6 zeigten die RF-Gruppe (Median 1,5; Bereich 1 – 3) und die K1-Gruppe (Median 2; Bereich 1 – 2) die stärkste Färbeintensität. In der EDB-Gruppe (Median 1; Bereich 1 – 3) ergab sich ein Mittelwert von 1,5. Die geringste Intensität bot die K2-Gruppe; dort betrug der Wert nur noch 1,4 (Median 1; Bereich 1 – 2).

Der Unterschied der Mittelwerte zeigte sich für alle drei Kategorien mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

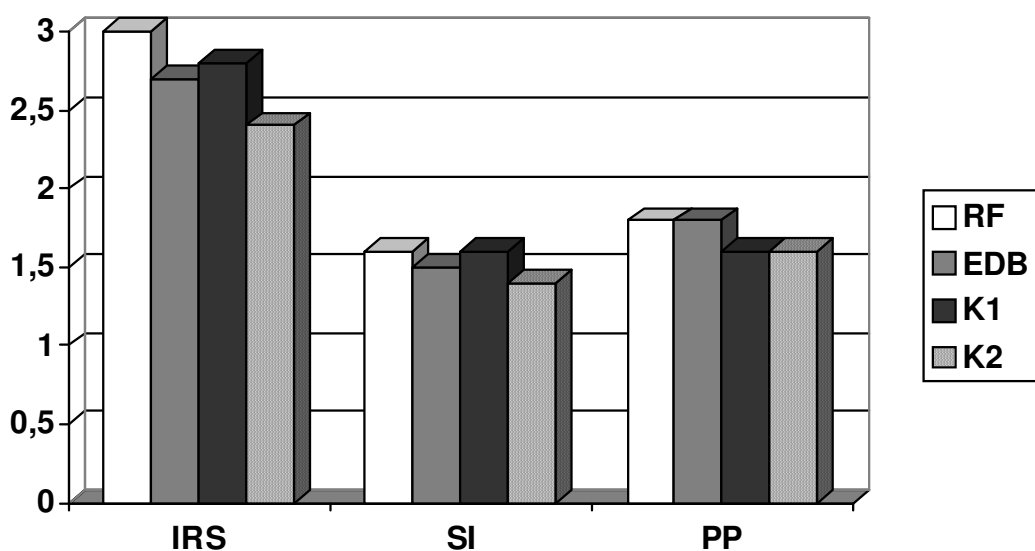
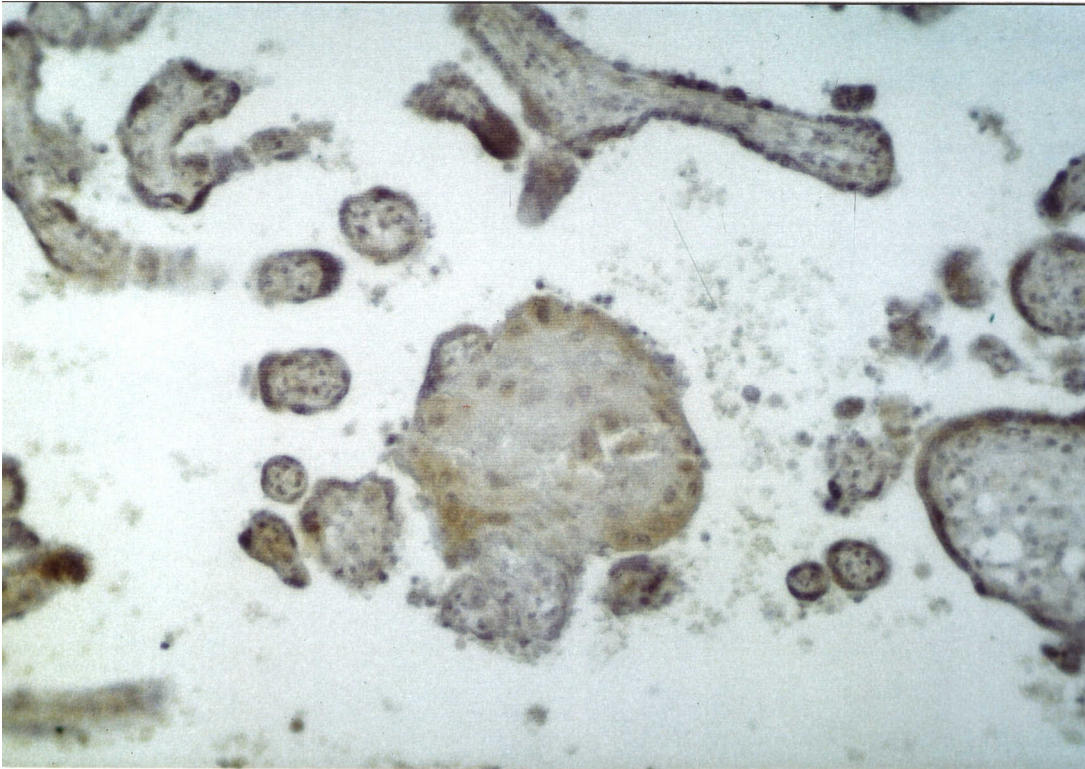
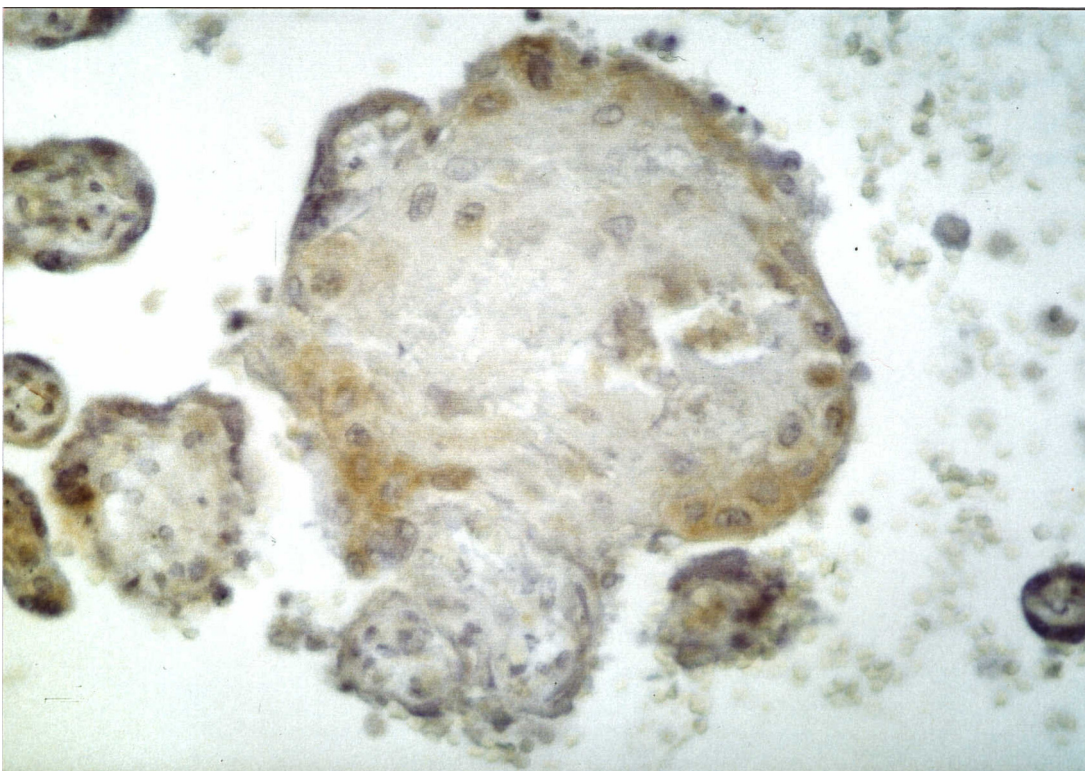


Abb. 22: Darstellung der Mittelwerte des Immunreactivity-Score (IRS), der Färbeintensität (SI) sowie des Prozentsatzes der positiven Zellen (PP) der IGF-1-Färbung



Präparatfotographie 5a:
IGF-1-Färbung (Zytoplasmatische Färbung), Originalvergrößerung von 20x



Präparatfotographie 5b:
IGF-1-Färbung (Zytoplasmatische Färbung), Originalvergrößerung von 40x

4.2.6 VEGF

Der Immunreactivity-Score betrug bei der VEGF-Färbung bei der K1-Gruppe (Median 2; Bereich 1 – 6) und der K2-Gruppe (Median 2; Bereich 1 – 6) 2,6, gefolgt von der RF-Gruppe mit 2,8 (Median 2; Bereich 2 – 6). Den höchste Score bot die EDB-Gruppe mit 2,9 im Mittel (Median 2; Bereich 1 – 6).

Der prozentuale Anteil positiver Zellen betrug in der K1-Gruppe und der K2-Gruppe mit 1,4 (Median 1; Bereich 1 – 2). Knapp dahinter folgt die EDB-Gruppe mit 1,6 (Median 2; Bereich 1 – 2). Der höchste PP-Wert zeigte sich bei der RF-Gruppe mit einem Mittelwert von 1,7 (Median 2; Bereich 1 – 2).

Die Färbeintensität war unter den Gruppen relativ homogen verteilt: in der RF-Gruppe im Mittel 1,7 (Median 2; Bereich 1 – 3), in den anderen drei Gruppen war der Mittelwert jeweils 1,8 (Median 2; Bereich 1 – 3).

Der Unterschied der Mittelwerte zeigte sich für alle drei Kategorien mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

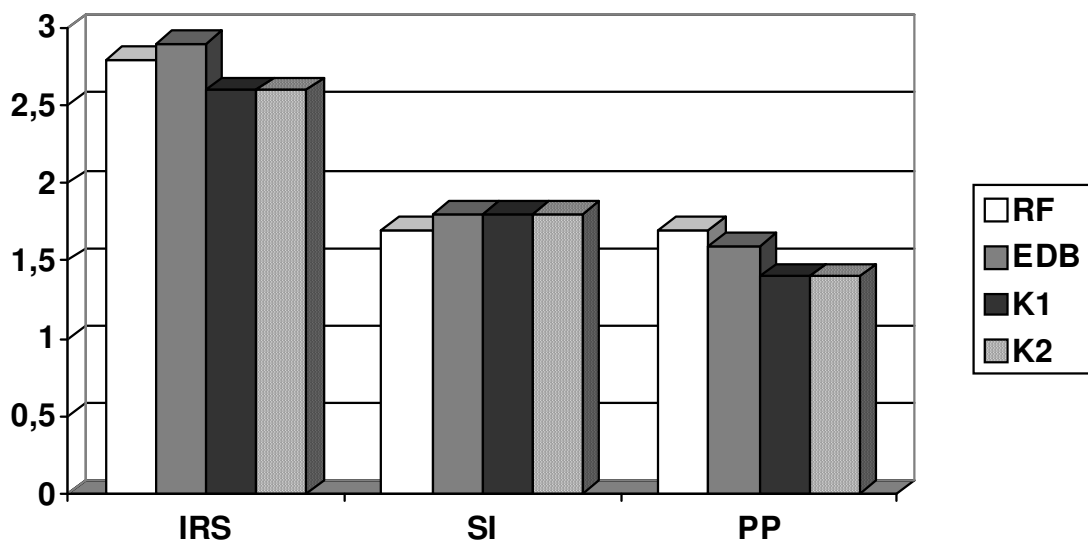
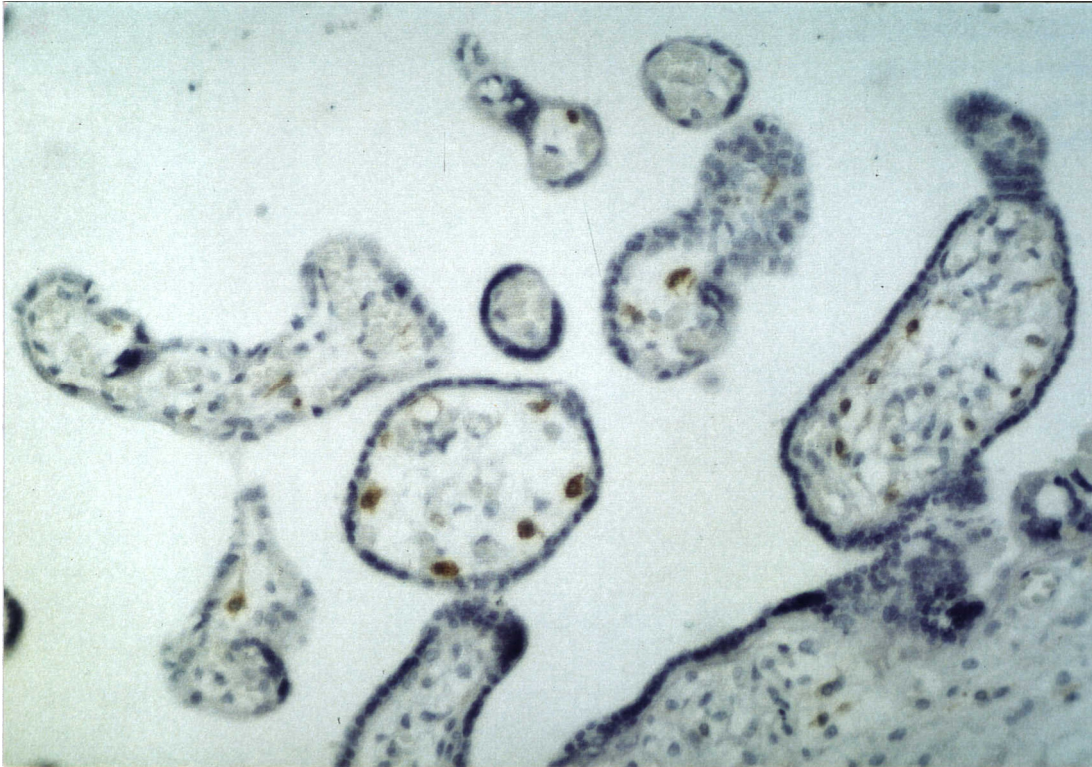
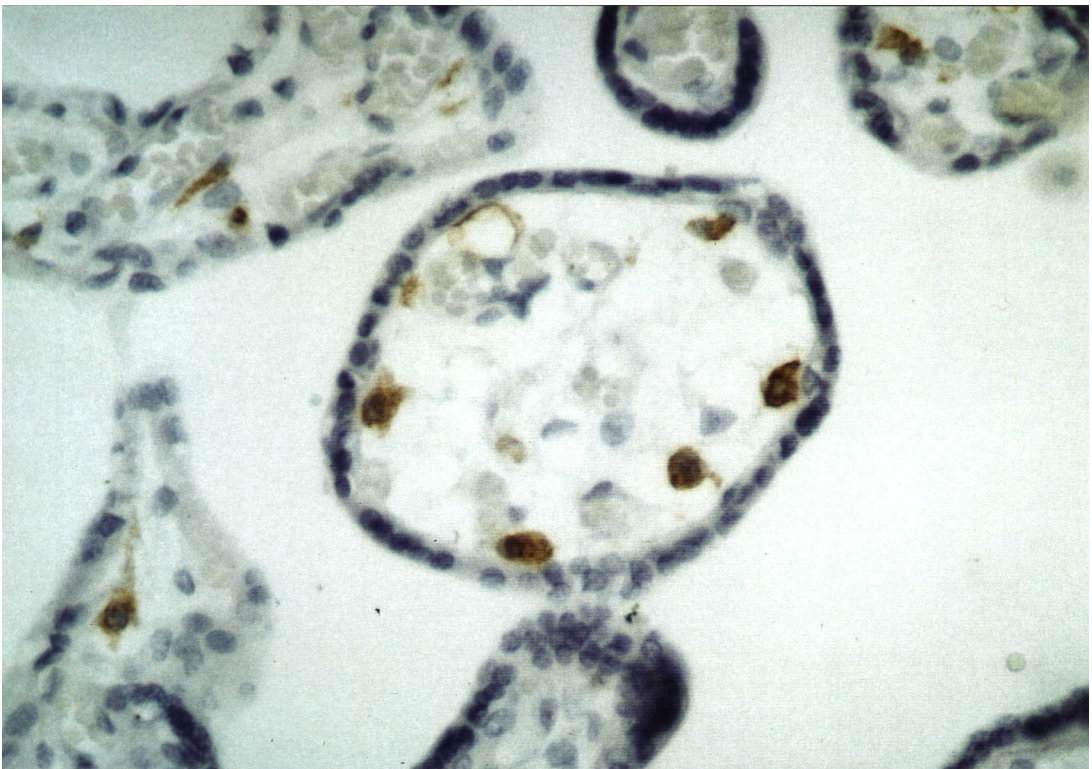


Abb. 23: Darstellung der Mittelwerte des Immunreactivity-Score (IRS), der Färbeintensität (SI) sowie des Prozentsatzes der positiven Zellen (PP) der VEGF-Färbung

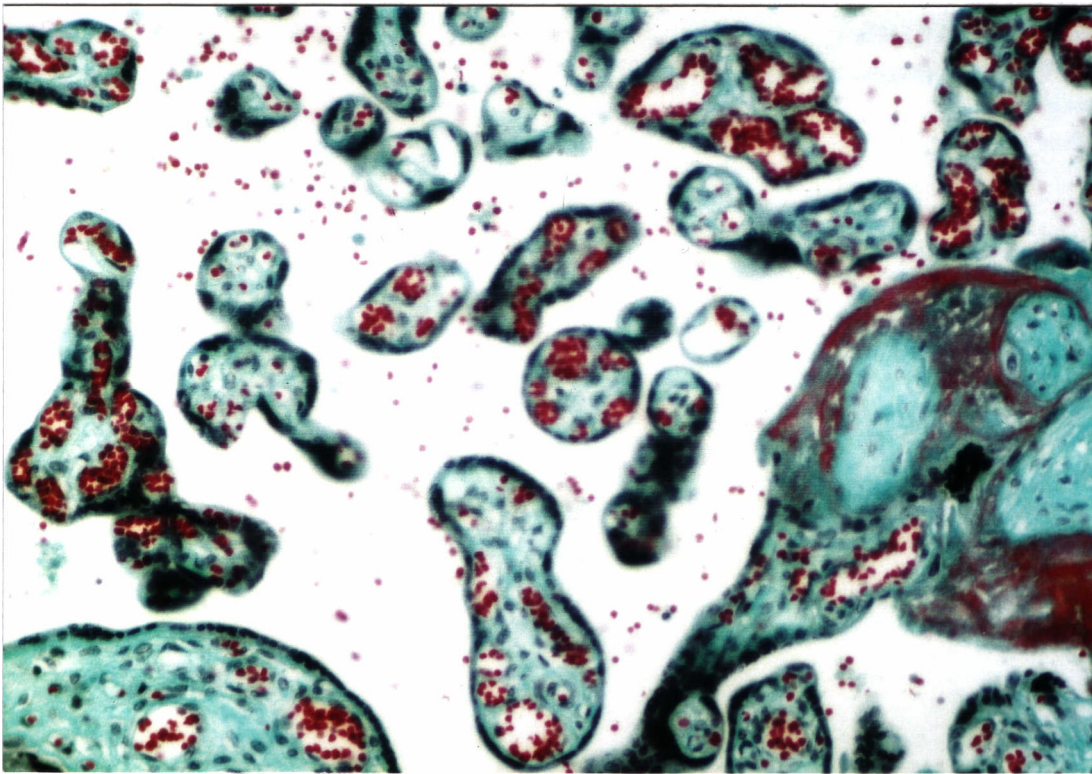


Präparatfotographie 6a:
VEGF-Färbung (Kernfärbung), Originalvergrößerung von 20x



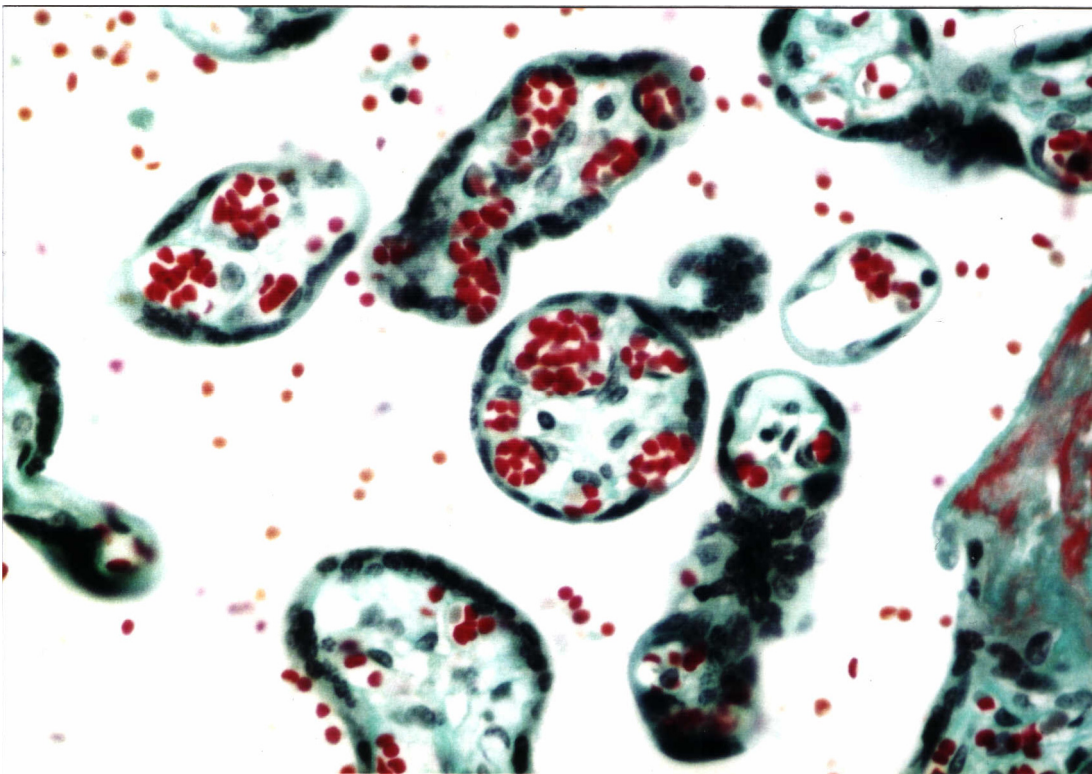
Präparatfotographie 6b:
VEGF-Färbung (Kernfärbung), Originalvergrößerung von 40x

4.3 Ibas-Analyse



Präparatfotographie 7a:

Masson-Goldner-Färbung, Originalvergrößerung von 20x



Präparatfotographie 7b:

Masson-Goldner-Färbung, Originalvergrößerung von 40x

4.3.1 P01: max. Zottendurchmesser (μm)

Der größte Durchmesser im Mittel fand sich in der K1-Gruppe mit $72,6 \mu\text{m}$ (Bereich $59,3 - 89,9 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $69,2 - 75,9 \mu\text{m}$). In absteigender Reihe folgten dann die K2-Gruppe mit $71,2 \mu\text{m}$ (Bereich $61,4 - 81,4 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $68,1 - 74,3 \mu\text{m}$), die EDB-Gruppe mit $68,8 \mu\text{m}$ (Bereich $57,9 - 80,3 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $65,9 - 71,8 \mu\text{m}$) und zu Schluss die RF-Gruppe mit $67,1 \mu\text{m}$ (Bereich $55,8 - 77,2 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $62,6 - 71,5 \mu\text{m}$). Bei der Auswertung des max. Zottendurchmessers zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede der Mittelwerte.

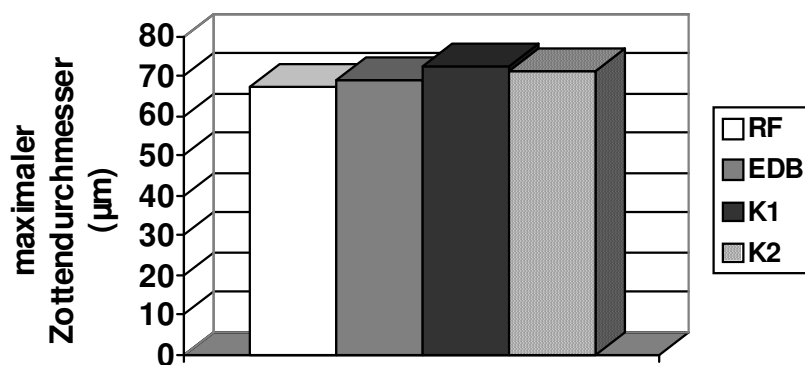


Abb. 24: Darstellung der Mittelwerte des maximalen Zottendurchmessers

4.3.2 P02: min. Zottendurchmesser (μm)

Die Auswertung des min. Zottendurchmessers ergab ebenfalls keine signifikanten Unterschiede der Mittelwerte. Die Mittelwerte lagen in der RF -Gruppe mit $56,9 \mu\text{m}$ (Bereich $47,8 - 64,9 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $53,4 - 60,5 \mu\text{m}$) am niedrigsten. Der min. Zottendurchmesser betrug in der EDB-Gruppe im Mittel $59,3 \mu\text{m}$ (Bereich $49,1 - 68,7 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $56,8 - 61,8 \mu\text{m}$) und in K2-Gruppe im Mittel $61,5 \mu\text{m}$ (Bereich $53,0 - 69,1 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $59,0 - 64,0 \mu\text{m}$). Den höchsten Mittelwert wies die K1-Gruppe mit $62,5 \mu\text{m}$ (Bereich $51,4 - 78,9 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $59,4 - 65,6 \mu\text{m}$) auf.

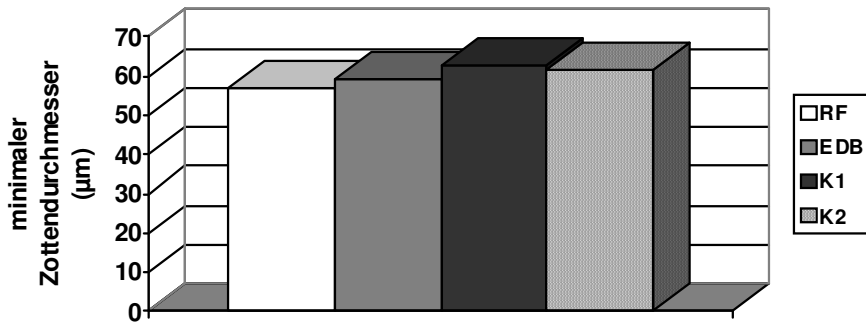


Abb. 25: Darstellung der Mittelwerte des minimalen Zottendurchmessers

4.3.3 P03: $D_{max}/D_{min} = P01:P02 \leq 1,29$

Da dies eine Voraussetzung des computergestützten Morphometrieprogrammes ist, können hier keine signifikanten Unterschiede auftreten!

4.3.4 P04: Zottenfläche (µm²)

Die Untersuchung der gesamten Zottenfläche ergab, dass die K1-Gruppe mit einem Mittelwert von 3742 µm² (Bereich 2425 – 5865 µm²; 95%-Konfidenzintervall 3376 – 4107 µm²) den größten Wert auswies. Die geringste Fläche fand sich in der RF-Gruppe mit 3077 µm² (Bereich 2189 – 3887 µm²; 95%-Konfidenzintervall 2733 – 3420 µm²). Die EDB-Gruppe hatte eine mittlere Fläche von 3408 µm² (Bereich 2299 – 4580 µm²; 95%-Konfidenzintervall 3133 – 3683 µm²), in der K2-Gruppe im Mittel 3651 µm² (Bereich 2626 – 4813 µm²; 95%-Konfidenzintervall 3334 – 3969 µm²). Die Differenz der Mittelwerte wies jedoch keine Signifikanz auf.

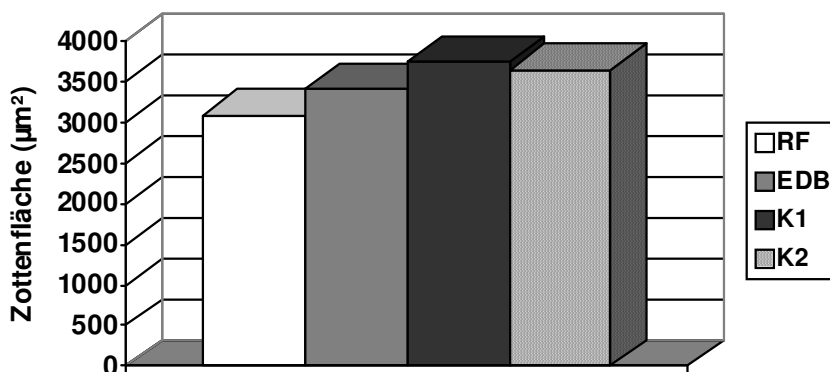


Abb. 26: Darstellung der Mittelwerte der Zottenfläche

4.3.5 P05: Zottenumfang (μm)

Der Unterschied der Mittelwerte des Zottenumfangs zeigte sich auch hier mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als nicht signifikant.

Die Werte des Zottenumfangs reicht von 216 μm (Bereich 176 – 260 μm ; 95%-Konfidenzintervall 199 – 233 μm) in der RF-Gruppe, über 219 μm (Bereich 182 – 255 μm ; 95%-Konfidenzintervall 209 – 229 μm) in der EDB-Gruppe und 224 μm (Bereich 193 – 253 μm ; 95%-Konfidenzintervall 214 – 233 μm) in der K2-Gruppe bis zu 230 μm (Bereich 187 – 285 μm ; 95%-Konfidenzintervall 218 – 241 μm) in der K1-Gruppe.

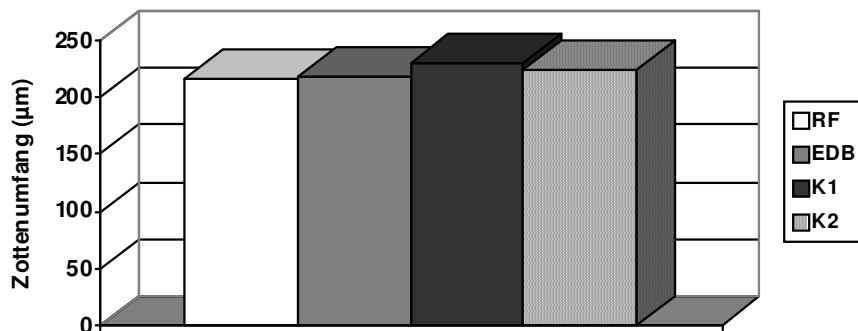


Abb. 27: Darstellung der Mittelwerte des Zottenumfangs

4.3.6 P06: Anzahl der Gefäße pro Zotte

Die Anzahl der Gefäße pro Zotte betrug in der RF-Gruppe im Mittel 3,70 (Bereich 2,64 – 4,60; 95%-Konfidenzintervall 3,30 – 4,10), in der EDB-Gruppe 4,26 (Bereich 3,18 – 6,24; 95%-Konfidenzintervall 3,91 – 4,60) in der K1-Gruppe 4,19 (Bereich 3,32 – 5,10; 95%-Konfidenzintervall 3,96 – 4,43) und in der K2-Gruppe 4,00 (Bereich 3,18 – 5,66; 95%-Konfidenzintervall 3,64 – 4,37). Der Unterschied der Mittelwerte zeigte sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) als ebenfalls nicht signifikant.

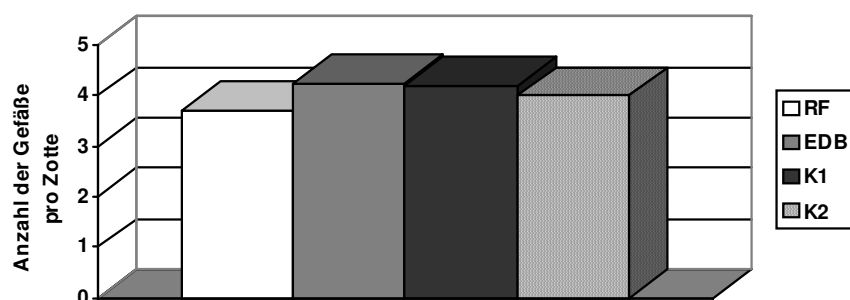


Abb. 28: Darstellung der Mittelwerte der Gefäße pro Zotte

4.3.7 P07: mittl. Fläche eines Zottengefäßes (μm^2) - (logarithmiert)

Die mittlere Fläche eines Zottengefäßes war bei der RF-Gruppe mit $2,27 \mu\text{m}^2$ (Bereich $2,16 - 2,51 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $2,18 - 2,36 \mu\text{m}^2$) im Vergleich zur K2-Gruppe mit $2,50 \mu\text{m}^2$ (Bereich $2,19 - 2,89 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $2,41 - 2,59 \mu\text{m}^2$) signifikant kleiner (Signifikanz: 0,01). Keine Signifikanzen zeigten sich bezüglich der EDB-Gruppe mit einem Mittelwert von $2,39 \mu\text{m}^2$ (Bereich $2,05 - 2,66 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $2,30 - 2,48 \mu\text{m}^2$) und der K1-Gruppe mit $2,38 \mu\text{m}^2$ (Bereich $2,10 - 2,69 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $2,32 - 2,45 \mu\text{m}^2$).

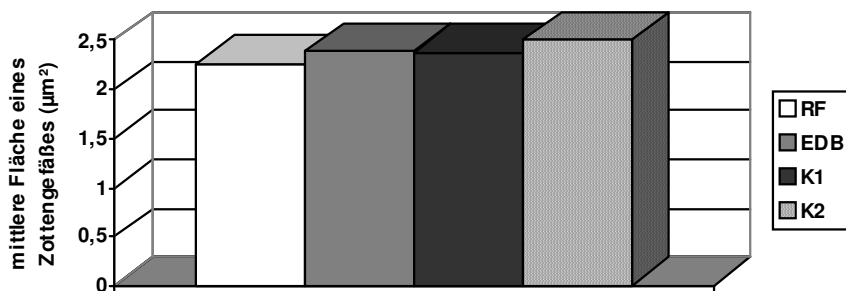


Abb. 29: Darstellung der Mittelwerte der mittleren Fläche eines Zottengefäßes

4.3.8 P08: Summe d. Gefäßflächen pro Zotte (μm^2)

Die Summe der Gefäßflächen pro Zotte betrug für die RF-Gruppe im Mittel $594 \mu\text{m}^2$ (Bereich $348 - 989 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $441 - 747 \mu\text{m}^2$). Dies ist signifikant kleiner sowohl gegenüber der EDB-Gruppe (Signifikanz: 0,039) mit einem Mittelwert von $973 \mu\text{m}^2$ (Bereich $453 - 1681 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $801 - 1144 \mu\text{m}^2$), als auch gegenüber der K2-Gruppe (Signifikanz: 0,002) mit $1146 \mu\text{m}^2$ (Bereich $508 - 1922 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $933 - 1359 \mu\text{m}^2$). Bezogen auf die K1-Gruppe mit einem Mittelwert von $953 \mu\text{m}^2$ (Bereich $610 - 1473 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $819 - 1086 \mu\text{m}^2$) ergab sich keine Signifikanz.

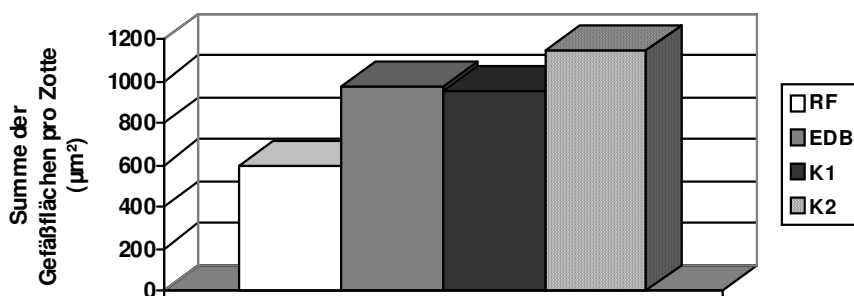


Abb. 30: Darstellung der Mittelwerte der Summe der Gefäßflächen pro Zotte

4.3.9 P09: Vaskularisationsgrad - (logarithmiert)

Hinsichtlich des Vaskularisationsgrades (logarithmiert) ergaben sich für die vier Gruppen keine Signifikanzen. Er betrug in der RF-Gruppe im Mittel $-0,55$ (Bereich $-0,83 - 0$; 95%-Konfidenzintervall $-0,76 - -0,33$), in der EDB-Gruppe $-0,50$ (Bereich $-0,82 - 0,16$; 95%-Konfidenzintervall $-0,62 - -0,39$), in der K1-Gruppe $-0,51$ (Bereich $-0,97 - -0,06$; 95%-Konfidenzintervall $-0,62 - -0,41$) und in der K2-Gruppe $-0,52$ (Bereich $-0,84 - -0,32$; 95%-Konfidenzintervall $-0,59 - -0,46$).

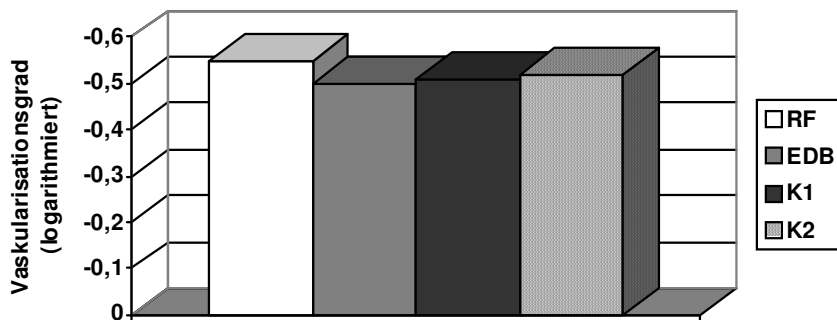


Abb. 31: Darstellung der Mittelwerte des Vaskularisationsgrades

4.3.10 P10: Anzahl der Epithelplatten pro Zotte

Den niedrigsten Wert für die Anzahl der Epithelplatten pro Zotte fand sich in der EDB-Gruppe mit einem Mittelwert von $0,54$ (Bereich $0,20 - 1,14$; 95%-Konfidenzintervall $0,43 - 0,65$). Es folgen die K1-Gruppe mit $0,62$ (Bereich $0,12 - 1,28$; 95%-Konfidenzintervall $0,47 - 0,77$). Sowohl die RF-Gruppe (Bereich $0,22 - 1,42$; 95%-Konfidenzintervall $0,38 - 0,99$), als auch die K2-Gruppe (Bereich $0,08 - 1,48$; 95%-Konfidenzintervall $0,50 - 0,86$) weisen als Anzahl den Wert $0,68$ auf. Der Unterschied der Mittelwerte zeigte sich auch hier als nicht signifikant.

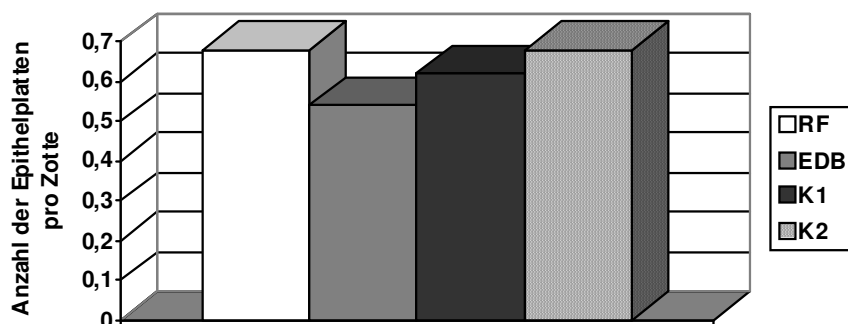


Abb. 32: Darstellung der Mittelwerte der Anzahl der Epithelplatten pro Zotte

4.3.11 P11: Summe der Epithelplattenlängen pro Zotte (μm)

Die Summe der Epithelplattenlängen pro Zotte variierte im Mittel zwischen 6,72 μm (Bereich 0,45 – 14,12 μm ; 95%-Konfidenzintervall 4,66 – 8,77 μm) in der K2-Gruppe und 4,85 μm (Bereich 1,34 – 9,39 μm ; 95%-Konfidenzintervall 3,82 – 5,89 μm) in der EDB-Gruppe. Dazwischen liegen mit 5,87 μm (Bereich 0,84 – 10,33 μm ; 95%-Konfidenzintervall 4,58 – 7,17 μm) die K1-Gruppe und mit 5,73 μm (Bereich 1,94 – 11,72 μm ; 95%-Konfidenzintervall 2,73 – 8,73 μm) in der RF-Gruppe. Die Auswertung der Unterschiede der Mittelwerte ergab mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha = 0,05$) keine Signifikanz.

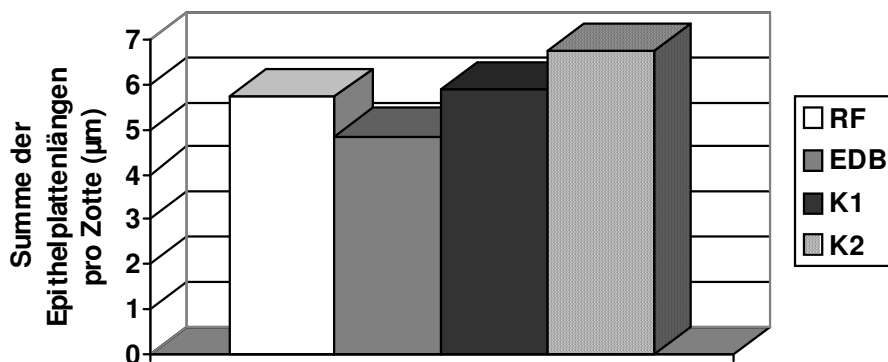


Abb. 33: Darstellung der Mittelwerte der Summe der Epithelplattenlängen pro Zotte

4.3.12 P12: Anteil der Epithelplatten am Zottenumfang (%)

Der Anteil der Epithelplatten am Zottenumfang betrug in der RF-Gruppe im Mittel 0,31 ‰ (Bereich 0,1 – 0,7 ‰; 95%-Konfidenzintervall 0,156 – 0,464 ‰). Die EDB-Gruppe wies mit 0,258 ‰ (Bereich 0,1 – 0,6 ‰; 95%-Konfidenzintervall 0,02 – 0,315 ‰) den niedrigsten Wert auf. Die K1-Gruppe lag da mit 0,304 ‰ (Bereich 0,0 – 0,6 ‰; 95%-Konfidenzintervall 0,234 – 0,375 ‰) etwas höher, jedoch der höchste Mittelwert fand sich in der K2-Gruppe. Dort betrug der Anteil der Epithelplatten am Zottenumfang im Mittel 0,333 ‰ (Bereich 0,0 – 0,7 ‰; 95%-Konfidenzintervall 0,236 – 0,429 ‰). Signifikante Unterschiede wurden daraus aber nicht sichtbar.

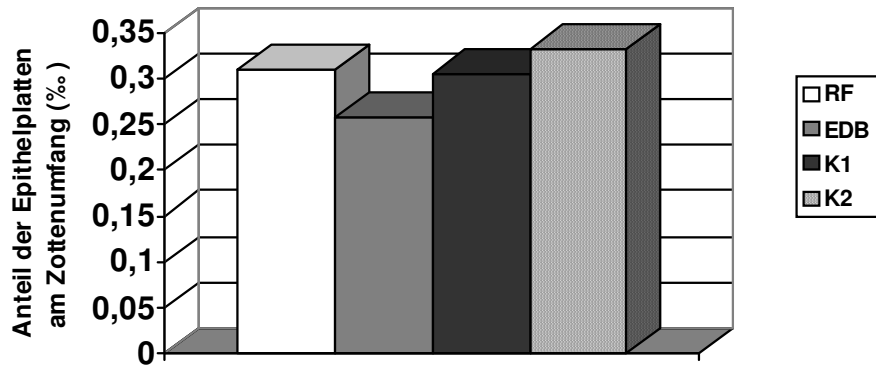


Abb. 34: Darstellung der Mittelwerte des Anteiles der Epithelplatten am Zottenumfang

4.3.13 P13: mittl. Abstand Gefäß zu Zottenoberfläche (μm)

Den größten mittleren Abstand Gefäß zu Zottenoberfläche wies die RF-Gruppe mit einem Abstand von $5,51 \mu\text{m}$ (Bereich $3,13 - 8,65 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $4,31 - 6,71 \mu\text{m}$) auf. Der nächst geringere Abstand fand sich in der K1-Gruppe. Dort betrug die Distanz nur noch $5,09 \mu\text{m}$ (Bereich $2,68 - 10,16 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $4,19 - 5,99 \mu\text{m}$). Die EDB-Gruppe mit $4,27 \mu\text{m}$ (Bereich $2,49 - 6,95 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $3,72 - 4,83 \mu\text{m}$) und die K2-Gruppe mit $4,24 \mu\text{m}$ (Bereich $1,56 - 6,91 \mu\text{m}$; 95%-Konfidenzintervall $3,48 - 5,00 \mu\text{m}$) lagen eng beieinander und bildeten den kürzesten Abstand. Es ließen sich für die Distanzen jedoch keine signifikanten Unterschiede nachweisen.

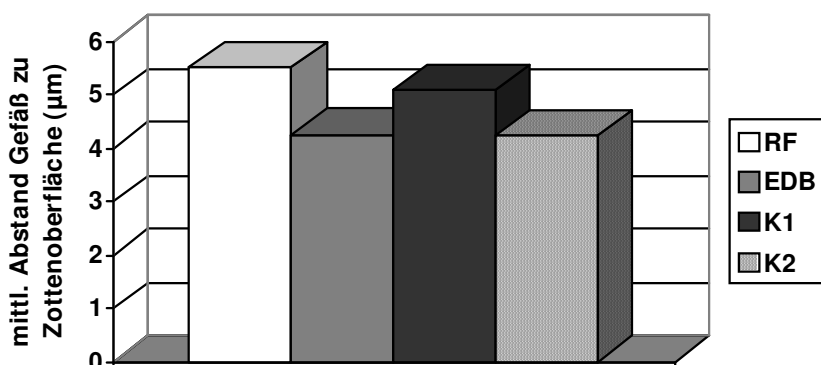


Abb. 35: Mittelwerte des mittleren Abstandes vom Gefäß zur Zottenoberfläche

4.3.14 P14: Sprouts pro Zotte

Bei der Anzahl der Sprouts pro Zotte fand sich, dass die RF-Gruppe mit im Durchschnitt 0,52 Sprouts (Bereich 0,36 – 0,84; 95%-Konfidenzintervall 0,42 – 0,63) und die EDB-Gruppe mit 0,45 Sprouts (Bereich 0,14 – 0,76; 95%-Konfidenzintervall 0,37 – 0,52) bezogen sowohl auf die K1-Gruppe mit durchschnittlich 0,22 (Bereich 0,08 – 0,36; 95%-Konfidenzintervall 0,19 – 0,25) als auch die K2-Gruppe mit 0,21 Sprouts (Bereich 0,08 – 0,40; 95%-Konfidenzintervall 0,15 – 0,27) hochsignifikant größer waren. Die Signifikanz betrug jeweils 0,000.

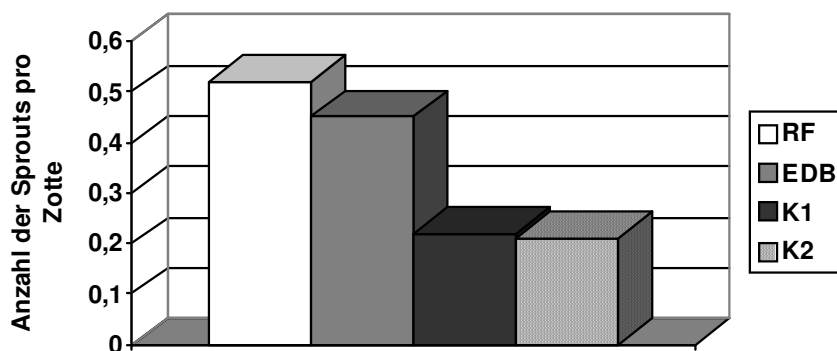


Abb. 36: Darstellung der Mittelwerte der Anzahl der Sprouts pro Zotte

4.3.15 P15: Sproutfläche pro Zotte (μm^2) - (logarithmiert)

Bei der Auswertung der Sproutfläche ergab sich die gleiche Konstellation wie bei der Anzahl der Sprouts. Ebenfalls zeigte sich, dass die RF-Gruppe mit $1,96 \mu\text{m}^2$ (Bereich $1,65 - 2,28 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $1,82 - 2,09 \mu\text{m}^2$) und die EDB-Gruppe mit $1,87 \mu\text{m}^2$ (Bereich $1,38 - 2,22 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $1,77 - 1,97 \mu\text{m}^2$) signifikant größer gegenüber den Kontrollgruppen war. Für die K1-Gruppe ergab sich ein Mittelwert von $1,62 \mu\text{m}^2$ (Bereich $1,30 - 1,90 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $1,55 - 1,70 \mu\text{m}^2$) und für die K2-Gruppe eine Fläche von $1,61 \mu\text{m}^2$ (Bereich $1,27 - 2,13 \mu\text{m}^2$; 95%-Konfidenzintervall $1,46 - 1,76 \mu\text{m}^2$). Es ergaben sich Signifikanzen, die zwischen 0,002 und 0,006 lagen.

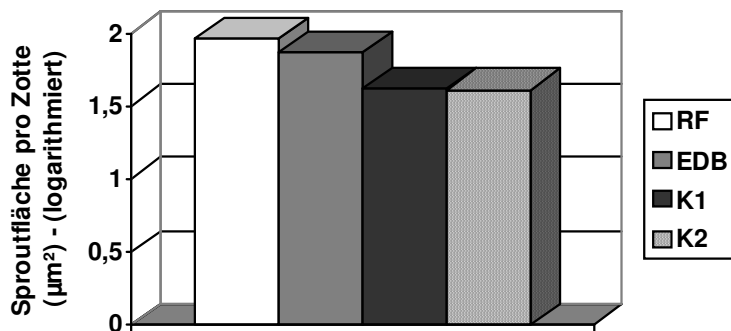


Abb. 37: Darstellung der Mittelwerte der Sproutfläche pro Zotte

ZUSAMMENFASSUNG:

Bei der Auswertung der Morphometrieergebnisse zeigten sich bei 4 Parametern signifikanten Unterschiede:

- Die mittlere Fläche eines Zottengefäßes (P07) war bei der Reverse Flow Gruppe im Vergleich zur Kontrolle 2 signifikant kleiner.
- Die Summe der Gefäßflächen pro Zotte der RF-Gruppe (P08) war sowohl gegenüber der EDB-Gruppe, als auch gegenüber der K2-Gruppe signifikant kleiner.
- Bei der Anzahl der Sprouts (P14) sowie der Sproutfläche (P15) pro Zotte findet sich, dass die RF-Gruppe und die EDB-Gruppe bezogen auf die Kontrollen 1 und 2 signifikant größer sind.

5 DISKUSSION

Ein komplikationsloser Schwangerschaftsverlauf sollte das Hauptziel der geburtshilflichen Überwachung sowohl für die Mutter als auch für das Kind sein. Die antepartale Blutflussmessung der fetalen Gefäße mittels Doppler-Sonographie hat sich zunehmend in den letzten Jahren als ein wertvolles prognostisches Hilfsmittel zur Erkennung fetaler Stresssituationen erwiesen. Bei diversen Fragestellungen in der Pränataldiagnostik hat sie ihren festen Platz [1]. Als nicht invasive Untersuchung wird sie deshalb gehäuft bei Risikoschwangerschaften zur Beurteilung einer intrauterinen Wachstumsretardierung [60, 116, 146], des uteroplazentaren Kreislaufs [28] sowie der fetalen Gefäße angewandt. Anhand der Doppler-Flow-Befunde lassen sich Aussagen bezüglich einer Wachstumsretardierung, einer schwangerschaftsinduzierten Hypertonie, der EPH-Gestose, eines pathologischen CTG, einer Mangel- und Frühgeburt, sowie der etwaigen Notwendigkeit einer neonatologischen Intensivbehandlung beurteilen. Zusätzlich zeigen sich Veränderungen der Plazenta sowie des Plazentabettes. Doppleruntersuchungen sind in ihren Ergebnissen jedoch bezüglich einer Reihe von Faktoren beeinflussbar: Variabel ist der Schallwinkel, die Position des Dopplerfensters im Gefäß, die Auflösung des Bildes, die Variabilität der Frequenz sowie externe Faktoren wie Kindsbewegungen oder Atemexkursionen. Zum Ausschluss dieser Variablen ist eine Aussage nicht allein auf eine Untersuchung zu stützen.

Als weitere Frage stand zur Diskussion, ob sich bei Patientinnen mit EDB bzw. RF ein Zusammenhang zu einem verminderten **Plazentagewicht** sowie **Geburtsgewicht** belegen lässt, hinweisend auf eine Wachstumsretardierung bei mangelhafter Ausbildung der Plazenta. Salafia et al. beschrieben in ihren Studien in Fällen einer IUGR ein signifikant geringeres Plazentagewicht [109, 110].

Sowohl das Plazentagewicht als auch das Geburtsgewicht der EDB-Gruppe waren analog dieser Vorstellung signifikant geringer gegenüber der Kontrollgruppe 1. Im Gegensatz dazu fand sich jedoch bei der RF-Gruppe, mit ebenfalls pathologischem Flussprofil, bezogen auf die gleiche Kontrollgruppe ein höheres (zweitgrößtes) Gewicht. Dieses gegenteilige Ergebnis unterstützt somit nicht die

Annahme, dass sich bei pathologischen Dopplerformen eine entsprechende Korrelation mit dem Geburts- bzw. Plazentagewicht herleiten lässt.

Die IUGR, gekennzeichnet durch einen RF oder EDB in den umbilikalischen Arterien, führt zu fetaler Hypoxie, Azidose und einem merklichen Anstieg der perinatalen Mortalität und Morbidität, dies wurde bereits durch mehrere Studien nachgewiesen [69]. Dementsprechend zeigte die Analyse der **kindlichen Blutparameter** bezüglich des pH-Wertes im Vergleich der EDB-Gruppe mit K1-Gruppe der einen signifikant niedrigeren arteriellen und venösen pH, vereinbar mit einer im Vergleich zum Normalkollektiv deutlichen Ansäuerung des Blutes, entsprechend einer Azidose des Feten in der EDB-Gruppe. Jedoch ließ sich diese Beziehung nicht für die untersuchte Gruppe mit einem Reverse Flow nachweisen.

Als weiteren auffälligen Wert fanden sich in der EDB-Gruppe am 2. Tag bezogen auf die K1-Gruppe signifikant niedrigere Normoblastenwerte. Einzelnen gesehen können diese Veränderungen hinweisen auf eine chronische Hypoxämie des Feten, da Normoblasten, also kernhaltige unreife Vorstufen der Erythrozytopoese, im peripheren Blut als Ausdruck einer deutlichen Stimulation der Blutbildung gelten. Insgesamt lässt sich jedoch kein eindeutiger / signifikanter Nachweis einer bestehenden Verbindung der untersuchten Werte mit einem pathologischen Flußprofil nachweisen, da man nicht von einem einzelnen signifikanten Unterschied an einem einzelnen Tag auf einen gesamten vorherigen bzw. nachfolgenden Verlauf schließen kann.

Die weiteren untersuchten Parameter zeigten zwar bezüglich einzelner Werte signifikante Unterschiede, jedoch waren diese jeweils nur für einen oder zwei einzelne Tage zu finden. Ein über den gesamten Verlauf nachweisbarer Unterschied zwischen den Gruppen mit pathologischem Dopplerbefund und den Kontrollgruppen ließ sich nicht nachweisen.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Plazentaschnitte auf verschiedene immunhistochemische Parameter hin untersucht. Die Funktion bzw. die Differenzierung der Plazenta basiert auf einem durch diverse Mediatoren regulierten Gleichgewicht zwischen Zellproliferation und absterbenden Zellen. Ein wichtiger Parameter dieses Gleichgewichts ist die Apoptose.

Unter **Apoptose** versteht man den programmierten Selbsttod einzelner Zellen in einem Gewebe, der – im Gegensatz zur Nekrose - das Ergebnis eines physiologischen zelleigenen Selbstzerstörungsprozesses ist. Der Name Apoptose leitet sich aus dem Griechischen ab und bedeutet "abfallen": Wie die dünnen Blätter von einem Baum abfallen, mal hier – mal dort, so spielt sich die Apoptose nie in größeren Zellverbänden ab, sondern nur an einzelnen Zellen. In den untersuchten gefärbten Proben fanden sich dementsprechend auch vornehmlich einzelne apoptotische Zellen, seltener Zellverbände. Ein wichtiges Zeichen ist, dass Apoptose ohne Aktivierung des Immunsystems oder eine generalisierte Entzündungsreaktion abläuft [40, 136].

Apoptose ist charakterisiert durch zelluläre Vorgänge, die Kondensation des Zellkernes, Fragmentation und Zellschrumpfung in einzelnen Zellen eines Gewebes beinhalten. Die Apoptose ist ein fundamentales biologisches Phänomen, das in mannigfaltigen physiologischen und pathologischen Situationen vorkommt und der physiologischen Gewebsmauserung dient. Es finden sich diverse Faktoren / Mediatoren, die einerseits die Apoptose hemmen, andererseits die Apoptose fördern können. Apoptose ist ein wichtiger Regulator des Organs, so dass sich eine Homöostase zwischen Wachstum und Remodellierung ausbilden kann. Apoptose kann bei schlechter Plazentabildung und Ischämie durch Steigerung des plazentaren Austauschs versuchen, dies Missverhältnis zu kompensieren [123, 131].

In normalem Plazentagewebe nimmt die Zahl apoptotischer Zellen mit dem Fortschreiten der Schwangerschaft ab [106, 107, 145]. Apoptotische Zellen finden sich im Plazentagewebe vornehmlich in Zytotrophoblasten der Zotten und im Stroma [44].

Diese Studie sollte untersuchen, ob sich ein Zusammenhang zwischen pathologischen Dopplerformen und einer Veränderung der Apoptoserate belegen lassen. Gestützt auf die Studie von Kingdom et al. [69] wäre bei den untersuchten

Pathologien eine deutlich erhöhte Anzahl an apoptotischen Throphoblastzellen zu erwarten gewesen [69]. Die Studie von Endo et al. untersuchte Plazentagewebe einer IUGR ohne Begleiterkrankung der Mutter und fanden ebenfalls eine signifikant erhöhte Apoptose bei IUGR im Vergleich zu normalen Schwangerschaften [29]. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch weitere Studien [47, 59, 123], hier ließ sich bei Schwangerschaften mit intrauteriner Wachstumsretardierung bzw. Präeklampsie ebenfalls eine erhöhte Apoptoserate nachweisen. Jedoch fanden sich in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Apoptoserate in der Plazenta bei im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollgruppen. Bei höherer Anzahl der untersuchten Proben sowie anderer Nachweisteknik hätten sich in dieser Studie evtl. eindeutigere Befunde erheben lassen. Dies hätte jedoch den Rahmen dieser weitgefassten Arbeit überschritten.

Mib-1 stellt das Epitop, also die antigene Determinante des Ki-67-Gens dar. Da sich das Ki-67-Antigen nur in proliferierenden Zellen nachweisen lässt, d. h. nicht in Zellen, die sich in der Ruhephase befinden [38, 58], kann dieses Antigen als Marker der endothelialen Zellproliferation eines Gewebes genutzt werden [66]. Der Mib-1-Antikörper kann somit die Aktivität der endothelialen Proliferation darstellen, indem er sich an Cyclin und proliferierende Zellkerne in sich teilenden Zellen bindet und mittels Färbung sichtbar gemacht wird [58]. Übertragen auf diese Studie werden als proliferierende Zellen somit Zytotrophoblastenzellkerne angefärbt, Synzytiotrophoblastenzellkerne als nicht proliferierende Zellen werden nicht angefärbt [10, 20, 83]. Der Mib-1-Antikörper wird als einer der besten proliferativen Marker bei der Analyse von formalin-fixierten Geweben, im Vergleich zu anderen proliferativen Markern mit immunhistochemischer Färbung, welche monoklonale Ki-67-Antikörper nutzen [35, 103], angesehen.

Die Studie von Salmi et al. wies in Plazentagewebe von zeitgerechten Geburten fast keine Ki-67-positiven Zellkerne mehr nach [111].

Andere Studien zeigen, dass die Anzahl der proliferierenden endothelialen Zellkerne mit zunehmendem Perfusionsdruck ansteigt. Ein steigender intravaskulärer Blutdruck ist ein wichtiger das Wachstum neuer Gefäße stimulierender Faktor [58]. Daraus ergab sich für diese Studie die These, dass

sich bei pathologischen Dopplerbefunden eine Korrelation zwischen intrauteriner Wachstumsretardierung IUGR und Ki67 findet. Lässt sich ein Unterschied zwischen der EDB- bzw. RF-Gruppe im Vergleich zu den Kontrollen finden, unter der Annahme, dass pathologische Dopplerbefunde mit einer Minderperfusion und somit einem verminderten Nachweis von Mib-1 einhergehen?

Diese These wird u. a. unterstützt durch die Gruppe um Karimu und Burton [83], diese wiesen eine reduzierte Anzahl an gefärbten Zytotrophoblastzellkernen bei intrauteriner Wachstumsretardierung nach. Die Zytotrophoblasten proliferieren und formen die Synzytiotrophoblastenschicht, bei jedoch gestörtem Differenzierungsprozess. Dies wurde aus der Tatsache gefolgert, dass eine reduzierte Anzahl an proliferierenden Zytotrophoblasten und eine vermehrte Anzahl an Synzytiotrophoblasten bei IUGR pro Zotte nachgewiesen wurden.

Die Analyse der Untersuchungsergebnisse ergab jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede. Entgegen der Erwartungen zeigte sich in der RF-Gruppe sogar der höchste Immunreactivityscore, die EDB-Gruppe wies den dritthöchsten Wert auf.

Unterstützt werden diese Ergebnisse jedoch durch die Studie von Jeschke et al., diese untersuchte Plazentagewebe von IUGR, Präeklamsie und HELLP-Syndrom im Vergleich zu einem Normalkollektiv und fand in Zytotrophoblastenzellen einer IUGR keine signifikanten Unterschiede in der Expression von Ki-67 [57].

Als weiteren Parameter wurden die Schnitte auf die Expression bzw. Verteilung des den programmierten Zelltod unterdrückenden und das Zellüberleben begünstigenden Protoonkogens **Bcl-2** untersucht [52, 80] – den Gegenspieler der Apoptose. Dieser kann die ablaufende Kaskade der Apoptose blockieren oder zumindest verlangsamen [54].

Bcl-2 wird physiologischer Weise im Plazentagewebe exprimiert [68, 88, 107] und ist an Vorgängen die Tumorgenese und die Apoptosehemmung betreffend, beteiligt. Bcl-2 wurde in diversen Studien vornehmlich in Synzytiotrophoblasten der Chorionzotten immunlokalisiert [145] und scheint vom ersten bis durch das dritte Trimester der Schwangerschaft zu persistieren [108]. Die proliferative Aktivität der Trophoblastenzellen nimmt jedoch in der späten SS ab, wenn Synzytiotrophoblasten gegenüber der Population der Trophoblasten in der Plazenta überwiegen [107].

In der normalen Entwicklung findet sich in unreifen Geweben eine hohe Expression von Bcl-2, in der späteren Differenzierung sinkt diese dann ab [54]. Ein hoher Level an Bcl-2-Protein in Synzytiotrophoblasten in der späten SS verhindert / verlangsamt den Tod enddifferenzierter Zellen. Das bedeutet, dass das Leben der Trophoblasten verlängert und die Plazentafunktion aufrechterhalten werden kann, obwohl die proliferative Aktivität der Trophoblasten abnimmt [107]. Daraus abgeleitet stellte sich bei Planung der Arbeit die Frage, ob eine Korrelation zwischen pathologischen Dopplerformen und entsprechend schwächerer Exposition von Bcl-2 zu finden ist. Die Literatur beschreibt eine Korrelation der Bcl-2-Expression bezüglich des Differenzierungsgrades der Plazenta mit fortschreitender Schwangerschaftsdauer.

Die Studie von Karowicz-Bilinska et al. beschreibt eine höhere Apoptose in Trophoblasten bei IUGR als in normalen Schwangerschaften, gleichzeitig fand sich eine erniedrigte Bcl-2-Expression [59].

Bei im Durchschnitt gleichem Schwangerschaftsalter zeigten sich jedoch bei der Analyse der Ergebnisse der vier Kategorien in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten Unterschiede.

Die Auswertung ergab jedoch in Übereinstimmung zu anderen Untersuchungen [4, 75, 100, 144] eine Bcl-2-Immunoreaktivität im Zytoplasma der Synzytiotrophoblasten bei fehlender Immunreaktivität im Mesenchym, den Deziduazellen sowie den extravillösen Zytotrophoblasten. Die von Lea et al. dokumentierte Studie berichtet, dass bei einem Vergleich von spontanen Fehlgeburten und iatrogen beendeten Geburten bei allen spontanen Fehlgeburten eine geringere Immunfärbung der Synzytiotrophoblasten nachzuweisen war [75]. Dies würde die Annahme, dass bei IUGR ebenfalls eine geringere Bcl-2-Aktivität zu erwarten ist, unterstützen.

Entdeckt wurde der **Tumornekrosefaktor TNF- α** aufgrund seiner zytotoxischen Aktivität gegen Tumorzellen [16], inzwischen belegen jedoch verschiedenste Studien, dass TNF- α ein weitaus breiteres Spektrum biologischer Funktionen hat und z. B. an der Zellproliferation und –differenzierung sowie bei Entzündungen und an verschiedenen immunologischen Funktionen beteiligt ist [7, 8]. Man findet eine erhöhte TNF- α -Konzentration regelhaft an Orten entzündlichen Geschehens

im Sinne einer natürlichen Immunantwort auf physiologische Reize. TNF- α (Kachektin) wird hauptsächlich durch Lipopolysaccharide in der Membran gramnegativer Bakterien zur TNF-Expression stimuliert, es finden sich jedoch auch diverse andere Erreger wie Pilze, Mykoplasmen, Viren und physikalische Faktoren (ionisierende Strahlung, Sauerstoffradikale, Hitze) als Auslöser einer TNF-Expression [135]. TNF stimuliert zusätzlich die Proliferation von Fibroblasten und induziert bei diesen die Produktion von PGE₂ und Kollagenase sowie die Expression von HLA-A- und -B-Antigenen [24, 27, 139]. Außerdem übt er verschiedene Wirkungen bei der Reaktion des Organismus auf Tumoren aus, speziell in Bezug auf Vaskularisation und Nekroseinduzierung von Tumorgewebe. Obwohl TNF- α die Endothelzellproliferation *in vitro* paradoxer Weise hemmt, scheint er ein potenter angiogener Faktor *in vivo* zu sein. Es ist möglich, dass der angiogene Effekt von TNF- α durch die Verstärkung der Leukozytenextravasation bedingt ist und somit den Leukozyten medierten Endothelzelltod vermittelt. TNF weist ein breites Spektrum mit unterschiedlichsten Wirkungen auf eine Vielzahl verschiedener Gewebe- und Zelltypen auf, wie *in vivo* als auch *in vitro*-Experimenten demonstriert wurde [112]. Bei Endothelzellen induziert TNF die Expression von Adhäsionsmolekülen und von HLA-A- und -B-Antigenen [17, 24, 91].

Als zelluläre Reaktion lässt sich eine Aktivierung von T-Lymphozyten, Makrophagen und Endothelzellen sowie die Vermittlung der Interaktion zwischen T- und B-Zellen nachweisen [3, 13, 42, 85, 194, 115].

Eine Expression von TNF-Rezeptoren in fetalen endothelialen Zellen und einzelnen Stromazellen der Plazentazotten findet sich vom 2. Trimester an bis zum Zeitpunkt der Entbindung. Im ersten Trimester wird der TNF-I-Rezeptor in Stromazellen, Endothelzellen, Zytotrophoblasten und Synzytiotrophoblasten exprimiert, während der TNF-II-Rezeptor im ersten Trimester ausschließlich in den Synzytiotrophoblasten exprimiert wird [129].

Die Anpassung der uterinen Perfusion bei steigendem Blutvolumen im Laufe der Schwangerschaft wird beeinflusst durch die Invasion von extravillösen Trophoblasten während des ersten Trimesters. Dieser Invasionsprozeß hängt ab von der Interaktion zwischen invadierenden Zellen und verschiedensten Gewebekomponenten des Plazentabettes [95]. Veränderungen im regelrechten Ablauf der Signalkette dieser Zellen können verantwortlich sein für eine abnormale

Invasion der Trophoblasten und somit zu einer mangelhaften physiologischen Anpassung an die Schwangerschaft führen. In immunhistochemischen Studien wurde eine Beteiligung des TNF- α an der Trophoblasteninvasion nachgewiesen [95].

In verschiedenen Studien wird die These gestützt, dass uteroplazentare Makrophagen unter bestimmten Voraussetzungen überaktiviert werden können, was dann zu diversen Schwangerschaftskomplikationen führen kann. Die erhöhte Serumkonzentration an TNF- α kann Schaden an der Endothelmembran der Blutgefäße verursachen, dieses Phänomen wird z. B. verantwortlich gemacht für viele Symptome der Präeklampsie. Hingegen fand die Studie von Molvarec et al. bei Präeklampsie und HELLP-Syndrom im Blut der Mütter keine signifikante Änderung der TNF- α in der PCR [87].

Diesen Überlegungen folgend wäre eine erhöhte Expression von TNF- α bei abnormalen Schwangerschaftsverläufen, also im Rahmen dieser Studie bei pathologischen Dopplerformen zu erwarten. Jedoch ließ sich dies anhand der Ergebnisse dieser Arbeit nicht belegen - es zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

Die Expression der Wachstumsfaktoren **IGF-1** und IGF-2 wurde in mehreren Studien im menschlichen Endometrium während des Menstruationszyklus nachgewiesen [43, 70, 78]. Dabei wird IGF-1 hauptsächlich in der basalen Schicht exprimiert, welche der Seite der Trophoblasteninvasion in das maternale Stroma entspricht [122]. Die biologischen Effekte von IGF, sowohl autokrin als auch parakrin wirksam, werden primär mediiert über Bindung des Liganden an den IGF-I-Rezeptor.

Aus diversen Studien geht hervor, dass IGF in den Zytotrophoblasten synthetisiert und danach im Synzytium im Komplex mit IGFBPs gespeichert wird [14, 49, 132], deshalb lässt sich IGF in immunhistochemischen Färbungen besonders in den Synzytiotrophoblasten nachweisen [31], hinweisend darauf, dass IGF-I ein Stellenwert in der Regulation der plazentaren Funktionen über autokrine Wege zuzuschreiben ist. Studien belegen, dass IGF-1-Rezeptoren in sehr frühem Plazentagewebe (4-5 Wochen) vornehmlich in den Zytotrophoblasten lokalisiert sind. Wohingegen in frühem Plazentagewebe (6-11 Wochen) sie sowohl in Zyto-

als auch Synzytiotrophoblasten zu finden sind. IGF-1 steigert die Zytotrophoblastproliferation in Kulturen von sehr frühem (4-5 Wochen) Plazentagewebe [122]. Der IGF-I-Rezeptor wird vornehmlich auf der maternalen Seite, weniger auf der fetalen Seite der Mikrozottenmembran der Synzytiotrophoblasten exprimiert [31, 53, 55].

Fetale Wachstumsretardierung geht einher mit einer fehlerhaften intravaskulären Invasion der Trophoblasten und einer inadäquaten Transformation der Spiralarterien in uteroplazentare Gefäße. Diese Veränderungen werden begleitet von einer Reduktion des maternalen uteroplazentaren Blutflusses. Der bei IUGR nachgewiesene erhöhte Level der IGFBP-1 wird in der Literatur durch eine Überproduktion auf einen fortwährenden Reiz bei erniedrigtem IGF-1 erklärt [18]. IGF-I zeigt einen deutlichen Anstieg der Konzentration im dritten Trimester einer regelrechten Schwangerschaft; im Fetus ist IGF-I in verschiedenen Geweben ab der 6. SSW nachweisbar, ab der 12. SSW sowohl in Zytotrophoblasten als auch in Synzytiotrophoblasten [53, 122]. Studien belegen, dass kein Zusammenhang zwischen maternaler IGF-I-Serumkonzentration und Geburtsgewicht bei normalen Schwangerschaften besteht, jedoch zeigen mannigfaltige Studien auf der anderen Seite eine direkte positive Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht (der korrespondierenden Perzentile) und steigendem mütterlichen IGF-I-Spiegel. Der maternale Level des IGFBP-1 (insulin-like growth factor binding proteins) korreliert jedoch negativ. Bei intrauteriner Wachstumsretardierung zeigte sich im Vergleich zum Normalkollektiv eine signifikant niedrigere fetale IGF-I-Konzentration als Folge einer plazentaren Dysfunktion [53, 125, 143]. Somit ergibt sich im Umkehrschluß, dass eine verminderte Bindungsmöglichkeit von IGF-I an seinen plazentaren Rezeptor eine fetale Wachstumsretardierung, besonders eine beruhend auf vermindertem uteroplazentarem Blutfluss, zur Folge haben kann – mit ggfs. der Möglichkeit einer endokrinen Therapie [18, 53, 55].

Eine neuere Studie aus dem Jahr 2008 von Ozkan et al. belegte jedoch im Gegensatz dazu bei Fällen einer IUGR eine signifikant höhere Immunreaktivität von IGF-I in Zytotrophoblasten und Synzytiotrophoblasten von Chorionzotten. Die erhöhte Expression von IGF-I wurde als Versuch gewertet, durch autokrine und / oder parakrine Mechanismen die beeinträchtigte Trophoblastenproliferation, die Migration und den Metabolismus wiederherzustellen [92].

Bei uneinheitlichen Ergebnissen der vorangegangenen Studien unterstützen die Ergebnisse dieser Arbeit jedoch keine dieser Studien, es ergab sich kein positiver bzw. negativer signifikanter Zusammenhang. Es fanden sich zwar bei der Gruppe, welche einen reverse Flow aufwies, die höchsten Werte des IRS-Scores sowie des prozentualen Anteils gefärbter Zellen, die Gruppe mit enddiastolischem Block wies hingegen das zweitniedrigste Ergebnis auf.

VEGF kann sowohl die Proliferation und Migration von Endothelzellen initiieren [32] als auch die Kapillarpermeabilität steigern [117] und gehört zu den Plättchenfaktoren (platelet derived growth factor family). VEGF gilt als der selektivste endothelstimulierende Faktor, welcher auf Endothelzellen direkt mitogen, tubusbildend und Gefäßpermeabilität fördernd wirkt [12, 62, 65, 93], dabei ist er sowohl für die physiologische als auch die pathologische Angiogenese entscheidend [30] und gilt während der Embryonalzeit als der wichtigste Angiogenesefaktor [98], VEGF selbst wird jedoch durch wiederum eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren und inflammatorischen Zytokinen gesteuert [15, 127, 128]. Die Angiogenese führt in regulärem Gewebe durch Proliferation von bereits bestehendem Endothel zur Bildung neuer Blutgefäße, sie ist entscheidend für die regelrechte Organentwicklung. VEGF spielt eine wichtige Rolle bei der Proliferationsregulation von Endothelzellen sowie dem zellulären Transport von Blutglukose [124]. Vielfältige Studien belegen eine erhöhte VEGF-Expression in Trophoblasten unter hypoxischen Bedingungen, sowohl in vitro als auch in vivo [9, 96, 97, 119, 120, 121]. Neben der Induktion der Proliferation bzw. Migration von Endothelzellen und der Stimulation der Vaskulogenese, Angiogenese und Arteriogenese ist VEGF an der Regulation des Gefäßtonus über die Freisetzung von NO beteiligt. VEGF wird in Plazentagewebe und fetalen Membranen exprimiert, die Expression steigert sich mit fortschreitendem Schwangerschaftsalter. Das VEGF-Protein findet sich in der humanen Plazenta in den Zytotrophoblasten während des ersten Trimesters und in Synzytiotrophoblasten während der restlichen Zeit der Schwangerschaft [118]. Im Verlauf einer gesunden Schwangerschaft nimmt die VEGF-Expression der Trophoblasten stetig zu [21]. In diversen Studien [119] zeigte sich eine erhöhte VEGF-Expression in Trophoblasten unter hypoxischen Verhältnissen. Dies wird

auch durch die Studie zur Präeklampsie aus dem Jahr 2008 von Munaut et al. [89], dort fand sich unter Hypoxie ebenfalls eine höhere Expression von VEGF in villösen Trophoblasten. Andere Studien fanden bei der Präeklampsie eine verminderte Expression von VEGF in Trophoblasten. Dies führten sie auf eine Reduktion bzw. Störung der Differenzierung der terminalen Zotten und eine reduzierte fetale Gefäßfülle zurück [25]. Die meisten Studien belegen jedoch eine vermehrte Expression von VEGF bei Präeklampsie sowie intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR) [48, 73].

Die Gruppe um Kumazaki et al. fand in ihrer Studie analog zu den obigen Überlegungen in Zotten mit charakteristischen Hypoxieveränderungen, einschließlich vermehrten Synzytialknoten, Hyperkapillarisation oder Infarzierungen, eine verstärkte Immunfärbung für VEGF [72]. Auch neuere Studien aus 2009 weisen VEGF eine entscheidende Rolle im Prozess der Ausbildung der Spiralarterien in einer normalen Schwangerschaft nach. Hier zeigte sich eine erhöhte Färbeintensität des intramuralen VEGF-C, jedoch auch eine reduzierte Expression von VEGF-R1 und VEGF-R2 in interstitiellen extravillösen Trophoblastzellen mit steigendem Gestationsalter [113].

Die Studie von Lyall et al. wies im Gegensatz dazu bei Plazenten im Rahmen einer IUGR eine signifikant reduzierte Expression von VEGF in Synzytiotrophoblasten im Vergleich zu einem Normalkollektiv auf [82].

Insofern stellte sich die Frage, ob sich in dieser Studie eine Korrelation der VEGF-Expression zu pathologischen Dopplerformen nachweisen lässt, da diese eine Mangelversorgung des Feten darstellen und VEGF als angiogenetischer Faktor dieser - der Theorie nach - entgegenwirken sollte. Jedoch fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen pathologischen Dopplerformen verglichen mit den beiden Kontrollkollektiven.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde somit eine Vielzahl verschiedener Antikörper immunhistochemisch untersucht. Jede Untersuchungsreihe wurde mit Negativkontrollen (durch Ersatz der Antikörper in entsprechender Konzentration) abgeglichen, welche sämtlich negativ ausfielen. Eine tiefergreifendere, höherwertigere Untersuchung dieser Parameter etwa auf Proteinebene wäre ebenfalls ein sehr interessanter und aussagekräftigerer Ansatzpunkt gewesen, hätte jedoch die verfügbaren Kapazitäten dieser Studie überschritten.

Zu dem Thema makroskopischer und morphometrischer Plazentabefunde bei unterschiedlichem dopplersonographischen Flussprofil der Nabelschnurgefäße finden sich bereits einige Studien [45, 46, 50, 51, 141]. In der vorliegenden Arbeit wurden Plazentaendzotten in der Plazentonperipherie morphometrisch analysiert und Fälle mit einem enddiastolischen Block sowie Fälle mit einem Reverse Flow mit jeweils zwei Kontrollgruppen verglichen – eine Gruppe mit beginnend pathologischem Dopplerwert und Wachstumsretardierung, die zweite Gruppe mit unauffälligem Befund. Das Schwangerschaftsalter lag in den Gruppen um die 30. bzw. 31. SSW. Bei der Analyse wurde unter anderem besonderes Augenmerk auf das Vorkommen von sog. Sprouts gelegt, die Proliferationsknoten entsprechen und im letzten Drittel der Schwangerschaft als asphyxieassoziiert gelten. Diese Formation synzytialer Knoten dient unter anderem dazu, gealterte Zellkerne aus der Synzytiotrophoblastenschicht zu entfernen. Die Inkorporation der Trophoblastzellen in Synzytiotrophoblasten durch synzytiale Fusion ist nicht nur ein Mechanismus, der das synzytiale Wachstum betrifft, sondern auch essentiell für die kontinuierliche Regeneration des Gewebes [83]. Eine Störung dieses Systems, welches die entscheidende epitheliale Barriere zwischen mütterlichem Blut und dem Fetus darstellt, kann weitgreifende Folgen nach sich ziehen. Die Studie von Macara et al. [83] zeigte eine erhöhte Anzahl von Synzytiotrophoblasten sowie eine reduzierte Anzahl von Zytotrophoblasten bei intrauteriner Wachstumsretardierung. Das Ergebnis dieser Arbeit unterstützt dieses Ergebnis. Es fand sich eine signifikant höhere Anzahl an Sprouts sowie eine signifikant höhere Sproutfläche pro Zotte in der RF-Gruppe sowie der EDB-Gruppe bezogen auf Feten ohne pathologischen Dopplerbefund. Aus diesem Befund lässt sich folgern, dass ein hochpathologischer Doppler-Befund und damit eine Minderversorgung des Feten mit einer vermehrten Aussprossung und Proliferation von Sprouts korreliert, welches in Arbeiten anderer Autoren ebenfalls festgestellt wurde. Des weiteren zeigte sich eine signifikant höhere Anzahl an Sprouts sowie eine signifikant höhere Sproutfläche pro Zotte in der RF-Gruppe sowie der EDB-Gruppe bezogen auf Feten mit einem beginnend pathologischen Dopplerbefund sowie Zeichen der Wachstumsretardierung. Dieses Ergebnis zeigt eine Korrelation auf: Bei gering pathologischem Dopplerbefund finden sich weniger asphyxiebedingte Plazentaveränderungen als bei stark pathologischem Befund.

Die morphometrischen Befunde der Arbeit zeigen zudem eine Verminderung der mittleren Fläche eines Zottengefäßes sowie der Summe der Gefäßflächen pro Zotte bei den Fällen mit einem Reverse Flow in den fetalen Gefäßen im Vergleich zu den Feten der Kontrollgruppe K2 mit einem beginnend pathologischen Doppler-Flow-Befund in vergleichbarem Schwangerschaftsalter. Diese Werte sind unter dem Aspekt vereinbar, dass bei pathologischen Dopplerformen und damit verbundener Minderversorgung der Peripherie begleitende Gefäßobliterationen kleiner Gefäße auftreten können [83, 84, 86] und so in der Summe zu einer Verminderung der Zottengefäßfläche führen können [33, 41]. Diese Ergebnisse werden unterstützt durch die Studie von Kuzmina et al. [74], diese verglich pathologische Dopplerbefunde in der uterinen, plazentaren und umbilikalen Zirkulation von Schwangerschaften der 32.-34. SSW mit Schwangerschaften mit normalem Dopplerbefund. Als Ergebnis fand sich konkordant mit unseren Ergebnissen bei der Gruppe mit pathologischem Dopplerbefund eine verminderte Fläche der Zottengefäße sowie ein reduziertes Kapillarnetz, entsprechend einer geringeren Summe der Gefäßflächen. Diese Veränderungen wurden bei Kuzmina et al. begleitet von vermehrten Infarzierungen. Auch die Studie von Jackson et al. kam zu einem entsprechendem Resultat: Sie fanden bei pathologischem Flussprofil eine Reduktion des Volumens und des Umfangs der Zottengefäße, jedoch nicht eine Reduktion der Anzahl der Gefäße selbst [56].

Die Plazenta ist das zentrale Organ fetomaternal und spielt die entscheidende Rolle in der Ernährung und dem Gasaustausch während der fetalen Entwicklung. Die Austauschfähigkeit der Plazenta ist bei der RF- und EDB-Gruppe aufgrund der verminderten Vaskularisation der Endzotten beeinträchtigt, infolge einer Perfusionsstörung innerhalb der Plazenta mit folgender Störung der Austauschfähigkeit [46]. Kaufmann und Reister [61] formen in diesem Zusammenhang den Ausdruck der "postplazentaren Hypoxie". Sie beschreiben, dass der bestehend erhöhte uteroplazentare Widerstand reaktiv einen mütterlichen Blutdruckanstieg bewirkt. Die Zottengefäße werden zeitweilig komprimiert und die Angiogenese wird gehemmt. Die morphologischen Störungen an Plazenten von wachstumsretardierten Kindern betreffen meist die Aufzweigung und Ausprägung der fetalen Kapillaren und verschlechtern so die Austauschfläche und Durchblutung der Plazenta [41, 114, 134]. Entsprechend dieser Arbeit findet sich also eine geringere Gefäßfläche pro Zotte bei pathologischen Dopplerformen.

Macara et al. fanden in ihrer Studie ebenfalls Unterschiede in der Ultrastruktur der terminalen Zotten bei IUGR-Schwangerschaften: Der Zottendurchmesser war reduziert einhergehend mit einer Abnahme der Anzahl der Zotten pro untersuchtem Plazentaabschnitt [83].

Zusammenfassend stützt diese Arbeit die Annahme, dass eine ungenügende Ausbildung der Plazentaarchitektur durch mangelhafte Trophoblastinvasion und daraus resultierender verminderter Austauschfähigkeit der Plazenta, ursächlich ist für die Entstehung pathologischer Dopplerflussverhältnisse im uteroplazentaren Kreislauf, mit den Auswirkungen einer Minderversorgung plazentar und den Zeichen einer Wachstumsretardierung des Feten. Die verminderte Austauschfähigkeit der Plazenta basiert auf einer Reduktion der Fläche sowie der Anzahl peripherer Zottengefäße (d. h. einer verminderten Vaskularisation durch mangelhafte Entwicklung der kleinen Zottengefäße) der Plazentazotten. Die pathologisch veränderte Struktur der Plazenta, welche eine normale Perfusion nicht mehr ermöglicht, führt zu einem erhöhten Gefäßwiderstand der Arteria umbilicalis und der fetalen Aorta descendens. Als Zeichen der fetalen Dekompensation sind hochpathologische Flussmuster, wie der EDB oder der RF, zu werten.

Eine mangelhafte Trophoblastinvasion kann jedoch nicht als alleinige Ursache dieser weitgreifenden Veränderungen angesehen werden; das Entstehen pathologischer Dopplerformen basiert auf einem Zusammenspiel verschiedenster Faktoren.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] ARABIN B., HANSMANN M., WEITZEL H.:
Zerebrales Flussprofil beim Fetus.
Gynäkologe. 1992; 25: 324-31
- [2] AVERSA G., PUNNONEN J., de VRIES J. E.:
The 26-kD transmembrane form of tumor necrosis factor α on activated CD4⁺ T cell clones provides a costimulatory signal for human B cell activation.
J Exp Med. 1993; 177: 1575-85
- [3] AXT R., KORDINA A. C., MEYBERG R., REITNAUER K., MINK D., SCHMIDT W.:
Immunohistochemical evaluation of apoptosis in placentae from normal and intrauterine growth-restricted pregnancies.
Clin Exp Obstet Gynecol. 1999; 26: 195-8
- [4] AXT-FLIEDNER R., FRIEDRICH M., KORDINA A. C., WASEMANN C., MINK D., REITNAUER K., SCHMIDT W.:
The immunolocalization of Bcl-2 in human term placentae.
Clin Exp Obstet Gynecol. 2001; 28: 144-7
- [5] BACIC M., EDWARDS N. A., MERRILL M. J.:
Differential expression of VEGF/VPF forms in rat tissues.
Growth Factors. 1995; 12: 11-5
- [6] BAIRD A., ANDREASON G.:
Variants of the angiogenic factor vascular endothelial cell growth factor.
Exp Opin Ther Patents. 2000; 10: 981-3
- [7] BALLOU L. R., LAULEDERKIND S. J., ROSLONIEC E. F., RAGHOW R.:
Ceramide signalling and the immune response.
Biochim Biophys Acta. 1996; 1301: 273-87

- [8] BALLOU L. R.:
Sphingolipids and cell function.
Immunol Today. 1992, 13: 339-41
- [9] BANAI S., SHWEIKI D., PINSON A., CHANDRA M., LAZAROVICI G.,
KESHET E.:
Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by
myocardial ischaemia: implications for coronary angiogenesis.
Cardiovasc Res. 1994; 28: 1176-79
- [10] BENIRSCHKE K., KAUFMANN P.:
Pathology of the human placenta.
Springer, New York. 1995, 3rd Edn.
- [11] BEUTLER B., GREENWALD D., HULMES J. D., CHANG M., PAN Y. C.,
MATHISON J., ULAVITCH R., CERAMI A.:
Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor
cachectin.
Nature. 1985; 316: 552-4
- [12] BIKFALVI A., SAUZEAU C., MOUKADIRI H., MACLOUF J., BUSO N.,
BRYCKAERT M., PLOUET J., TOBELEM G.:
Interaction of vasculotropin/vascular endothelial cell growth factor with
human umbilical vein endothelial cells: binding, internalization, degradation,
and biological effects.
J Cell Physiol. 1991; 149: 50-9
- [13] BIRKLAND T. P., SYPEK J. P., WYLER D. J.:
Soluble TNF and membrane TNF expressed on CD4⁺ T lymphocytes differ
in their ability to activate macrophage antileishmanial defense.
J Leukoc Biol. 1992; 51: 296-9

- [14] BRICE A. L., CHEETHAM J. E., BOLTON V. N., HILL N. C. W., SCHOFIELD P. N.:
Temporal changes in the expression of the insulin-like growth factor II gene associated with the tissue maturation in the human fetus.
Development. 1989; 106: 543-54
- [15] BROGI E., WU T., NAMIKI A., ISNER J. M.:
Indirect angiogenetic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only.
Circulation. 1994; 90: 649-52
- [16] CARSWELL E. A., OLD L. J., KASSEL R. L., GREEN S., FIORE N., WILLIAMSON B.:
An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors.
Proc Natl Acad Sci USA. 1975; 72: 3666-70
- [17] CAVENDER D., SAEGUSA Y., ZIFF M.:
Stimulation of endothelial cell binding of lymphocytes by human recombinant tumor necrosis factor.
J Immunol. 1987; 139: 1855-60
- [18] CHARD T.:
Insulin-like growth factors and their binding proteins in normal and abnormal human fetal growth.
Growth Regul. 1994; 4: 91-100
- [19] CHARNOCK-JONES D. S., SHARKEY A. M., RAJPUT-WILLIAMS J., BURCH D., SCHOFIELD J. P., FOUNTAIN S. A., BOOCOCK C. A., SMITH S. K.:
Identification and localization of alternately spliced mRNAs for VEGF in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines.
Biol Reprod. 1993; 48: 1120-8

- [20] CHEUNG A. N. Y., SHEN D. H., KHOO U. S., WONG L. C., NGAN H. Y. S.:
p21 expression in gestational trophoblastic disease: correlation with
clinicopathological parameters, and Ki67 and p53 gene expression.
J Clin Pathol. 1998; 51: 159-62
- [21] CHEUNG C. Y.:
Vascular endothelial growth factor: possible role in fetal development and
placental function.
J Soc Gynecol Investig. 1997; 4: 169-77
- [22] CHOUAIB S., ROBINET E., BRANELLEC D.:
Le facteur de nécrose tumoral: une cytokine pléiotropique.
Bull Cancer. 1992; 79: 935-49
- [23] CLEARY M. L., SMITH S. D., SKLAR J.:
Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2 /
immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation.
Cell. 1986; 47: 19-28
- [24] COLLINS T., LAPIERRE L. A., FIERS W., STROMINGER J. L.,
POBER J. S.:
Recombinant human tumor necrosis factor increases mRNA levels and
surface expression of HLA-A, B antigens in vascular endothelial cells and in
dermal fibroblasts in vitro.
Proc Natl Acad Sci USA. 1986; 83: 446-50
- [25] COOPER J. C., SHARKEY A. M., CHARNOCK-JONES D. S., PALMER C.
R., SMITH S.K.:
VEGF mRNA levels in placentae from pregnancies complicated by pre-
eclampsia.
Br J Obstet Gynaecol. 1996; 103: 1191-6

- [26] DAVEY D. A., MacGILLIVRAY I.:
The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy.
Am J Obstet Gynecol. 1988; 158: 892-8
- [27] DAYER J.-M., BEUTLER B., CERAMI A.:
Cachectin / tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin
E2 production by human synovial cells and dermal fibroblasts.
J Exp Med. 1985; 162: 2163-8
- [28] DIVON M. Y.:
Umbilical artery Doppler velocimetry: clinical utility in high-risk pregnancies.
Am J Obstet Gynecol. 1996; 174: 10-4
- [29] ENDO H., OKAMOTO A., YAMADA K., NIKAIDO T., TANAKA T.:
Frequent apoptosis in placental villi from pregnancies complicated with
intrauterine growth restriction and without maternal symptoms.
Int J Mol Med. 2005; 16: 79-84
- [30] ERGÜN S., FIEDLER W., KILIC N., MUKHOPADHYAY A. K.:
VEGF and its receptors in normal human testicular tissue.
Mol Cell Endocrinol. 1997; 131: 9-20
- [31] FANG J., FURESZ T. C., SMITH C. H., FANT M. E.:
IGF binding protein-1 (IGFBP-1) is preferentially associated with the fetal-
facing basal surface of the syncytiotrophoblast in the human placenta.
Growth Horm IGF Res. 1999; 9: 438-44
- [32] FERRARA N., DAVIS-SMYTH T.:
The biology of vascular endothelial growth factor.
Endocr Rev. 1997; 18: 4-25

- [33] FOK R. Y., PAVLOVA Z., BENIRSCHKE K., PAUL R. H., PLATT L. D.:
The correlation of arterial lesions with umbilical artery Doppler velocimetry
in the placentas for small-for-dates pregnancies.
Obstet Gynecol. 1990; 75: 578-83
- [34] FONATSCH C., DUCHROW M., RIEDER H., SCHLÜTER C., GERDES J.:
Assignment of the human Ki-67 gene (MK167) to 10q25-qter.
Genomics. 1991; 11: 476-7
- [35] FOX H.:
The villous cytotrophoblast as an index of placental ischaemia.
J Obstet Gynaecol Br Commonw. 1964; 71: 885-93
- [36] FRANKLIN W. A., McDONALD G. B., STEIN H. O., GATTER K. C.,
JEWELL D. P., CLARKE L. C., MASON D. Y.:
Immunohistologic demonstration of abnormal colonic crypt cell kinetics in
ulcerative colitis.
Hum Pathol. 1985; 16: 1129-32
- [37] GAVRIELI Y., SHERMAN Y., BEN-SASSON S. A.:
Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of
nuclear DNA fragmentation.
J. Cell Biol. 1992; 119: 493-501
- [38] GERDES J., LEMKE H., BAISCH H., WACKER H.-H., SCHWAB U.,
STEIN H.:
Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen
defined by the monoclonal antibody ki-67.
J Immunol. 1984; 133: 1710-5
- [39] GERDES J., SCHWAB U., LEMKE H., STEIN H.:
Production of a monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen
associated with cell proliferation.
Int J Cancer. 1983; 31: 13-20

- [40] GERSCHENSON L. E., ROTELLO R. J.:
Apoptosis: a different type of cell death.
FASEB J. 1992; 6: 2450-5
- [41] GILES W. B., TRUDINGER B. J., BAIRD P. J.:
Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance:
pathological correlation.
Br J Obstet Gynaecol. 1985; 92: 31-8
- [42] GRELL M., DOUNI E., WAJANT H., LÖHDEN M., CLAUSS M., MAXEINER
B., GEORGOPOULOS S., LESSAUER W., KOLLIAS G., PFIZENMAIER K.,
SCHEURICH P.:
The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating
ligand of the 80-kDa tumor necrosis factor receptor.
Cell. 1995; 83: 793-802
- [43] GIUDICE L. C., DSUPIN B. A., JIN I. H., VU T. H., HOFFMAN A. R.:
Differential expression of messenger ribonucleic acids encoding insulin-like
growth factors and their receptors in human uterine endometrium and
decidua.
J Clin Endocrinol Metab. 1993; 76: 1115-22
- [44] HALPERIN R., PELLER S., SANDBANK J., BUKOVSKY I.,
SCHNEIDER D.:
Expression of the p53 gene and apoptosis in gestational trophoblastic
disease.
Placenta. 2000; 21: 58-62
- [45] HE J. P., ERTAN A. K., LIMBACH H. G., SCHMIDT W.:
Perinatologische Daten bei Fällen mit einem „Reverse Flow“ in den fetalen
Gefäßen im Vergleich mit Enddiastolischem Block bzw. unauffälligem Flow.
168. Tagung der Mittelrheinischen Gesellschaft für Geburtshilfe und
Gynäkologie, Abstractband. 1996; 87-90

- [46] HE J. P., ERTAN A. K., WEICKERT U., REITNAUER K., MINK D., REMBERGER K., SCHMIDT W.:
Plazentamorphometrie: Auffälligkeiten der Endzotten bei Fällen mit einem enddiastolischen "Reverse Flow" in der Umbilikalarterie / fetalen Aorta.
Z Geburtshilfe Neonatol. 2003; 207: 173-8
- [47] HEAZELL A. E., CROCKER I. P.:
Live and let die - regulation of villous trophoblast apoptosis in normal and abnormal pregnancies.
Placenta. 2008; 29: 772-83
- [48] HELSKE S., VUORELA P., CARPEN O., HORNIG C., WEICH H., HALMESMÄKI E.:
Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies.
Mol Hum Reprod. 2001; 7: 205-10
- [49] HILL D. J., CLEMMONS D. R., RILEY S. C., BASSETT N., CHALLIS J. R. G.:
Immunohistochemical localization of Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding proteins -1, -2 and -3 in human placenta and fetal membranes.
Placenta. 1993; 14: 1-12
- [50] HITSCHOLD T., WEISS E., BECK T., BERLE P., LEHMANN S., MÜNTEFERING H.:
Gepulste Dopplersonographie der Nabelarterie und fetoplazentarer Widerstand.
Geburtshilfe Frauenheilkd. 1989; 49: 1056-62
- [51] HITSCHOLD T., WEISS E., BECK T., MÜNTEFERING H., BERLE P.:
Beeinflusst die Vaskularisation der Placenta fetalis die enddiastolischen Blutflussgeschwindigkeiten in den Nabelarterien?
Geburtshilfe Frauenheilkd. 1990; 50: 623-7

- [52] HOCKENBERY D., NUNEZ G., MILLIMAN C., SCHREIBER R. D., KORSMEYER S. J.:
Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death.
Nature. 1990; 348: 334-6
- [53] HOLMES R., PORTER H., NEWCOMB P., HOLLY J. M. P., SOOTHILL P.:
An immunohistochemical study of type I insulin-like growth factor receptors in the placentae of pregnancies with appropriately grown or growth restricted fetuses.
Placenta. 1999; 20: 325-30
- [54] HUPPERTZ B., FRANK H.-G., KAUFMANN P.:
The apoptosis cascade – morphological and immunohistochemical methods for its visualization.
Anat Embryol (Berl). 1999; 200: 1-18
- [55] IWASHITA M., KOBAYASHI M., MATSUO A., NAKAYAMA S., MIMURO T., TAKEDA Y., SUKAMOTO S.:
Feto-maternal interaction of IGF-I and its binding proteins in fetal growth.
Early Hum Dev. 1992; 29: 187-91
- [56] JACKSON M. R., WALSH A. J., MORROW R. J., MULLEN J. B. M., LYE S. J., RITCHIE J. W. K.:
Reduced placental villous tree elaboration in small-for-gestational-age pregnancies: relationship with umbilical artery Doppler waveforms.
Am J Obstet Gynecol. 1995; 172: 518-25
- [57] JESCHKE U., SCHIESSL B., MYLONAS I., KUNZE S., KUHN C., SCHULZE S., FRIESE K., MAYR D.:
Expression of the proliferation marker Ki-67 and of p53 tumor protein in trophoblastic tissue of preeclamptic, HELLP, and intrauterine growth-restricted pregnancies.
Int J Gynecol Pathol. 2006; 25: 354-60

- [58] KARIMU A. L., BURTON G. J.:
Significance of changes in fetal perfusion pressure to factors controlling angiogenesis in the human term placenta.
J Reprod Fertil. 1994; 102: 447-50
- [59] KAROWICZ-BILINSKA A., SZCZERBA A., KOWALSKA-KOPREK U., NAWROCKA-KUNECKA A.:
The evaluation of selected indices of apoptosis in placentas from pregnancies complicated by fetal growth restriction.
Ginekol Pol. 2007; 78: 521-6
- [60] KARSDORP V. H. M., VAN VUGT J. M. G., VAN GEIJN H. P., KOSTENSE P. J., ARDUINI D., MONTENEGRO N., TODROS T.:
Clinical significance of absent or reversed end diastolic velocity waveforms in umbilical artery.
Lancet. 1994; 344: 1664-8
- [61] KAUFMANN P., REISTER F.:
Die ausbleibende Trophoblastinvasion uteroplacenter Arterien – pathogenetische Grundlagen hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen.
Arch Gynecol Obstet. 1999; 263: 131-3
- [62] KECK P. J., HAUSER S. D., KRIVI G., SANZO K., WARREN T., FEDER J., CONNOLLY D. T.:
Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF.
Science. 1989; 246: 1309-12
- [63] KEHRL J. H., MILLER A., FAUCI A. S.:
Effect of tumor necrosis factor alpha on mitogen activated human B-cells.
J Exp Med. 1987; 166: 786-91

- [64] KERR J. F. R., WYLLIE A., CURRIE A. R.:
Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics.
Br J Cancer. 1972; 26: 239-57
- [65] KEVIL C. G., PAYNE D. K., MIRE E., ALEXANDER J. S. :
Vascular permeability factor / vascular endothelial cell growth factor-mediated permeability occurs through disorganization of endothelial junctional proteins.
J Biol Chem. 1998; 273: 15099-103
- [66] KEY G., BECKER M. H., BARON B., DUCHROW M., SCHLÜTER C., FLAD H. D., GERDES J.:
New Ki-67-equivalent murine monoclonal antibodies (MIB-1-3) generated against bacterially expressed parts of the Ki-67 cDNA containing three 62 base pair repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope.
Lab Invest. 1993; 68: 629-36
- [67] KEYT B., BERLEAU L. T., NGUYEN H. V., CHEN H., HEINSOHN H., VANDLEN R., FERRARA N.:
The carboxyl-terminal domain (111-165) of VEGF is critical for mitogenic potency.
J Biol Chem. 1996; 271: 7788-95
- [68] KIM C. J., CHOE Y. J., YOON B. H., KIM C. W., CHI J. G.:
Patterns of bcl-2 expression in placenta.
Pathol Res Pract. 1995; 191: 1239-44
- [69] KINGDOM J., HUPPERTZ B., SEAWARD G., KAUFMANN P.:
Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth.
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000; 92: 35-43

- [70] KO Y., CHOI I., GREEN M. L., SIMMEN F. A., SIMMEN R. C.:
Transient expression of the cytochrome P450 aromatase gene in elongating porcine blastocysts is correlated with uterine insulin-like growth factor levels during peri-implantation development.
Mol Reprod Dev. 1994; 37: 1-11
- [71] KOH E. A., ILLINGWORTH P. J., DUNCAN W. C., CRITCHLEY H. O.:
Immunolocalization of bcl-2 protein in human endometrium in the menstrual cycle and simulated early pregnancy.
Hum Reprod. 1995; 10: 1557-62
- [72] KUMAZAKI K., NAKAYAMA M., SUEHARA N., WADA Y.:
Expression of vascular endothelial growth factor, placental growth factor, and their receptors Flt-1 and KDR in human placenta under pathologic conditions.
Hum Pathol. 2002; 33: 1069-77
- [73] KUPFERMINEC M. J., DANIEL Y., ENGLENDER T., BARAM A., MANY A., JAFFA A. J., GULL I., LESSING J. B.:
Vascular endothelial growth factor is increased in patients with preeclampsia.
Am J Reprod Immunol. 1997; 38: 302-6
- [74] KUZMINA I. Y., HUBINA-VAKULIK G. I., BURTON G. J.:
Placental morphometry and Doppler flow velocimetry in cases of chronic human fetal hypoxia.
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005; 120: 139-45
- [75] LEA R. G., AL-SHAREKH N., TULPPALA M., CRITCHLEY H. O.:
The immunolocalization of bcl-2 at the maternal-fetal interface in healthy and failing pregnancies.
Hum Reprod. 1997; 12: 153-8

- [76] LEBRUN D. P., WARNKE R. A., CLEARY M. L.:
Expression of bcl-2 in fetal tissues suggest a role in morphogenesis.
Am J Pathol. 1993; 142: 743-53
- [77] LEI J., JIANG A., PEI D.:
Identification and characterization of a new spicing variant of vascular endothelial growth factor: VEGF-183.
Biochim Biophys Acta. 1998; 1433: 400-6
- [78] LIU X., YAO D. L., BONDY C. A., BRENNER M., HUDSON L. D., ZHOU J., WEBSTER H. D.:
Astrocytes express insulin-like growth factor-I (IGF-I) and its binding protein, IGFBP-2, during demyelination induced by experimental autoimmune encephalomyelitis.
Mol Cell Neurosci. 1994; 5: 418-30
- [79] LOTEM J., SACHS L.:
Regulation of bcl-2, bcl-XL and bax in the control of apoptosis by hematopoietic cytokines and dexamethasone.
Cell Growth Differ. 1995; 6: 647-53
- [80] LU Q.-L., HANBY A. M., NASSER HAJIBAGHERI M. A., GSCHMEISSNER S. E., LU P. J., TAYLOR-PAPADIMITROU J., KRAJEWSKI S., REED J. C., WRIGHT N. A.:
Bcl-2 protein localizes to the chromosomes of mitotic nuclei and is correlated with the cell cycle in cultured epithelial cell lines.
J Cell Sci. 1994; 107: 363-71
- [81] LU Q. L., POULSOM R., WONG L., HANBY A. M.:
Bcl-2 expression in adult and embryonic non-haematopoietic tissues.
J Pathol. 1993; 169: 431-7

- [82] LYALL F., YOUNG A., BOSWELL F., KINGDOM J. C., GREER I. A.:
Placental expression of vascular endothelial growth factor in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery.
Placenta. 1997; 18: 269-76
- [83] MACARA L., KINGDOM J. C., KAUFMANN P., KOHNEN G., HAIR J., MORE I. A., LYALL F., GREER I. A.:
Structural analysis of placental terminal villi from growth-restricted pregnancies with abnormal umbilical artery Doppler waveforms.
Placenta. 1996; 17: 37-48
- [84] MACARA L. M., KINGDOM J. C., KOHNEN G., BOWMAN A. W., GREER I. A., KAUFMAN P.:
Elaboration of stem villous vessels in growth restricted pregnancies with abnormal umbilical artery Doppler waveforms.
Br J Obstet Gynaecol. 1995; 102: 807-12
- [85] MACCHIA D., ALMERIGOGNA F., PARRONCHI P., RAVINA A., MAGGI E., ROMAGNANI S.:
Membrane tumour necrosis factor-alpha is involved in the polyclonal B-cell activation induced by HIV-infected T-cells.
Nature. 1993; 363: 464-6
- [86] McCOWAN L. M., MULLEN B. M., RITCHIE K.:
Umbilical artery flow velocity waveforms and the placental vascular bed.
Am J Obstet Gynecol. 1987; 157: 900-2
- [87] MOLVAREC A., JERMENDY A., NAGY B., KOVÁCS M., VÁRKONYI T., HUPUCZI P., PROHÁSZKA Z., RIGÓ J. Jr.:
Association between tumor necrosis factor (TNF)-alpha G-308A gene polymorphism and preeclampsia complicated by severe fetal growth restriction.
Clin Chim Acta. 2008; 392: 52-7

- [88] MULHAUSER J., CRESCIMANNO C., KAUFMANN P., HÖFLER H., ZACCHEO D., CASTELLUCCI M.:
Differentiation and proliferation patterns in human trophoblast revealed by c-erbB-2 oncogene product and VEGF-R.
J Histochem Cytochem. 1993; 41: 165-73
- [89] MUNAUT C., LORQUET S., PEQUEUX C., BLACHER S., BERNDT S., FRANKENNE F., FOIDART J. M.:
Hypoxia is responsible for soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) but not for soluble endoglin induction in villous trophoblast.
Hum Reprod. 2008; 23: 1407-15
- [90] OLIFF A.:
The role of tumor necrosis factor (cachectin) in cachexia.
Cell. 1988; 54: 141-2
- [91] OSBORN L., HESSION C., TIZARD R., VASSALLO C., LUHOWSKYJ S., CHI-ROSSO G., LOBB R.:
Direct expression and cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes.
Cell. 1989; 59: 1203-11
- [92] OZKAN S., VURAL B., DALCIK C., TAS A., DALCIK H.:
Placental expression of insulin-like growth factor-I, fibroblast growth factor-basic and neural cell adhesion molecule in pregnancies with small for gestational age fetuses.
J Perinatol. 2008; 28: 468-74
- [93] PEPPER M. S., FERRARA N., ORCI L., MONTESANO R.:
Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro.
Biochem Biophys Res Commun. 1992; 189: 824-31

- [94] PEREZ C., ALBERT I., DeFAY K., ZACHARIADES N., GOODING L., KRIEGLER M.:
A nonsecretable cell surface mutant of tumor necrosis factor (TNF) kills by cell-to-cell contact.
Cell. 1990; 63: 251-8
- [95] PIJNENBORG R., McLAUGHLIN P. J., VERCRUYSSSE L., HANSSENS M., JOHNSON P. M., KEITH Jr J. C., VAN ASSCHE F. A.:
Immunolocalization of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in the placental bed of normotensive and hypertensive human pregnancies.
Placenta. 1998; 19: 231-9
- [96] PLATE K. H., BREIER G., MILLAUER B., ULLRICH A., RISAU W.:
Up-regulation of vascular endothelial growth factor and its cognate receptors in a rat glioma model of tumor angiogenesis.
Cancer Res. 1993; 53: 5822-7
- [97] PLATE K. H., BREIER G., WEICH H. A., MENNEL H. D., RISAU W.:
Vascular endothelial growth factor and glioma angiogenesis: coordinate induction of VEGF receptors, distribution of VEGF protein and possible in vivo regulatory mechanisms.
Int J Cancer. 1994; 59: 520-9
- [98] PLATE K. H., WARNKE P. C.:
Vascular endothelial growth factor.
J Neurooncol. 1997; 35: 365-72
- [99] POLTORAK Z., COHEN T., SILVAN R., KANDELIS Y., SPIRA G., VLODAVSKY I., KESHET E., NEUFELD G.:
VEGF145, a secreted vascular endothelial growth factor isoform that binds to extracellular matrix.
J Biol Chem. 1997; 272: 7151-8

- [100] QIAO S., NAGASAKA T., HARADA T., NAKASHIMA N.:
p53, Bax and Bcl-2 Expression, and apoptosis in gestational trophoblast of complete hydatidiform mole.
Placenta. 1998; 19: 361-9
- [101] REMMELE W., STEGNER H. E.:
Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe.
Pathologe. 1987; 8: 138-40
- [102] ROITT I. M., BROSTOFF J., MALE D K., HARABACZ I.:
Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
Thieme, Stuttgart. 1991; 112
- [103] ROSE D. S. C., MADDOX P. H., BROWN D. C.:
Which proliferation markers for routine immunohistology? A comparison of five antibodies.
J Clin Pathol. 1994; 47: 1010-4
- [104] ROSENFELD R. G., PHAM H., COHEN P., FIELDER P., GARGOSKY S. E., MULLER H., NONOSHITA L., OH Y.:
Insulin-like growth factor binding proteins and their regulation.
Acta Paediatr Suppl. 1994; 399: 154-8
- [105] RÜHLE M., ERTAN A. K., GNIRS J., SCHMIDT W.:
Dopplersonographie in der Geburtshilfe – Beitrag zum Verständnis des „Reverse Flow“ in der Arteria umbilicalis.
Ultraschall Med. 1991; 12: 134-8
- [106] RUNIC R., LOCKWOOD C. J., LaCHAPELLE L., DIPASQUALE B., DEMOPOULOS R. I., KUMAR A., GULLER S.:
Apoptosis and Fas expression in human fetal membranes.
J Clin Endocrinol Metab. 1998; 83: 660-6

- [107] SAKURAGI N., LUO M.-L., FURUTA I., WATARI H., TSUMURA N., NISHIYA M., HIRAHATAKE K., TAKEDA N., OHKOUCHI T., ISHIKURA H., JUJIMOTO S.:
Bcl-2 expression and apoptosis in human trophoblast.
Placenta. 1997; 18: 63-74
- [108] SAKURAGI N., MATSUO H., COUKOS G. FURTH E. E., BRONNER M. P., VanARSDALE C. M., KRAJEWSKY S., REED J. C., STRAUSS J. F. 3rd.:
Differentiation-dependent expression of the BCL-2 proto-oncogene in the human trophoblast lineage.
J Soc Gynecol Investig. 1994; 1: 164-72
- [109] SALAFIA C. M.:
Placental Pathology of Fetal Growth Restriction
Clinical Obstet Gynecol. 1997; 40: 740-9
- [110] SALAFIA C. M., VINTZILEOS A. M., SILBERMAN L., BANTHAM K. F., VOGEL C. A.:
Placental pathology of idiopathic intrauterine growth retardation at term.
Am J Perinatol. 1992; 9: 179-84
- [111] SALMI A., HEIKKILÄ P., LINTULA S., RUTANEN E.-M.:
Cellular localization of c-jun messenger ribonucleic acid and protein and their relation to the proliferation marker Ki-67 in the human endometrium.
J Clin Endocrinol Metab. 1998; 83: 1788-96
- [112] SCHEURICH P., THOMA B., ÜCER U., PFIZENMAIER K.:
Immunoregulatory activity of recombinant human tumor necrosis factor (TNF)-alpha: induction of TNF-receptors on human T cells and TNF-alpha-mediated enhancement of T cell responses.
J Immunol. 1987; 138: 1787-90

- [113] SCHIESSL B., INNES B. A., BULMER J. N., OTUN H. A., CHADWICK T. J., ROBSON S. C., LASH G. E.:
Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human placental bed throughout normal human pregnancy.
Placenta. 2009; 30: 79-87
- [114] SCHLEUBNER E., SEEWALD H.-J.:
Plazenta – Physiologie und Klinik.
Shaker Verlag, Aachen. 2002
- [115] SCHMID E. F., BINDER K., GRELL M., SCHEURICH P., PFIZENMAIER K.:
Both tumor necrosis factor receptors, TNFR60 and TNFR80, are involved in signaling endothelial tissue factor expression by juxtacrine tumor necrosis factor alpha.
Blood. 1995; 86: 1836-41
- [116] SCHMIDT W., RÜHLE W., ERTAN A. K., BOOS R., GNIRS J.:
Doppler-sonographische perinatologische Daten bei Fällen mit enddiastolischem Block bzw. Reverse Flow.
Geburtshilfe Frauenheilkd. 1991; 51: 288-92
- [117] SENGER D R., GALLI S. J., DVORAK A. M., PERUZZI C. A., HARVEY V. S., DVORAK H. F.:
Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid.
Science. 1983; 219: 983-5
- [118] SHIRAISHI S., NAKAGAWA K., KINUKAWA N., NAKANO H., SUEISHI K.:
Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor in the human placenta.
Placenta. 1996; 17: 111-21

- [119] SHORE V. H., WANG T. H., WANG C. L., TORRY R. J., CAUDLE M. R., TORRY D. S.:
Vaskular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast.
Placenta. 1997; 18: 657-65
- [120] SHWEIKI D., ITIN A., SOFFER D., KESHET E.:
Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis.
Nature. 1992; 359: 843-5
- [121] SHWEIKI D., NEEMAN M., ITIN A., KESHET E.:
Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis.
Proc Natl Acad Sci USA. 1995; 92: 768-72
- [122] SLATER M., MURPHY C. R.:
Differential expression of insulin-like growth factors in the uterine epithelium and extracellular matrix during early pregnancy.
Matrix Biol. 1999; 18: 579-84
- [123] SMITH S. C., BAKER P. N., SYMONDS E. M.:
Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction.
Am J Obstet Gynecol. 1997; 177: 1395-401
- [124] SONE H., DEO B. K., KUMAGAI A. K.:
Enhancement of glucose transport by vascular endothelial growth factor in retinal endothelial cells.
Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000; 41: 1876-84
- [125] SOREM K. A., SILER-KHODR T. M.:
Placental IGF-I in severe intrauterine growth retardation.
J Matern Fetal Med. 1998; 7: 1-7

- [126] SPIES T., MORTON C. C., NEDOSPASOV S. A., FIERS W., PIOUS D., STROMINGER J. L.:
Genes for tumor necrosis factor alpha and beta are linked to the major histocompatibility complex.
Proc Natl Acad Sci USA. 1975; 83: 8699-702
- [127] STAVRI G. T., HONG Y., ZACHARY I. C., BREIER C., BASKERVILLE P. A., YLÄ-HERRUALA S., RISAU W., MARTIN J. F., ERUSALIMSKY J. D.:
Hypoxia and platelet-derived growth factor-BB synergistically upregulate the expression of vascular endothelial growth factor in smooth muscle cells.
FEBS Lett. 1995; 358: 311-5
- [128] STAVRI G. T., ZACHARY I. C., BASKERVILLE P. A., MARTIN J. F., ERUSALIMSKY J. D.:
Basic fibroblast growth factor upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in vascular smooth muscle cells.
Circulation. 1995; 92: 11-4
- [129] STEINBORN A., GEISSE M., KAUFMANN M.:
Expression of cytokine receptors in the placenta in term and preterm labour.
Placenta. 1998; 19: 165-70
- [130] TABIBZADEH S., ZUPI E., BABAKNIA A., LIU R., MARCONI D., ROMANINI C.:
Site and menstrual cycle-dependent expression of proteins of the tumour necrosis factor (TNF) receptor family, and BCL-2 oncoprotein and phase-specific production of TNF alpha in human endometrium.
Hum Reprod. 1995; 10: 277-86
- [131] THIET M.-P., SUWANVANICHKIJ V., HASSELBLATT K., YEH J.:
Apoptosis in human term placenta.
Gynecol Obstet Invest. 2000; 50: 88-91

- [132] THOMSEN B. M., CLAUSEN H. V., LARSEN L. G., NÜRNBERG L., OTTESEN B., THOMSEN H. K.:
Patterns in expression of insulin-like growth factor-II and of proliferative activity in the normal human first and third trimester placenta demonstrated by non-isotopic in situ hybridization and immunohistochemical staining for MIB-1.
Placenta. 1997; 18: 145-54
- [133] TISCHER E., ABRAHAM J. A., FIDDES J. C., GOSPODAROWICZ D., HARTMANN R., MITCHELL R., SILVA M.:
The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple proteins forms are encoded through alternative exon splicing.
J Biol Chem. 1991; 266: 11947-54
- [134] TODROS T., SCIARRONE A., PICCOLI E., GUIOT C., KAUFMAN P., KINGDOM J.:
Umbilical Doppler waveforms and placental villous angiogenesis in pregnancies complicated by fetal growth restriction.
Obstet Gynecol. 1999; 93: 499-503
- [135] VASSALI P.:
The pathophysiology of tumor necrosis factors.
Annu Rev Immunol. 1992 ; 10: 411-52
- [136] VAUX D. L.:
Toward an understanding of the molecular mechanisms of physiological cell death.
Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90: 786-9
- [137] VAUX D. L., CORY S., ADAMS J. M.:
Bcl-2 gene promotes hematopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells.
Nature. 1988; 335: 440-2

- [138] VERHEIJEN R., KUIJPERS H. J. H., SCHLINGEMANN R. O., BOEHMER A. L., VAN DRIEL R., BRAKENHOFF G. J., RAMAEKERS F. C.:
Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen.
I. Intracellular localization during interphase.
J Cell Sci. 1989; 92: 123-30
- [139] VILCEK J., PALOMBELLA V. J., HENDRIKSEN-DeSTEFANO D., SWENSON C., FEINMAN R., HIRAI M., TSUJIMOTO M.:
Fibroblast growth enhancing activity of tumor necrosis factor and its relationship to other polypeptide growth factors.
J Exp Med. 1986; 163: 632-43
- [140] VINCENTI V., CASSANO C., ROCCHI M., PERSICO G.:
Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to the human chromosome 6p21.3.
Circulation. 1996; 93: 1493-5
- [141] WEICKERT U., ERTAN K., REITNAUER K., REMBERGER K., HE J., SCHMIDT W.:
Plazentamorphologie und Dopplersonographie der Nabelschnurgefäße bei Frühgeborenen.
Zentralbl Gynakol. 1999; 121: 7-13
- [142] WHITTLE C., GILLESPIE K., HARRISON R., MATHIESON P. W., HARPER S. J.:
Heterogenous vascular endothelial growth factor (VEGF) isoform mRNA and receptor mRNA expression in human glomeruli, and the identification of VEGF148 mRNA, a novel truncated splice variant.
Clin Sci (Lond). 1999; 97: 303-12
- [143] WOLLMANN H. A.:
Growth hormone and growth factors during perinatal life.
Horm Res. 2000; 53: 50-4

- [144] WONG S. Y., NAGAN H. Y., CHAN C. C., CHEUNG A. N.:
Apoptosis in gestational trophoblastic disease is correlated with clinical outcome and Bcl-2 expression but not Bax expression.
Mod Pathol. 1999; 12: 1025-33
- [145] YAMADA Z., KITAGAWA M., TAKEMURA T., HIROKAWA K.:
Effect of maternal age on incidences of apoptotic and proliferative cells in trophoblasts of full-term human placenta.
Mol Hum Reprod. 2001; 7: 1179-85
- [146] ZELOP C., RICHARDSON D., HEFFNER L.:
Outcomes of severely abnormal umbilical artery Doppler velocimetry in structurally normal singleton fetuses.
Obstet Gynecol. 1996; 87: 434-8

7 DANK

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Schmidt, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Homburg/Saar, für die Überlassung der interessanten Thematik zur Bearbeitung im Rahmen dieser Studie.

Besonderen Dank richte ich an meinen Betreuer, Herrn Dr. med. Axt-Fliedner, Oberarzt der Uni-Frauenklinik Lübeck – Bereich Pränatalmedizin - , für die herzliche Betreuung, die wissenschaftliche Unterstützung und die Geduld bei der Erstellung der Arbeit.

Weiterer Dank gebührt den wissenschaftlichen Mitarbeitern des Labors der Gynäkologie sowie der Pathologie der Universitätsklinik Homburg/Saar, die mich in die verschiedenen Untersuchungstechniken und Analyseverfahren unterwiesen haben und dadurch wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zudem möchte ich Frau Dr. Reitnauer aus dem Pathologischen Institut herzlich danken, da sie mir mit viel Engagement und höchster Kompetenz bei der Auswertung der histologischen Plazentaschnitte half.

Den größten Dank richte ich an meine Familie, vornehmlich meine Eltern, die mich durch konstruktive Anregungen in vielfältiger Weise bei der Fertigstellung dieser Dissertationsschrift unterstützt haben. Ohne ihr Vertrauen und ihre immerwährende Unterstützung während des Studiums und darüber hinaus wäre dies alles nicht möglich gewesen.

8 LEBENSLAUF

Name: Andrea Demarrez

Anschrift: Stettiner Str. 22
52351 Düren

Geburtsdatum und -ort: 01. 01. 1977
Frechen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Religion: röm. katholisch

Familienstand: ledig

Eltern: Erik Demarrez, Industrieverbands-Geschäftsführer
Marga Demarrez geb. Nußbaum, Redaktionsassistentin

Schulbesuch: 1983 - 1987
Grundschule Frechen-Königsdorf
1987 - 1996
Gymnasium Rotdornweg, Frechen

Hochschulbesuch: Oktober 1996 – Oktober 2002: Universität des Saarlandes (Medizinische Fakultät Homburg/Saar)

Ärztliche Tätigkeit: 02/2003 – 08/2004: Ärztin im Praktikum, Universitätsklinikum Düsseldorf, Inst. für Diagnostische Radiologie
09/2004 – 06/2008: Assistenzärztin in der Radiologie, St. Augustinus Krankenhaus Düren-Lendersdorf
Seit 07/2008: Oberärztin in der Radiologie, St. Marien-Hospital Düren-Birkesdorf