

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
der Ludwig-Maximilians-Universität München, Großhadern

Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese

**Polymorphismen im
Leptin-, Leptinrezeptor- und PPARG2-Gen
bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Annette Lucia Wiedemann
aus
München

2011

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. B. Toth

Mitberichterstatter: PD Dr. rer. nat. Peter Neth
Prof. Dr. med. Josef Wisser

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser,
FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 30.06.2011

MEINEN ELTERN GEWIDMET

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

7

I.	<u>Einleitung</u>	10
1.1.	<u>Definitionen und Ätiologie der Krankheitsbilder</u>	10
1.1.1.	Schwangerschaftsinduzierter Hypertonus (SIH)	10
1.1.2.	Präeklampsie	11
1.1.3.	Eklampsie	11
1.1.4.	HELLP-Syndrom	12
1.2.	<u>Pathologie und klinisches Management des PIHs</u>	13
1.2.1.	Ursachen und Risikofaktoren	13
1.2.2.	Pathogenese und Pathophysiologie	14
1.2.3.	Diagnostik	15
1.2.4.	Therapie	16
1.2.5.	Prognose	17
1.3.	<u>Leptin</u>	18
1.3.1.	Definition und Physiologie	18
1.3.2.	Pathophysiologie	19
1.3.3.	Leptin und physiologische Schwangerschaften	19
1.3.4.	Leptin und hypertensive Schwangerschaftserkrankungen	20
1.4.	<u>Leptinrezeptoren (LepR)</u>	20
1.4.1.	Definition und Physiologie	20
1.4.2.	Pathophysiologie	21
1.4.3.	Leptinrezeptoren und physiologische Schwangerschaften	21
1.4.4.	Leptinrezeptoren und hypertensive Schwangerschaftserkrankungen	21
1.5.	<u>Peroxisomen-Proliferator-Aktivierter-Rezeptor Gamma (PPARγ)</u>	22
1.5.1.	Definition und Physiologie	22
1.5.2.	Pathophysiologie	22
1.5.3.	PPAR γ und physiologische Schwangerschaften	23
1.5.4.	PPAR γ und hypertensive Schwangerschaftserkrankungen	23
1.6.	<u>Aufgabenstellung</u>	24
II.	<u>Material und Methoden</u>	26
2.1.	<u>Material</u>	26
2.1.1.	Geräte und Verbrauchsmaterialien	26
2.1.2.	Chemikalien und Reagenzien	26

2.2.	Methoden	27
2.2.1.	Rekrutierung von Patientinnen und Kontrollgruppe	27
2.2.2.	Statistische Methoden	27
2.2.2.1.	Archivierung und Bearbeitung der Daten	27
2.2.2.2.	Statistische Analyse	28
2.2.3.	Genanalyse	28
2.2.3.1.	Materialgewinnung von Patientinnen und Kontrollgruppe	28
2.2.3.2.	Isolierung genomischer DNA	29
2.2.3.3.	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)	30
2.2.3.4.	Präzipitation der PCR-Produkte	32
2.2.3.5.	RFLP-Analyse	32
2.2.3.6.	Agarosegel-Elektrophorese	33
2.2.3.7.	Analyse der Fragmentmuster und Festlegung des Genotyps	34
2.2.3.8.	Statistische Analyse der experimentellen Ergebnisse	35
III.	Ergebnisse	36
3.1.	Studienpopulation	36
3.1.1.	Maternale Daten	36
3.1.2.	Fetale und kindliche Daten	39
3.2.	Genanalyse	41
3.2.1.	Häufigkeiten der Polymorphismen	41
3.2.2.	Statistische Analyse der Polymorphismen	41
3.2.3.	Korrelation zwischen Polymorphismen und klinischen Parametern	42
3.2.4.	Subgruppenanalyse	43
IV.	Diskussion	45
4.1	Studienpopulation	45
4.1.1.	Maternale Daten	45
4.1.2.	Fetale und kindliche Daten	47
4.2.	Genanalyse	47
4.2.1.	Leptin und der Tetranukleotidrepeat <i>Lep(TTTC)_n</i>	48
4.2.2.	LEPR und der Polymorphismus R223Q	49
4.2.3.	PPARG2 und der Polymorphismus P12A	50
4.3.	Zusammenhang zwischen Polymorphismen und klinischen Parametern	51
4.3.1.	<i>Lep(TTTC)_n</i>	51
4.3.2.	LEPR R223Q	52
4.3.3.	PPARG2 P12A	53
4.4.	Ausblick für Forschung und Klinik	53
V.	Zusammenfassung	55
VI.	Literaturverzeichnis	56

<u>Anhang</u>	63
a) Abbildungsverzeichnis	63
b) Tabellenverzeichnis	63
c) Tabellarische Darstellung der erhobenen Daten	64
d) Anschreiben an die Patientinnen	72
e) Aufklärung und Einverständniserklärung	73
f) Verwendete fetometrische Standard-Perzentilerverteilung	76
g) Publikationen	78
<u>Lebenslauf</u>	79
<u>Danksagung</u>	80
<u>Eidesstattliche Erklärung</u>	81

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
3`/ 5`	3` / 5` Ende der DNA-Doppelhelix
``	Sekunden
A	Einbuchstabencode für Alanin
Aa./A.	Arteriae/Arteria
ACE-Hemmer	<i>Angiotensin converting enzyme</i> -Hemmer
AG	Aktiengesellschaft
Ala	Alanin
α-Methyldopa	Alpha-Methyldopa
ANV	Akutes Nierenversagen
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
Arg	Arginin
AT1-Antagonist	Angiotensin 1-Antagonist
ATIII	Antithrombin III
AU	Abdomenumfang
AW 1 / 2	Auswaschpuffer 1 / 2
BMI	Bodymaßindex
bp	Basenpaare
BPD	Biparietaler Durchmesser
β1-Blocker	Selektiver Betablocker am β1-Rezeptor
C	Cytosin
cm	Zentimeter
cPAP	<i>Continuous positive airpressure</i>
CPR	Cardio-pulmonale Reanimation
CRP	C-Reaktives Protein
CTG	Cardiotokogramm
d	Tag
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DIC	<i>Disseminated intravasal coagulation</i> (Disseminierte intravasale Gerinnung)
dl	Deziliter
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
E	Eklampsie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EK	Erythrozytenkonzentrat
EPH	<i>Edema, Proteinuria, Hypertension</i> (Ödeme, Proteinurie, Hypertonus)
ERK	<i>Extracellular regulated Kinase</i>
et al.	<i>et alii</i>
FFP	<i>Fresh-frozen Plasma</i>
FL	Femurlänge
FOD = OFD	Fronto-okzipitaler Durchmesser
FW	Fruchtwasser
g	Gramm
g	Erdschwerebeschleunigung
G	Guanin
G/l	Giga pro Liter
Gln	Glutamin
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GOT (ASAT)	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (Aspartat-Aminotransferase)
GPT (ALAT)	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (Alanin-Aminotransferase)
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HCl	Salzsäure
HELLP = H	<i>Haemolysis, elevated liver enzymes, low platelets-Syndrome</i>

i.v.	Intravenös
IL	Interleukin
IL	Illinois (USA)
IUGR	<i>Intrauterine growth restriction</i> (Intrauterine Wachstumsretardierung)
Jak/STAT	<i>Januskinase/Signal Transducers and Activators of Transcription</i>
Jak2/IRS-2	<i>Januskinase2/insulin receptor substrate-2</i>
kb	Kilobasen
KCl	Kaliumchlorid
kD	Kilodalton
kg	Kilogramm
KGaA	Kommanditgesellschaft auf Aktien
LDH	Laktatdehydrogenase
LepR	Leptinrezeptor
LEPR	Gen des Leptinrezeptors
M	Mittelwert
m ²	Quadratmeter
MA	Massachusetts (USA)
mA	Miliampere
MAP	<i>median arterial pressure</i> (Mittlerer Arterieller Druck)
max	Maximum
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
min	Minimum
ml	Milliliter
mM	milliMol
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MTHFR	Methylentetrahydrofolatreduktase
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
n	Fallzahl
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NVK	Nabelvenenkatheter
NY	New York (USA)
OBR	<i>Obese Gene-Receptor</i> (Gen des LepR)
Ob-R(a-f)	<i>Obese Gene-Receptor</i> (Peptid des LepR) a - f (Subtypen)
OR	<i>Odds ratio</i>
ox	Oxidiert
oxLDL	Oxidiertes <i>Low-density-Lipoprotein-Cholesterin</i>
P	Präeklampsie
P	Einbuchstabencode für Prolin
p	p-Wert
p	<i>petit</i> (Kurzer Arm des Chromosoms)
PAI-1	Plasminogenaktivator-Inhibitor 1
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Polmerasekettenreaktion)
PE	Präeklampsie
pH	<i>potentia hydrogenii</i>
PIH	<i>Pregnancy induced hypertension</i> (Krankheitsgruppe bestehend aus SIH, Präeklampsie, Eklampsie und HELLP-Syndrom)
pmol	Picomol
PPAR γ	Peroxisomen-Proliferator-Aktivierter-Rezeptor gamma
PPARG2	Gen des Peroxisomen-Proliferator-Aktivierter-Rezeptors gamma2
Pro	Prolin
q	Langer Arm des Chromosoms
Q	Einbuchstabencode für Glutamin

R	Einbuchstabencode für Arginin
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
rpm	<i>rounds per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
RR	Blutdruck nach Riva Rocci
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
s	Standardabweichung
SIH = S	Schwangerschaftsinduzierter Hypertonus
SLE	Systemischer Lupus erythematoses
sol LepR	<i>soluble</i> LepR (lösliche Form des LepR)
SSPS®	<i>Statistical Package for Social Sciences</i> ®
SSW	Schwangerschaftswoche
T	Einbuchstabencode für Thymin
TAG	Triacylglycerid
TK	Thrombozytenkonzentrat
TNF α	Tumornekrosefaktor Alpha
TZD	Thiazolidindione
UK	<i>United Kingdom</i>
U/l	<i>Units</i> pro Liter
USA	<i>United States of America</i>
UV	Ultraviolettes Licht
ZNS	Zentrales Nervensystem

I. Einleitung

Hypertensive Erkrankungen stellen mit einer Inzidenz von 5-10% [1] neben hämostasiologischen Störungen (wie Thrombosen und Blutungen) eine der häufigsten Komplikationen der menschlichen Schwangerschaft dar [2, 3]. Trotz vielfältiger wissenschaftlicher Bemühung konnten die Ursachen und Risikofaktoren, die diese Erkrankungen bedingen sowie die pathophysiologischen Zusammenhänge der Entstehung dieses Symptomenkomplexes noch nicht ausreichend geklärt werden [4].

1.1. Definitionen und Ätiologie der Krankheitsbilder

Zu den hypertensiven Gestationserkrankungen werden Schwangerschaftsinduzierter Hypertonus (SIH), Präeklampsie, Eklampsie und das „*hemolysis, elevated liver enzymes, low plateletes* – Syndrom“ (HELLP-Syndrom) gezählt (im Englischen werden die vier Erkrankungen unter dem Begriff „*pregnancy induced hypertension*“ (PIH, im Weiteren als Synonym verwendet) zusammengefasst). Es handelt sich hierbei um Erkrankungen mit einer erhöhten maternalen als auch fetalen Morbidität und Mortalität [1]. Zudem ist die Präeklampsie bei etwa 15% aller Frühgeburten ausschlaggebend für die Indikationsstellung einer vorzeitigen Entbindung [5]. Die einzelnen Krankheitsbilder sind nicht als isolierte, sondern als ineinander übergehende klinische Syndrome zu betrachten.

1.1.1 Schwangerschaftsinduzierter Hypertonus (SIH)

Der SIH ist definiert als das erstmalige Auftreten eines Hypertonus während der Schwangerschaft auf oder über 140 mmHg systolisch und/oder 90 mmHg diastolisch beziehungsweise ein Anstieg der Blutdruckwerte im Vergleich zu den individuellen Ausgangswerten vor der Schwangerschaft um mehr als 30 mmHg systolisch und/oder 15 mmHg diastolisch [2, 3, 6]. Die Inzidenz des SIHs beträgt etwa 5-10% aller Schwangerschaften [1], er tritt typischerweise nach der 20. Schwangerschaftswoche (SSW) auf und hält etwa bis zur 12. postpartalen Woche an [7]. Der SIH stellt die mildeste Form des PIHs dar und manifestiert sich klinisch in Symptomen wie Kopfschmerz, Sehstörungen und Übelkeit. Auf maternale und kindliche Mortalität und Morbidität hat das Krankheitsbild keinen erheblichen Einfluss [1], es kann allerdings der Ausgangspunkt für eine multiorganische Exazerbation im Rahmen einer Präeklampsie, einer Eklampsie oder eines HELLP-Syndroms sein.

1.1.2 Präeklampsie

Die Präeklampsie (früher auch als EPH-Gestose (von *edema*, *proteinuria*, *hypertension*) bezeichnet) tritt in etwa 7% aller Schwangerschaften auf [8] und zeigt eine Varianz der Inzidenz zwischen einzelnen ethnischen Gruppierungen, wobei die afrikanische Bevölkerung im Vergleich zur kaukasischen bis zu drei Mal häufiger betroffen ist [9, 10]. Die Präeklampsie ist im Vergleich zum SIH durch das zusätzliche Auftreten einer Proteinurie ($>0,3\text{g}/24\text{h}$ oder einem mindestens einfach positiven Ergebnis im Teststreifen) mit konsekutiven Gesichts- oder Beinödemen gekennzeichnet [7]. Wie der SIH tritt die Präeklampsie typischerweise nach der 20. SSW auf und wird je nach Ausprägung in einen schweren oder leichten Verlauf beziehungsweise nach Zeitpunkt des erstmaligen Auftretens in eine frühe ($<34.$ SSW) oder späte ($>34.$ SSW) Präeklampsie eingeteilt [4]. Eine schwere Präeklampsie kann mit einer Proteinurie von >5 g/d, Blutdruckwerten von $>170/110$ mmHg, einer zusätzlichen Nierenfunktionseinschränkung (pathologische Kreatinin-Werte oder Oligurie <500 ml/d), einer Leberbeteiligung (Oberbauchschmerz, Transaminasen- und LDH-Anstieg), einem Lungenödem mit konsekutiver Zyanose, einer hämatologischen (Anämie, Thrombozytopenie, Hämolyse) oder neurologischen Störung (Kopfschmerz, Sehstörung) sowie einer fetalen Wachstumsretardierung („*intrauterine growth restriction*“, IUGR) einhergehen. Beim Fehlen der Proteinurie können die oben genannten Organmanifestationen zur Diagnosefindung herangezogen werden [11]. Eine Abgrenzung der schweren Form der Präeklampsie zum HELLP-Syndrom und der Eklampsie ist teilweise schwer zu diagnostizieren, wodurch sie auch als gleichwertige Erkrankungen angesehen werden, bei denen ein reduziertes Herzzeitvolumen und eine Verminderung der renalen Perfusion sowie der glomerulären Filtrationsrate zu den multisystemischen Symptomen der Erkrankungen führen [12] (Abbildung 1).

1.1.3 Eklampsie

Die Eklampsie tritt mit einer weltweit variierenden Inzidenz von etwa 0,2% auf, wobei eine hohe maternale und fetale Morbidität und Mortalität vor allem in Entwicklungsländern beschrieben wird [9]. Durch die Affektion neurologischer Strukturen stellt die Eklampsie die gefährlichste Komplikation der Präeklampsie dar [1]. Die Symptomatik reicht von Kopfschmerz, Nausea, Vomitus und Hyperreflexie bis hin zu tonisch-klonischen Krampfanfällen, die meist eine intensivmedizinische Behandlung der Patientin notwendig machen [4]. Pathologisch erhöhte Blutdruckwerte können lediglich in etwa 50% der

Eklampsiefälle beobachtet werden, in 14-34% tritt sie sogar ohne vorhergehende Proteinurie auf [13].

1.1.4 HELLP-Syndrom

Das HELLP-Syndrom ist definiert als ein durch die Kombination pathologischer laborchemischer Werte diagnostiziertes Krankheitsbild, das erstmalig 1982 durch Weinstein beschrieben wurde [14] und bei 0,2 – 0,8% aller Schwangerschaften auftritt [4]. Im Rahmen einer Exazerbation wird das HELLP-Syndrom bei 5-8% aller Präeklampsie-Patientinnen beobachtet [15], wobei trotz des Zusammenhangs zum SIH eine Blutdruckerhöhung nicht obligat ist [16]. In bis zu 20% der Fälle liegt keine Hypertonie und bei 5-15% keine signifikante Proteinurie vor [17]. Neben dem klinischen Frühsymptom des rechtsseitigen epigastrischen Schmerzes zeigt sich laborchemisch ein Abfall der Thrombozyten (<100.000/μl) und des Hämolyseparameters Haptoglobin, sowie ein Anstieg von Bilirubin und der Leberparameter GOT, GPT und LDH als Zeichen einer Leberparenchymschädigung auf pathologische Werte. Durch eine konsequente klinische Überwachung sollten schwerwiegende Komplikationen am vaskulären, renalen, hepatischen, zerebralen sowie hämatologischen System [18-20], wie zum Beispiel eine Leberparenchymlutung als Folge von Leberhämatomen und -rupturen, eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) und ein akutes Nierenversagen (ANV), verhindert werden [21, 22].

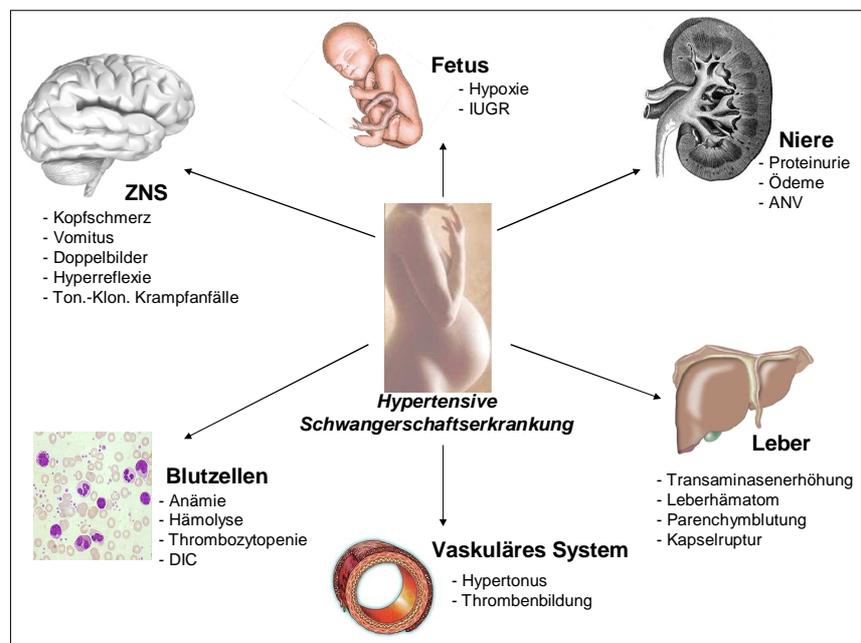


Abbildung 1: Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen als multiorganisches Geschehen. PIH sind Syndrome mit einer Beteiligung des ZNS, der Nieren, des Blut-, hepatischen und vaskulären Systems sowie der fetoplazentaren Einheit. Nur bei massiven Verläufen der Erkrankung sind alle oben genannten Organsysteme betroffen.

1.2. Pathologie und klinisches Management des PIHs

Die Pathogenese des PIHs ist bis heute nicht vollständig geklärt. Während klinische und laborchemische Parameter weitgehend erforscht sind, werden in Bezug auf Ursachenklärung und Pathophysiologie weitere Untersuchungen zum besseren Verständnis der Krankheiten durchgeführt. Im klinischen Management ist die strukturierte Diagnosefindung von großer Bedeutung, die medikamentöse Therapie oder die Entscheidung zur vorzeitigen Beendigung der Schwangerschaft sollte je nach klinischem Bild individuell und orientiert an den aktuellen Leitlinien erfolgen.

1.2.1. Ursachen und Risikofaktoren

Als Ursache eines PIHs wird eine multifaktoriell bedingte Dysregulation angesehen, wobei als Risikofaktoren mütterliche, genetische und schwangerschaftsassozierte Einflüsse eine Rolle spielen. So konnte zum Beispiel eine erhöhte Erkrankungsinzidenz bei Erstlings-, Mehrlings- und Erstschwangerschaften mit neuem Partner, sowie bei einem Geburtsintervall von >10 Jahren seit der letzten Parität als Ausdruck einer immunologischen Inkompatibilität zwischen maternalem und fetalem Gewebe beobachtet werden. Das Vorliegen eines PIHs in der Anamnese, eines präexistenten Hypertonus oder eines Diabetes mellitus, ein massives Übergewicht (BMI >35 kg/m²), eine renale oder eine Autoimmunerkrankung (wie beispielsweise das Anti-Phospholipid-Antikörper-Syndrom oder der SLE), eine hereditäre Thrombophilie und ein Alter der Schwangeren >40 Jahre scheinen die Progression der Präeklampsie zu fördern [7, 23-29].

Laborchemisch zeigt sich eine Assoziation des PIHs zu erhöhten Plasmaspiegeln von Lipiden, des Fibrinolyseinhibitor PAI-1, des Sättigungshormons Leptin und des pro-inflammatorischen Proteins TNF α [30]. Die Diagnose eines persistierenden erhöhten Gefäßwiderstandes der Aa. uterinae in der Dopplersonographie nach der 24.SSW (ein sogenanntes „bilaterales *Notching*“), das Vorliegen eines Gestationsdiabetes, eines Hydrops fetalis, einer Trisomie oder einer Blasenmole erhöht die Wahrscheinlichkeit einen PIH zu entwickeln [31].

Die Häufung von PIH bei verschiedenen ethnischen Gruppen und innerhalb von Familien legt eine Assoziation zwischen dem Erkrankungsrisiko und genetischen Veränderungen im Sinne von hereditären Polymorphismen nahe [8]. Beobachtet wurden bisher Assoziationen von erhöhten Blutdruckwerten in der Schwangerschaft zu Polymorphismen in den Genen des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems, welche eine erhöhte renale Wasser- und Salzretention beeinflussen, sowie bei genetischen Veränderungen der endothelialen Nitritoxidsynthase, die zur verminderten Produktion des Vasodilatators NO mit folglich erhöhtem Gefäßwiderstand

der Kapazitätsgefäße führen. Erhöhte Inzidenzen von Polymorphismen in den kodierenden DNA-Abschnitten für den Gerinnungsfaktor V, die Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) und die Lipoproteinlipase bedingen eine Progression der PIH-Erkrankung vermutlich durch eine plazentare und pro-koagulatorische Gefäßschädigung [32, 33].

1.2.2. Pathogenese und Pathophysiologie

Bei der multifaktoriellen Pathogenese der PIH spielen sowohl vasokonstriktorische, metabolische, endotheliale, inflammatorische als auch pro-koagulatorische Faktoren eine Rolle [5]. Bis zu 40% der betroffenen Frauen zeigen präexistente Pathologien, wie beispielsweise einen essentiellen Hypertonus, eine Nephropathie, eine endokrine Dysfunktion oder eine Gerinnungsstörung [1].

Die physiologische Plazentation stellt mit der Zytotrophoblasteninvasion in die maternalen Spiralarterien einen Prozess dar, der zu einer Dilatation der plazentaren Arterien und einer Abnahme ihres Gefäßwiderstandes führt. Dies geschieht durch einen Elastizitätsverlust der glatten Gefäßmuskulatur in den maternalen Arterien und der Entstehung von multinukleären Riesenzellen, welche zusätzlich die Vasodilatoren Kohlenmonoxid und Stickstoffmonoxid freisetzen. Die Dilatation der Kapazitätsgefäße, die zu einem verminderten oder gleichbleibenden systemischen Blutdruck führt, gilt als physiologische Anpassung des mütterlichen Organismus auf die in der Schwangerschaft auftretende Erhöhung des maternalen Blutvolumens um etwa zwei Liter. Eine konsekutive Steigerung der maternalen Herzfrequenz sichert dabei die Konstanz des Herzzeitvolumens während der Schwangerschaft [34, 35].

Beim PIH hingegen bedingt eine fehlerhafte Invasion sowohl des interstitiellen wie auch des endovaskulären Trophoblasten [36, 37] eine mangelhafte Dilatation der Spiralarterien und führt so zu einem erhöhten plazentaren Gefäßwiderstand [38, 39]. Die Folge ist eine verminderte Sauerstoffversorgung der fetoplazentaren Einheit, die über eine Ischämie oder Hypoxie zu einer immunologischen Maladaptation an der fetoplazentaren Grenzfläche [35] führt. Laborchemisch manifestiert sich dies in der Freisetzung von Sauerstoffradikalen, proinflammatorischen Zytokinen (wie IL-6 und TNF α) und gefäßschädigenden Substanzen (zum Beispiel Triglyceridsäuren, freien Fettsäuren und Cholesterin) [40] sowie klinisch in den Symptomen eines PIHs, vor allem in der systemischen Hypertonie [41].

1.2.3. Diagnostik

Da es noch keinen spezifischen Screeningparameter für die Früherkennung eines PIHs gibt [42], steht bisher nur die Risikoabschätzung durch die maternale Anamnese und die Dopplersonographie zur Verfügung. Bilaterale pathologische, dopplersonographische Befunde der Aa. uterinae (zum Beispiel sogenannte „noches“ als kurzfristige Blutflussverminderung zu Beginn der Diastole, ein reduzierter diastolischer Blutfluss oder ein „reverse flow“, also ein umgekehrter Blutfluss) weisen in 60% der Fälle auf die Entwicklung einer Präeklampsie hin. Weitere diagnostische Sicherheit erhält man durch die Kombination dieser Methode mit der Beurteilung der in der Tabelle 1 aufgeführten maternalen Risikofaktoren, die über eine spezielle Gewichtung [31] für jede Schwangere ein individuelles, relatives Gesamtrisiko aufzeigen kann [43, 44]:

Anamnestische maternale Risikofaktoren	Relatives Risiko
Anti-Phospholipid-Antikörper-Syndrom	~ 9
Zustand nach Präeklampsie	~ 7
BMI >35 kg/m ²	~ 4
Vorbestehender Diabetes mellitus	~ 3,5
Positive Familienanamnese bezüglich eines PIHs	~ 3
Vorbestehende Nierenerkrankung [45]	~ 3
Erstparität	~ 2,5
Alter >40 Jahre	~ 2
Chronische Hypertonie	erhöht
Autoimmunerkrankungen (SLE mit Nephritis)	stark erhöht
Thrombophilie [46, 47]	Datenlage unklar

Tabelle 1: Werte zur Risikoabschätzung anhand von anamnestischen maternalen Daten. Bei einer positiven Anamnese hinsichtlich mehrerer Parameter werden die Werte des relativen Risikos kombiniert betrachtet. Durch die zusätzliche Bewertung der Dopplersonographie der Aa. uterinae und der klinischen Parameter (Tabelle 2) lässt sich das individuelle Präeklampsie-Risiko abschätzen.

Die apparative Diagnostik des PIHs beinhaltet die bilaterale manuelle Blutdruckmessung nach Korotkoff mit einer eventuellen Ergänzung durch die 24h-Blutdruckmessung. Der Verlust des zirkadianen Rhythmus wird dabei als prognostisch ungünstiges Zeichen gewertet [48, 49]. Eine Eiweißausscheidung im Urin wird als Screeningmaßnahme per Schnellteststreifen diagnostiziert, wobei sich bei einem positiven Befund eine Abklärung mittels quantitativer 24h-Sammelurin-Messung anschließen sollte. Von einer signifikanten Proteinurie wird ab Werten von > 0,3 g/24h gesprochen [50]. Ödeme in der Schwangerschaft werden in Bezug auf PIH als unspezifisches Symptom angesehen und nur dann zur Diagnostik herangezogen, wenn die Wassereinlagerung mit einer Gewichtszunahme von mehr als 1kg/Woche einhergeht oder ein ausgeprägtes Gesichts- oder Lungenödem besteht. Laborchemisch sind folgende

Parameter diagnostisch bedeutend beziehungsweise als Maß der Erkrankungsausprägung und Exazerbation heranzuziehen:

Parameter	Pathologischer Wert
Thrombozyten	< 100.000/µl
GPT (ALAT)	> Normbereich
GOT (ASAT)	> Normbereich
LDH	> Normbereich
indirektes Bilirubin	>1,2 mg/dl
Harnsäure	> 5 mg/dl (ab der 32. SSW)
Kreatinin	> 0,9 mg/dl
Haptoglobin	< Normbereich
D-Dimer-Anstieg (Verdacht auf DIC)	Verlaufsbeobachtung
Fibrinogenabfall (Verdacht auf DIC)	< 150 mg/dl

Tabelle 2: Laborchemische Parameter in der Diagnostik hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen. Oben aufgeführte Laborparameter sind Richtwerte zur Verlaufskontrolle. In vielen Fällen kann eine pathologische Veränderung der Werte im Verlauf das weitere klinische Vorgehen beeinflussen [44].

Frauen mit einer leichten Form des PIHs, wie beispielsweise einem isoliertem Hypertonus oder einer leichten Form der Präeklampsie, können unter regelmäßigen Kontrollen des maternalen und fetalen Zustands (mittels CTG, Fetometrie und Dopplersonographie [44]) ambulant überwacht werden [3], bei einer Progredienz der Symptome sollten sie jedoch zur engmaschigen Kontrolle des Blutdrucks, des Körpergewichts, der Proteinurie, der neurologischen Symptomatik sowie der laborchemischen Parameter einer stationären Betreuung zugeführt werden.

1.2.4. Therapie

Studien zur Primärprävention der Präeklampsie bei Risikoschwangerschaften belegen für die Einnahme von Acetylsalicylsäure in einer Dosis von 75 – 100 mg/d ein um 19% reduziertes Risiko für das Auftreten eines PIHs und eine Reduktion der peripartalen maternalen Mortalität um 16%, wobei hierfür bisher keine Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe vorliegt [51]. Andere antioxidative Substanzen, wie zum Beispiel Vitamin C und E, zeigten bislang keine signifikante Risikoreduzierung [52, 53].

Eine antihypertensive Therapie mit dem Ziel der Prophylaxe von zerebralen Blutungen sollte im Hinblick auf fetale und maternale Nebenwirkungen erst ab einem persistierendem Hypertonus von >170 mmHg systolisch und/oder 110 mmHg diastolisch eingeleitet werden [54], da bei leicht erhöhten Blutdruckwerten keine signifikante Verbesserung der maternalen Morbidität und Mortalität belegt werden konnte [1]. Neben den Allgemeinmaßnahmen zur

Blutdruckregulierung (zum Beispiel körperliche Schonung) empfiehlt sich die medikamentöse Therapie mit α -Methyldopa, Nifedipin, selektiven β 1-Blocker oder Dihydralazin. Wegen der unklaren Datenlage bezüglich ihrer Nebenwirkungen in der Schwangerschaft und ihrer möglichen fetotoxischen Eigenschaften sollten Diuretika, ACE-Hemmer und Sartane vermieden werden [55]. Die medikamentöse Therapie sollte eine Senkung des diastolischen Blutdruckwertes unter die Grenze von 90 -105 mmHg nicht unterschreiten, um den effektiven Durchblutungsdruck für eine ausreichende fetale Blutversorgung zu gewährleisten [10]. Während der maternale Nutzen der antihypertensiven Therapie als eher niedrig eingeschätzt wird und bisweilen sogar vermehrt Komplikationen bei den betroffenen Frauen beobachtet wurden [56], zeigten sich bei den Säuglingen eine verminderte Rate an IUGR und ein höheres Geburtsgewicht [4, 57].

Da man einer medikamentösen Therapie in der Schwangerschaft generell zurückhaltend gegenübersteht, ist lediglich bei fulminanten Verläufen eines PIHs die antikonvulsive Therapie mit Magnesiumsulfat i.v. (alternativ Phenytoin) [58] und beim Vorliegen eines Lungenödems die Behandlung mit Furosemid induziert [55].

Die derzeit einzig mögliche kausale Therapie des PIHs stellt die Beendigung der Schwangerschaft dar, welche in der Regel nach Abschluss der 37. SSW induziert ist [59]. Vorzeitige Entbindungen können nach individueller Abwägung bei schweren maternalen multisystemischen Verläufen (zum Beispiel bei ANV mit einem Anstieg der Kreatinin-Werte und einer Oligurie $<0,5$ ml/kg/h, einem Lungenödem, einer DIC oder dem Auftreten von zentralnervösen Symptomen) sowie auf der fetalen Seite beim Vorliegen einer IUGR durch intrauterine Mangelversorgung oder eines pathologischen Doppler- oder CTG-Befundes mit Zeichen der fetalen Hypoxie [60] auch schon vor der 34. SSW induziert sein [4].

In der intensivmedizinischen Versorgung der Eklampsie- und HELLP-Patientinnen kann eine intravenöse Therapie mit $MgSO_4$, die Verabreichung von Transfusionen (EK, TK, ATIII und FFP) sowie eine Dialyse bei ANV nötig werden [1, 61].

1.2.5. Prognose

Die maternale Mortalität des PIHs beträgt in Abhängigkeit von der Schwere des Krankheitsbildes, der ethnischen Zugehörigkeit der Patientin und der verfügbaren medizinischen Versorgung bis zu 24% und die fetale bis zu 70% beim HELLP-Syndrom [62]. Patientinnen mit einer Präeklampsie sollten über ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko aufgeklärt werden, wie zum Beispiel eine mit 90% deutlich erhöhte Wahrscheinlichkeit für die Ausbildung eines chronischen Hypertonus [21]. Zudem haben Frauen mit einem PIH in

der Anamnese ein um 2 – 19% erhöhtes Rezidivrisiko für einen Hypertonus in Folgeschwangerschaften [63, 64]. Die familiäre Häufung hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen weist auf eine noch ungeklärte hereditäre Ursache des PIHs mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für Nachkommen hin [8].

1.3. Leptin

Dem Proteohormon Leptin wird neben seiner Funktion bei der Regulation des Sättigungsgefühls und des Fettstoffwechsels eine Rolle bei der Hämatopoese, der Angiogenese, der Wundheilung sowie der Immunantwort und Inflammation zugeschrieben.

1.3.1. Definition und Physiologie

Leptin, ein Protein das auch als „Sättigungshormon“ bezeichnet wird, ist ein von Adipozyten produziertes Eiweißmolekül mit einer Größe von 16kD, welches wichtige Funktionen in der Energiehomöostase und der Regulation der Nahrungsaufnahme inne hat [65]. Es wird in Fettgewebe, Magen, Mamma, Ovar, fetalem Gewebe und im Trophoblasten exprimiert und zirkuliert im Blut in kleinen Mengen frei, meistens jedoch proteingebunden [66, 67]. Seine Wirkung wird über verschiedene, durch das sogenannte „alternative *Splicing*“ entstandene Isoformen des Leptinrezeptors vermittelt, welche zwar aus demselben DNA-Abschnitt transkribiert werden, aber durch Verwendung unterschiedlicher Schnittstellen in der Matrize in ihrer Aminosäuresequenz gering voneinander abweichen [68, 69]. Durch den Angriffspunkt im Hypothalamus beeinflusst Leptin das Sättigungszentrum, reguliert das Hungergefühl, die Nahrungsaufnahme und erhöht den metabolischen Umsatz der peripheren Fettsäure-Synthese und der TAG-Oxidation [70, 71], was in einer alters- und geschlechtsabhängigen Korrelation des Peptids mit der absoluten Masse an Fettgewebe im Individuum steht [72, 73]. Neuere Erkenntnissen belegen zudem eine Funktion der Hormons bei der Hämatopoese, der Angiogenese, der Synthese der extrazellulären Matrix, der Blutbildung und der Wundheilung, sowie eine Regulation der T-Lymphozyten und Steigerung der TNF α -, IL-1-, IL-6- und IL-18-Produktion mit Einfluss auf das Immunsystem und die inflammatorische Antwort [70, 74-79]. So steht unter anderem das C-reaktive Peptid (CRP) mit Leptin über einen negativen Rückkoppelungsmechanismus in funktioneller Verbindung [80] und auch der Testosteronspiegel, Fasten, eine hyperthyreote Stoffwechsellage sowie Kälte haben einen verminderten Einfluss auf den Hormonspiegel im Serum. Eine hohe Zufuhr an fett- und kohlenhydratreicher Nahrung, hohe Serumspiegel von Insulin,

Glukokortikoiden, Östrogen, Progesteron und Zytokinen (IL-1, TNF α) bewirken hingegen eine verstärkte Expression des Proteins mit erhöhten Serumkonzentrationen [70, 81-83].

1.3.2. Pathophysiologie

Hyperleptinämien können sich sowohl als akute als auch als chronische Erhöhungen des Leptin-Serumspiegels äußern. Ein akuter Anstieg der Leptinkonzentration führt unter Vermittlung des sympathischen Nervensystems mit einer verstärkten Freisetzung des Vasodilatators Stickstoffmonoxid (NO) und einer verstärkten Natriurese und Wasserausscheidung zu einer konsekutiven Hypotonie. Eine chronische Hyperleptinämie hingegen verursacht einen erhöhten oxidativen Stress, eine NO-Defizienz, eine Natriumretention und eine Konzentrationserhöhung des Vasokonstriktors Endothelin im Serum mit einer darauf folgenden Erhöhung des Blutdrucks [65]. Leptin aktiviert das sympathische Nervensystem, was die Thermogenese verstärkt und die Adrenalin- und NoradrenalinKonzentrationen im Serum erhöht. Bei einer chronischen Hyperleptinämie ist so ein langsamer, aber progressiver Blutdruckanstieg unabhängig von einem vorbestehenden Hypertonus und dem zugrundeliegenden Körperfettanteil zu beobachten [71]. Die chronische Hyperleptinämie wird darüber hinaus als Faktor beschrieben, der zu einer Proteinurie führen kann [84], welche ein charakteristisches Symptom der Präeklampsie darstellt.

1.3.3. Leptin und physiologische Schwangerschaften

Studien zu geschlechtsspezifischen Unterschieden der Leptinspiegel haben gezeigt, dass im Serum von Männern signifikant niedrigere Konzentrationen des Hormons zu finden sind als bei Frauen. Daher wird vermutet, dass Leptin eine wichtige Rolle im Rahmen der weiblichen Pubertät, Fertilität und Reproduktion inne hat [73, 85]. Während der Schwangerschaft wird es im fetalen Fettgewebe und im Trophoblasten, vermutlich durch die vermehrte Bindung von Östrogen am *Östrogen-responding-Element* des Leptinpromotors, verstärkt exprimiert [70] und verursacht so einen signifikant erhöhten Leptin-Serumspiegel im Vergleich zu nicht schwangeren Frauen [70, 85]. Während die Östrogen-Konzentrationsschwankungen im Rahmen des normalen weiblichen Menstruationszyklus zu gering sind um signifikante Unterschiede des Serum-Leptinspiegels zu verursachen, vermag der starke Anstieg in der Schwangerschaft die Transkription dieses Hormons zu aktivieren [85-87]. Da zudem die Leptinkonzentration im Nabelschnurblut eine positive Korrelation mit der fetalen Gewichtszunahme, dem Geburts- und dem Plazentagewicht [88, 89] zeigt, während eine negative Beziehung zwischen maternalen Leptinspiegeln und dem Plazentagewicht besteht

[90], scheint plazentares Leptin möglicherweise einen Einfluss auf Wachstum und Entwicklung der fetoplazentaren Einheit zu haben [66].

1.3.4. Leptin und hypertensive Schwangerschaftserkrankungen

Leptin zeigt in der Schwangerschaft einen charakteristischen Verlauf der Serumkonzentration, wobei bei PIH eine Abweichung beobachtet werden konnte: erkrankte Frauen zeigen schon vor Beginn der klinischen Symptomatik [66] signifikant höhere Leptin-Serumspiegel als Schwangere mit einer normalen Gravidität [1, 91]. Es scheint, dass dieser Leptinanstieg jedoch nicht durch die Transkription in maternalen Adipozyten, sondern im plazentaren Gewebe zustande kommt [74, 92]. Klinisch zeigt die Höhe des Leptin-Serumspiegel bei PIH-Patientinnen eine positive Korrelation zu systemischen und mittleren arteriellen Blutdruckwerten [91, 93-95], wodurch das Hormon möglicherweise zusammen mit seinem Einfluss auf die IL-6- und TNF α -Sekretion [96] pathologische Mechanismen bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen mit beeinflussen kann.

1.4. Leptinrezeptoren (LepR)

Leptin vermittelt seine Wirkung über die sogenannten Leptinrezeptoren (LepR), die Produkte des *ObeseReceptor(OBR)*-Gens auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 mit dem Genlokus 1p31 sind [97]. Sie gehören der Superfamilie der Zytokinrezeptoren an [69].

1.4.1. Definition und Physiologie

Der Leptinrezeptor hat als Signaltransduktor und Transportmolekül nach seiner Bindung an Leptin eine Schlüsselfunktion in der durch das Hormon vermittelten Transkription verschiedener Gene inne. Bisher wurden fünf Isoformen mit identischen extrazellulären, aber unterschiedlichen intrazellulären Domänen beschrieben [66, 69], die durch „alternatives *Splicing*“ in verschiedenen Geweben transkribiert werden. Hierzu gehören zum Beispiel der Plexus choroideus, die Leptomeningen, der Hypophysenvorderlappen, die Mamma, das Ovar, der Uterus, die Plazenta, der Hoden und der Magen [66]. Die lösliche Form, der „*soluble LepR*“ (solLepR), nimmt in seiner Rolle als Transportmolekül für Leptin über die Blut-Hirn- und Plazenta-Schranke eine besondere Stellung ein, da es die Translokation des Hormons in verschiedene Kompartimente ermöglicht [67, 98, 99]. Die Signaltransduktion findet über drei verschiedene Signaltransduktionswege statt, zu denen der JAK2/IRS-2- und der ERK-Weg gehören. Hauptsächlich läuft die Leptin-Signaltransduktion aber über den sogenannten JAK/STAT-Pfad [100-105].

1.4.2. Pathophysiologie

Leptin gilt als Homöostasehormon und der LepR als korrelierendes Bindungs- und Transportmolekül, welche sich gegenseitig in ihrer Funktion beeinflussen. Der LepR hat einen Einfluss auf seine spezifische Bindung mit Leptin, zudem auf die Endozytose des Hormons und seiner Translation über die Bluthirn- und Plazentaschranke [106]. In humanen Gefäßendothelzellen wird dem LepR darüber hinaus eine pathophysiologische Rolle bei der leptinvermittelten Angiogenese zugesprochen [107]. Molekulargenetische Studien zeigen, dass *Missense*-Mutationen eine Dysfunktion des Rezeptors zur Folge haben, was sich zum Beispiel in Krankheiten wie der durch LEPR-Polymorphismen bedingten Adipositas [108-110], einer gestörten Insulin- und Glukosehomöostase [111] sowie einem gestörten Sozial- und Essverhalten äußern kann [112]. Rosmond et al. zeigten einen Zusammenhang zwischen der Expression des LepR und der Blutdruckeinstellung, wobei beim Vorliegen bestimmter genetischer Aminosäurekonstellationen in Codon 109 und 223 ein erhöhtes Hypertonierisiko zu bestehen scheint [113].

1.4.3. Leptinrezeptoren und physiologische Schwangerschaften

Im Serum schwangerer Frauen zeigen sich mit zunehmender Schwangerschaftsdauer im Vergleich zu nicht-schwangeren Kontrollen eine um bis zu 60% erhöhte Konzentration des solLepR und des eiweißgebundenen Leptins, was womöglich durch noch nicht erforschte Signalwege die adäquate Nahrungszufuhr in der Schwangerschaft reguliert [98, 114]. Eine Expression des LepR kann im Hypothalamus in enger örtlicher und funktioneller Beziehung zum dort vorhandenen Östrogenrezeptor sowie im plazentaren Geweben beobachtet werden [115-117], wo im villösen und extravillösen Trophoblast und in glandulären epithelialen Zellen vor allem die lange Isoform Rb mit der Hauptfunktion der Signalübertragung und die Ra-Form für den transplazentaren Transport exprimiert wird [118, 119]. Dies lässt eine mögliche Kontrollfunktion des Leptins über das plazentare Wachstum [120] sowie im Zusammenspiel mit dem hypothalamischen Östrogenrezeptor über den weiblichen Hormonhaushalt vermuten [115-117].

1.4.4. Leptinrezeptoren und hypertensive Schwangerschaftserkrankungen

Eine gestörte Rezeptorfunktion kann trotz eines normalen Leptin-Serumspiegel eine verminderte Signalantwort bedingen. Konsekutiv führt dies zu einer Konzentrationserhöhung des Hormons, was eine Hyperleptinämie bedingen und in der Schwangerschaft zu hypertensiven Blutdruckwerten führen kann. Zudem scheint eine durch einen genetischen

Polymorphismus bedingte Dysfunktion im Leptinrezeptor eine Störung in der JAK/STAT-Signalkaskade verursachen zu können, die als wichtigster Signaltransduktionsweg für die Kontrolle der Trophoblasteninvasion gilt [121]. Eine folglich verminderte Invasion der Plazentazotten könnte dabei möglicherweise den Pathomechanismus der Präeklampsie mit triggern.

1.5. Peroxisomen-Proliferator-Aktivierter-Rezeptor Gamma (PPAR γ)

Peroxisomen-Proliferator-Aktivierter-Rezeptoren gehören, wie die Steroid- und Schilddrüsenhormonrezeptoren, der Superfamilie der nukleären Hormonrezeptoren an und werden durch die Bildung eines Heterodimers mit dem Retinoid-X-Rezeptor (RXR) zu Transkriptionsfaktoren, die die Expression verschiedener Genprodukte beeinflussen [2].

1.5.1. Definition und Physiologie

Der Peroxisomen-Proliferator-Aktivierter-Rezeptor liegt in drei Isoformen, PPAR α , PPAR β und PPAR γ vor, welche eine 60-80%ige Homologie bezüglich ihrer Liganden- und DNA-Bindungsstellen besitzen. Exprimiert von Adipozyten, Knochenmark, Milz, Hoden, Gehirn, Muskel- und Lebergewebe [122] bindet PPAR γ im Heterodimer mit dem RXR an das *PPAR γ -respondig Element* der DNA und führt so zur Expression verschiedener Genprodukte [123]. Seine Funktionen beinhalten sowohl die Regulation der zellulären Differenzierung (zum Beispiel von Adipozyten), die Kontrolle des Zellzyklus und die Induktion der Apoptose (zum Beispiel als Tumorsuppressor-Gen bei einem Mamma- oder Prostata-Karzinom mit folglich verlangsamter Zellteilung). Zudem zeigt das PPAR γ -Protein einen Einfluss auf die Homöostase, den Lipidmetabolismus und die intrazelluläre Insulinsignalkaskade [2, 124-130]. Zu den Liganden von PPAR γ gehören Fettsäuren, Eicosanoide, oxLDL, oxAlkylphospholipid und die synthetischen Thiazolidinedione (TZD), die bereits erfolgreich in der Therapie des Diabetes mellitus eingesetzt werden [2].

1.5.2. Pathophysiologie

Durch den Nachweis der PPAR γ 2-Expression in arteriosklerotischen Läsionen konnte eine Assoziation des Proteins zur Pathogenese der Arteriosklerose nachgewiesen werden [131]. Die Aktivierung des Rezeptors führt dabei über die Beeinflussung von Apoptose und Wachstum der vaskulären glatten Muskelzellen zu einer verringerten *Compliance* (Dehnbarkeit) der Gefäße und damit zur stetigen Progredienz der Verkalkung [132, 133]. Immunologisch hat PPAR γ einen Einfluss auf die Expression proinflammatorischer Zytokine

durch T-Helferzellen und führt so zu verminderten Serumkonzentrationen von IL-2, IL-6, IL-8 und TNF α [134, 135]. Über synthetische Agonisten wie TZD beeinflusst PPAR γ positiv den Lipid- und Glukosemetabolismus sowie die Insulinresistenz mit seinem antidiabetogenen Potential [122, 136]. PPAR γ 2 kann physiologischerweise über eine Downregulation der Expression verminderte Leptin-Serumspiegeln und Blutdruckwerten bedingen, wobei das Auftreten von Mutationen im PPARG2-Gen mit einer konsekutiven Proteindysfunktion zu einem Hypertonus führen kann [137]. PPAR γ 2, das einem negativen Feedback-Mechanismus durch Leptin unterliegt [133], scheint einen direkten und indirekten Einfluss auf den systemischen Blutdruck und auf die inflammatorische Wirkung des Leptins zu haben [79, 138-141].

1.5.3. PPAR γ und physiologische Schwangerschaften

In Plazenta und Trophoblast werden Isoformen von PPAR γ exprimiert, wobei sich besonders hohe Konzentrationen an den Zellen zeigen, die direkt an der Differenzierung und Formation der feto-maternalen Grenzfläche beteiligt sind. Dabei besteht neben der Kontrolle durch placentare autokrine Hormone eine negative Korrelation zwischen der Invasion des Trophoblasten und der PPAR γ -Konzentration im Serum [2], wohingegen die Blockade von PPAR γ oder seines Heterodimer-Partners RXR zu einer verbesserten Invasion des Trophoblasten führt [142]. Ein vollständiger Verlust der PPAR γ -Aktivität kann jedoch im Gegensatz dazu einen verminderten Progesteronspiegel, eine eingeschränkte Fertilität und eine verminderte Plazenta-Implantation bedingen [143]. So scheinen Änderungen der PPAR γ -Aktivität die Initiation und den Erhalt einer Schwangerschaft beeinflussen zu können.

In der physiologischen Gravidität kommt es während des ersten Trimenons zu einer verstärkten PPAR γ -Expression im extravillösen Trophoblasten und einer folglich verbesserten placentaren Invasion in der Frühschwangerschaft [144]. In zeitlicher Nähe zum Geburtstermin fällt dagegen die PPAR γ -Aktivität wegen einer verminderten Konzentration an natürlichen Aktivatoren ab, was möglicherweise der placentaren Vorbereitung auf die Geburt dient [120].

1.5.4. PPAR γ und hypertensive Schwangerschaftserkrankungen

Bei Präeklampsie-Patientinnen konnten bisher immunhistochemisch keine Veränderungen der placentaren PPAR γ -Expression nachgewiesen werden, allerdings lässt sich im Serum erkrankter Frauen der charakteristische Abfall der PPAR γ -Aktivatoren schon ab der 20. SSW noch vor Beginn der klinischen Symptomatik und somit deutlich früher als in der normalen Schwangerschaft beobachten (Abbildung 2). Dieser Aktivitätsabfall könnte der placentaren

Geburtsvorbereitung dienen, wobei er jedoch bei PIH zu einem Konflikt zwischen geburtseinleitenden Mechanismen und dem frühen Schwangerschaftsalter führt [2, 145].

Inflammatorische Effekte, die durch feto-maternalen Interaktionen bedingt sind, werden physiologischerweise in der normalen Schwangerschaft unterdrückt, die Zytokine TNF α und IL-6 erniedrigt gemessen und so eine verbesserte Implantation der Plazenta ermöglicht [128, 145, 146]. Der Aktivitätsabfall von PPAR γ bei PIH dahingegen bedingt eine Konzentrationszunahme dieser Zytokine als Ausdruck der multisystemischen Inflammation, was in einem *circulus vitiosus* wiederum die PPAR γ -Transkription vermindert [147, 148].

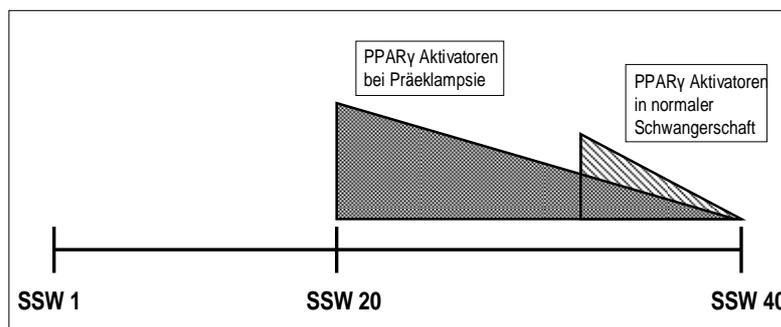


Abbildung 2: Konzentrationen von PPAR γ -Aktivatoren im Verlauf der Schwangerschaft. Es zeigt sich ein deutlich früherer Abfall der Konzentration bei PIH im Vergleich zur physiologischen Schwangerschaft um die 20. SSW.

Eine Dysfunktion von PPAR γ könnte somit sowohl Ursache der inflammatorischen Komponente der Präeklampsie sein, als auch über den Wegfall der Leptinhemmung zu einer Hyperleptinämie und folglich zum Hypertonus [149] des PIHs führen.

1.6. Aufgabenstellung

Das Ziel dieser Arbeit war es, einen Einfluss der untersuchten Polymorphismen auf das Auftreten oder die Exazerbation hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen aufzuzeigen.

Im klinischen Teil der Studie sollten die Subgruppen des PIHs anhand einer statistischen Analyse auf signifikante Unterschiede ihrer anamnestischen, klinischen und laborchemischen Parameter untersucht und anhand dieser ein klinisches Risikoprofil für eine Exazerbation der Erkrankung dargestellt werden. Die intrauterinen fetalen und postnatalen kindlichen, klinischen Parameter sollten ebenso erfasst werden, um die kindliche Entwicklung und ihr *outcome* unter der maternalen Schwangerschaftserkrankung zu dokumentieren.

Im experimentellen Teil sollten die Inzidenzen der Polymorphismen PPARG2 P12A, LEPR R223Q und *Lep(TTTC)_n* im Kollektiv der PIH-Patientinnen erarbeitet werden, da sie in verschiedenen Studien bereits Einflüsse auf die jeweils zugehörige Peptid-Serumkonzentration zeigten und für sie Zusammenhänge zu pathogenetischen Ereignissen eines essentiellen Hypertonus sowie des PIHs beschrieben wurden. Der Fokus der Analyse

lag auf vermuteten Gemeinsamkeiten der Genese von essentiell und Schwangerschaftshypertonus, welche durch die bisher bekannte Physiologie des Leptin-PPAR γ -Kreislaufs erklärbar wäre. Weiterhin sollte der direkte Einfluss der Polymorphismen auf die Entwicklung und die Exazerbation einer hypertensiven Schwangerschaftserkrankung dargestellt werden.

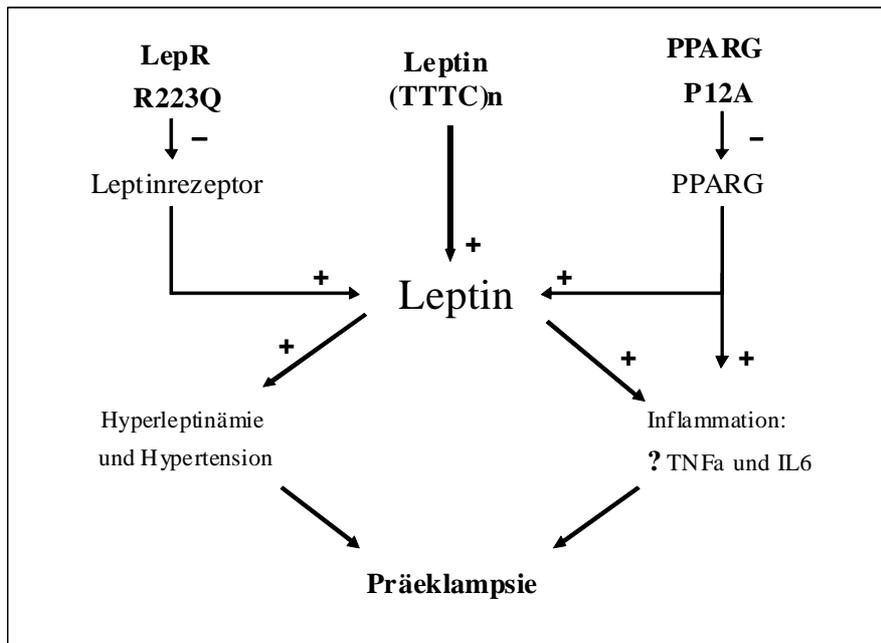


Abbildung 3: Flussdiagramm zu möglichen wechselseitigen Einflüssen der beschriebenen Polymorphismen im Leptin-, Leptinrezeptor- und PPARG2-Gen auf die Pathophysiologie der Präeklampsie (modifiziert nach [2])

II. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1 Geräte und Verbrauchsmaterialien

Im Folgenden werden die verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien mit den herstellenden Firmen erfasst (Tabelle 3):

EDTA-Blutentnahme-Röhrchen, Monovetten	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht
Wärmeblock	Lab-Line Instruments, Melrose Pk, IL, USA
1,5 ml-Gefäße	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht
Pipetten	Gilson International B.V., Limburg
Qia spin columns	Qiagen GmbH, Hilden
Zentrifuge für die DNA-Isolierung	Eppendorf AG, Hamburg
Vortex-Gerät	Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA
MJ Research Peltier Thermal Cycler PTC-225v	MJ Research Inc., Waltham, MA, USA
Vakuumentrifuge gekühlt (4°C) „Speed Vac“	Thermo Scientific, Waltham, MA, USA
Elektrophorese-Kammer	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
UV-Transilluminator	Vilber Lourmat, Marne-la-Vallée, Frankreich

Tabelle 3: Im experimentellen Teil der Studie verwendete Geräte und deren Hersteller

2.1.2. Chemikalien und Reagenzien

Folgende Chemikalien und Reagenzien wurden im experimentellen Teil der Studie verwendet. In der rechten Spalte findet sich jeweils der Hersteller (Tabelle 4):

Qiagen-Protease	Qiagen GmbH, Hilden
AL-Lyse-Puffer	Qiagen GmbH, Hilden
100 %iger Äthanol	Merck KGaA, Darmstadt
Puffer AW 1	Qiagen GmbH, Hilden
Puffer AW 2	Qiagen GmbH, Hilden
Niedrig-Salz-AE-Puffer	Qiagen GmbH, Hilden
dNTPs	Pharmacia Chemicals, Uppsala, Schweden
Spezifische Primer	Thermo Fisher Scientific, Ulm
ABgene-Taq-DNA-Polymerase	ABgene, Epson, UK
PCR-Reaktionspuffer	ABgene, Epson, UK
Qia-Hotstart-Taq-DNA-Polymerase	Qiagen GmbH, Hilden
Qiapuffer	Qiagen GmbH, Hilden
TE-Puffer	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Restriktionsenzym Msp I	New England BioLabs Inc., Beverly, MA, USA
NEBuffer 2	New England BioLabs Inc., Beverly, MA, USA
Restriktionsenzym Hga I	New England BioLabs Inc., Beverly, MA, USA
NEBuffer 1	New England BioLabs Inc., Beverly, MA, USA
Marathonpuffer für die Elektrophorese	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Agarose für die Elektrophorese	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Ficoll-Ladepuffer	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen
Größenmarker (" <i>gene ruler</i> ")	Fermentas GmbH, Sankt Leon-Rot
Ethidiumbromid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen

Tabelle 4: Im experimentellen Teil der Studie verwendete Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sowie deren Hersteller

2.2. Methoden

2.2.1. Rekrutierung von Patientinnen und Kontrollgruppe

Unter Zuhilfenahme der Geburtenbücher und des elektronischen Schwangerenvorsorge- und Geburtenerfassungssystems PIA Fetal Database® (entwickelt von der Fetal Medicine Foundation, London, UK) der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Klinikums Großhadern wurden alle von SIH, Präeklampsie, Eklampsie oder HELLP-Syndrom betroffenen Geburten in den Jahren 2000 bis 2006 erfasst. Die Stammdaten der Patientinnen wurden archiviert, diese über den Postweg angeschrieben (Anschreiben im Anhang, Seite 72) und das Patientenkollektiv aus den Frauen gebildet, die sich bereit erklärten, am experimentellen Teil der Studie teilzunehmen. Insgesamt wurden 103 Patientinnen (im Einzelnen $n(\text{SIH})= 39$, $n(\text{Präeklampsie})= 27$, $n(\text{Eklampsie})= 5$ und $n(\text{HELLP})= 32$) in die Studie eingeschlossen. Für die Kontrollgruppe ($n= 100$) wurden Frauen mit abgeschlossener Familienplanung im Rahmen ihrer Vorstellung in der Frauenklinik Großhadern (Kreissaal, Wochenbettstation, Frauenpoliklinik) rekrutiert. Ausschlusskriterien der Kontrollgruppe waren eine positive Anamnese bezüglich Abort, Abruption, Totgeburt beziehungsweise intrauterinem Fruchttod und PIH (SIH, Präeklampsie, Eklampsie, HELLP-Syndrom). Das Einverständnis an der Teilnahme wurde von allen an der Studie teilnehmenden Frauen eingeholt (Einverständniserklärung im Anhang, Seite 73) und die ethische Unbedenklichkeit der Studie durch die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität, München bestätigt.

2.2.2. Statistische Methoden

2.2.2.1. Archivierung und Bearbeitung der Daten

Für den statistischen Teil der Studie wurden die Patientenakten der Schwangerenvorsorge sowie des geburtshilflich-stationären Aufenthalts mittels SPSS® 16.0 (*Statistical Package for the Social Sciences* 16.0 for Windows®, Chicago, USA) archiviert. Dabei wurden folgende Parameter in die statistische Analyse eingeschlossen: maternales Alter und SSW bei Entbindung, allgemeine und geburtshilfliche Anamnese (Vorerkrankungen, Gravidität, Parität, Aborte, PIH), BMI (Körpergewicht [kg] / Körpergröße [m]²) vor der Schwangerschaft und bei Entbindung, maternale Ödembildung im Schwangerschaftsverlauf, Blutdruckwerte prä- sowie postpartal, Entbindungsmodus und klinisch-chemische Laborparameter unmittelbar vor der Entbindung (Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, CRP, GOT, GPT und aPTT). Der postpartale Verlauf wurde anhand der medizinischen Dokumentation des intensivmedizinischen und normalstationären Aufenthalts erfasst und mittels dem eventuellen

Bedarf an Blutprodukten, Verlauf der Blutdruckwerte und Wundheilungsstörungen charakterisiert. Von den fetalen Parametern wurden die Werte der letzten pränatalen Fetometrie ausgewertet. Der fronto-occipitale Kopfdurchmesser (FOD), der biparietale Durchmesser (BPD), der Abdomenumfang (AU) und die Femurlänge (FL) wurden mit Hilfe von Perzentilenverteilungen (Anhang, Seite 76) analysiert sowie die Feten anhand ihrer Gestationsreife in die Gruppen IUGR (Perzentile < 5 %), Normalentwicklung (Perzentile 5% - 95%) und Makrosomie (Perzentile > 95%) eingeteilt und beurteilt. Postnatale kindliche Daten wie Geburtsgewicht und -größe sowie Kopfumfang wurden ebenso erfasst wie Geschlecht, Apgar- und Nabelschnur-pH-Wert und die postnatale Therapie.

2.2.2.2. Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mittels der Software SPSS® 16.0. Bei metrischen Werten wurden der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test ($p < 0.05$ signifikant) und der Kruskal-Wallis-Test ($p < 0.05$ signifikant) und bei nominalen Werten der Chi²-Test ($p < 0.05$ signifikant) verwendet. Anhand einzelner Parameter wurden sowohl die verschiedenen PIH untereinander als auch die Gesamtheit der Patientinnen mit der Kontrollgruppe verglichen. Durch die Methodik der retrospektiven Analyse konnten nicht alle Werte reproduziert werden. Änderungen der Fallzahl werden jeweils gesondert angegeben.

2.2.3. Genanalyse

Im experimentellen Teil der Arbeit wurde die DNA der Patientinnen isoliert und ihr Genotyp mittels RFLP (Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus)-Analyse beziehungsweise Beurteilung der Fragmentgrößen bestimmt.

2.2.3.1. Materialgewinnung von Patientinnen und Kontrollgruppe

Die Materialgewinnung erfolgte nach Aufklärung der Patientinnen und ihrem schriftlichen Einverständnis bezüglich der Studienteilnahme im Rahmen eines persönlichen Termins in der Frauenpoliklinik Großhadern. Durch eine peripher-venöse Blutentnahme wurden je 5 ml Vollblut in EDTA-Monovetten gewonnen. Anschließend wurden die Proben bis zur Isolierung der genomischen DNA bei 4 °C gelagert.

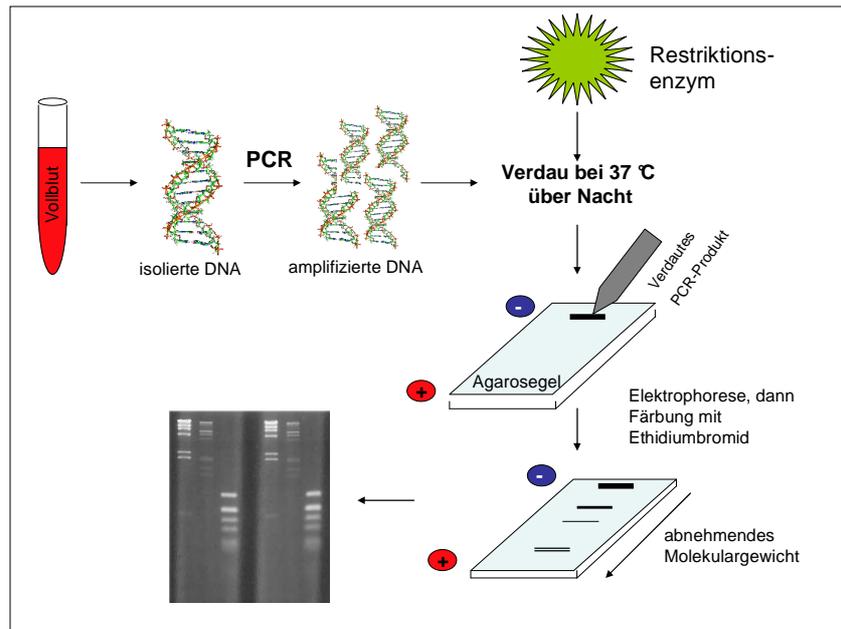


Abbildung 4: Versuchsaufbau. Nach der Gewinnung der genomischen DNA aus Vollblut werden die zu untersuchenden DNA-Abschnitte mittels PCR amplifiziert. Es folgt der Verdauung mittels spezifischer Enzyme. Die Produkte werden auf ein Agarosegel aufgetragen und entsprechend ihrer Größe getrennt. Nach Anfärbung der Gele mit Ethidiumbromid werden die Banden unter UV-Durchlicht sichtbar und zur Dokumentation fotografiert.

2.2.3.2. Isolierung genomischer DNA

Die genomische DNA der kernhaltigen Zellen des Blutes wurde direkt aus den EDTA-Vollblut-Proben unter Verwendung des „*QIAamp DNA blood mini*“-Kits (Qiagen GmbH, Hilden) isoliert. Bei der Zentrifugation der Proben durch spezielle Spin-Säulen bindet die DNA an die enthaltene Silica-Gel-Filtermembran, während Fremdstoffe und andere Zellbestandteile durch Zugabe von verschiedenen Puffern ausgewaschen werden können. Die DNA ist so direkt für die PCR verwendbar. Die einzelnen Schritte der DNA-Präparation verlaufen folgendermaßen: Zunächst werden 200 µl der bei Raumtemperatur äquilibrierten Vollblutprobe mit 20 µl QIAGEN-Protease und 200 µl AL-Lyse-Puffer versetzt und bei 56°C für 10 Minuten inkubiert. Durch die Zugabe des Puffers kommt es zu einer Lyse der Zellmembranen und einer Freisetzung der Nukleinsäuren aus dem Zellkern. Nach Zugabe von 200 µl 100%igem Äthanol werden die Proben in die speziellen Filtervorrichtungen (*QIAamp spin columns*) überführt und die DNA durch Zentrifugation an die Silicagel-Membran gebunden. Anschließend wird diese zweifach durch Zentrifugation von zunächst einer Minute bei 6000xg (8000 rpm) mit Waschpuffer AW1 und dann von drei Minuten bei 20000xg (14 000 rpm) mit Puffer AW2 gewaschen. Dadurch werden vor allem zweiwertige Kationen und Proteine, welche die nachfolgende PCR-Reaktion stören könnten, aus dem Ansatz entfernt. Die an den Filter gebundene DNA wird im letzten Schritt mit 200 µl des Niedrig-Salz-AE-

Puffers durch zweiminütige Zentrifugation bei 6000xg (8000 rpm) vom Filter eluiert. Insgesamt lassen sich so durchschnittlich 6-10 µg DNA in 200 µl Lösung gewinnen. Die isolierte DNA wird bis zur Verwendung bei 4 °C aufbewahrt.

2.2.3.3. Polymerase-Ketten-Reaktion ("*polymerase chain reaction*", PCR)

Die PCR ist ein Verfahren zur exponentiellen Vervielfältigung (Amplifizierung) definierter doppelsträngiger Nukleinsäuresequenzen, die durch zwei spezifische Oligonukleotid-Startermoleküle ("Primer") markiert sind. Die entstehenden Amplifikationsprodukte (PCR-Produkte) können anschließend mittels Agarosegel-Elektrophorese und Ethidiumbromid-Färbung sichtbar gemacht werden, um den Erfolg der PCR zu kontrollieren.

Die PCR besteht aus sich wiederholenden Zyklen mit jeweils drei Teilschritten, die in einem Thermocycler mit Deckelheizung (in diesem Falle einem MJ Research Peltier Thermal Cycler PTC-225v, MJ Research Inc.) durchgeführt werden. Im ersten Schritt wird der DNA-Doppelstrang bei 94-95 °C in die beiden Einzelstränge aufgetrennt (Hitzenaturierung), um die DNA im zweiten Schritt der Reaktion der Anlagerung der spezifischen Primer (Tabelle 6) an die ihnen komplementären Zielsequenzen auf den beiden DNA-Einzelsträngen bei 55 °C (PCR von LEPR und PPARG2) bzw. 62 °C ($LEP(TTTC)_n$) zugänglich zu machen (*Annealing*). Diese kurzen, doppelsträngigen Bereiche dienen im dritten Teil, der Extension, als Startblöcke für eine hitzestabile DNA-Polymerase. Diese synthetisiert bei 72 °C unter Einbau von dNTPs mit einer Geschwindigkeit von 1000-2000 Nukleotiden pro Minute den komplementären DNA-Strang. Durch wiederholte Denaturierung werden die neu entstandenen DNA-Doppelstränge immer wieder voneinander getrennt und dienen als Vorlage (Matrize) für die Synthese weiterer komplementärer Stränge. Theoretisch verdoppelt jeder neue Zyklus also die Menge an DNA-Produkten, so dass man nach n Zyklen 2^n doppelsträngige Moleküle synthetisiert hat. Die tatsächliche Ausbeute beträgt allerdings nur etwa 80% dessen, da die Reaktion nach der exponentiellen Vermehrung in eine Plateauphase übergeht. Bei allen hier untersuchten Polymorphismen wurden die oben genannten Zyklen je vierzig Mal wiederholt. Für den Ansatz wurden ein 1x-Reaktionspuffer (bestehend aus 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂ und 10 mM Tris HCl pH 9,0), dNTPs (jeweils 125 µM), jeweils 0,5 µl (400 nM) des "*sense*"- und des "*antisense*"-Primers, 2,5 µl (ca. 75-125 ng) DNA, die Taq-Polymerase (1,5 U) und Aqua bidest ad 25 µl verwendet (Angaben jeweils als Endkonzentration; Tabelle 5).

	<i>Leptin (TTTC)_n</i>	LEPR R223Q	PPARG2 P12A
PCR-Ansatz (25 µl)	2,5 µl 10x Reaktionspuffer 2,5 µl dNTPs 0,5 µl "sense"-Primer 0,5 µl "antisense"-Primer 2,5 µl DNA 0,125 µl Qia Taq Polymerase 16,5 µl Aqua bidest	2,5 µl 10x Reaktionspuffer 2,5 µl dNTPs 0,5 µl "sense"-Primer 0,5 µl "antisense"-Primer 2,5 µl DNA 0,125 µl ABgene Taq Polymerase 16,5 µl Aqua bidest	2,5 µl 10x Reaktionspuffer 2,5 µl dNTPs 0,5 µl "sense"-Primer 0,5 µl "antisense"-Primer 2,5 µl DNA 0,125 µl ABgene Taq Polymerase 16,5 µl Aqua bidest
PCR-Programm	Initiale Denaturierung 10' 95 °C 40 Zyklen 20'' 94 °C 20'' 55 °C 30'' 72 °C Finale Elongation 10' 72 °C	Initiale Denaturierung 10' 95 °C 40 Zyklen 20'' 94 °C 20'' 62 °C 30'' 72 °C Finale Elongation 10' 72 °C	Initiale Denaturierung 10' 95 °C 40 Zyklen 20'' 94 °C 20'' 62 °C 30'' 72 °C Finale Elongation 10' 72 °C

Tabelle 5: Versuchsdurchführung der PCR. Darstellung des PCR-Ansatzes und der verwendeten Thermocycler-Einstellungen je nach untersuchtem Polymorphismus.

Die von der Thermo Scientific GmbH in Ulm bezogenen Primer sind etwa 20-30 Basen lange, chemisch synthetisierte Abschnitte einzelsträngiger DNA. Sie flankieren den interessierenden Genom-Abschnitt und erlauben dessen schnelle und spezifische Vermehrung, indem sie mit

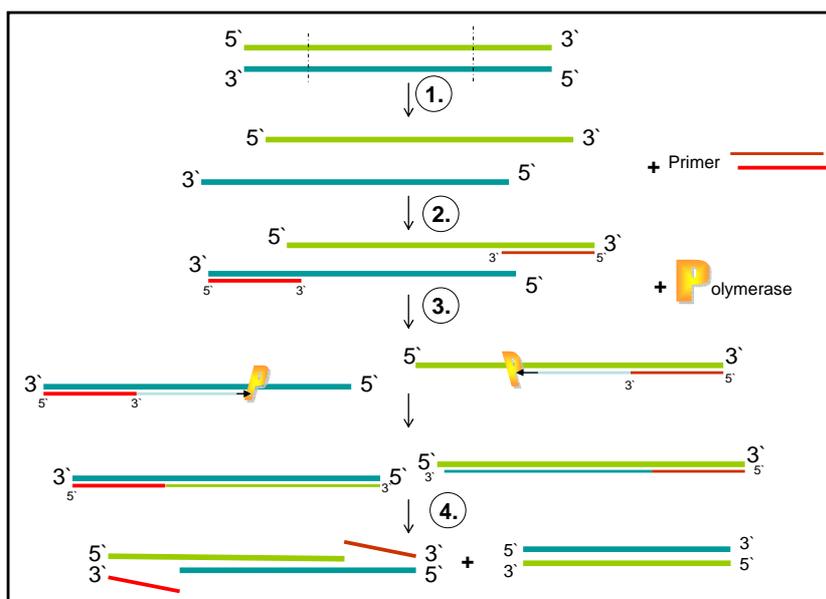


Abbildung 5: Prinzip der Polymerasekettenreaktion (PCR)

der komplementären Sequenz auf der DNA-Matrize hybridisieren und damit als kurze doppelsträngige Abschnitte der Taq-Polymerase als Startpunkt dienen. Die gefriergetrockneten Primer werden in 1xTE-Puffer gelöst, um eine Stocklösung mit einer Konzentration von 200 µM herzustellen. Diese wird dann für die PCR mit Aqua bidest auf 20 µM verdünnt.

Für die zu untersuchenden Polymorphismen wurden folgende Primerkombinationen verwendet:

	Vorwärtsprimer („sense“)	Rückwärtsprimer („antisense“)	Enzym
LEP	5'-GAG TTC AAA TAG AGG TCC AAA TC -3'	5'-GG AAC TTC TGA GGT TGT GTC ACC-3'	-
LEPR	5'-GTT AGA AGA TTC ACC TCT GGT TCC C-3'	5'-CAG AAT TTA AGT GAC AAT GGC AGA G-3'	Msp I
PPARG	5'-T CAA GCC CAG TCC TTT CTG TG-3'	5'-C CTG GAA GAC AAA CTA CAA GAG C-3'	Hga I

Tabelle 6: Darstellung der verwendeten Primer und Restriktionsenzyme (Einbuchstabencode der Basen: G: Guanin, A: Adenin, T: Thymin, C: Cytosin)

2.2.3.4. Präzipitation der PCR-Produkte

Nukleinsäuren können mit Alkohol in der Gegenwart von Salzen gefällt und somit in Reinform gebracht werden. Da die Phosphatgruppen der Nukleinsäuren im wässrigen Milieu negativ geladen sind, können sie positiv geladene Salzionen binden. Durch die Zugabe von absolutem (100%igem) Äthanol kommt es zum Wasserentzug und damit zum Ausfällen (Präzipitation) der DNA. Zur Fällung wird die wässrige DNA-Lösung mit 4 M NaCl auf eine Endkonzentration von 200 mM eingestellt. Nach Hinzufügen des 2,5fachen Volumens eiskalten Äthanol werden die Nukleinsäuren entweder 5 Minuten in flüssigem Stickstoff oder 20-30 Minuten bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Nach dreißigminütiger Zentrifugation bei 14.000 rpm und $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ wird der Überstand dekantiert und das entstandene DNA-Pellet bei Raumtemperatur getrocknet. Durch diesen fakultativen Schritt können beispielsweise den Verdau der PCR-Produkte störende Agentien (in dieser Studie vor allem bei der Analyse des PPARG2-Polymorphismus) eliminiert werden. Resuspendiert wird die DNA anschließend in 10 μl des für den zu untersuchenden Polymorphismus spezifischen Restriktionsenzymgemisches. Die beiden Versuchsansätze zur Analyse von *Lep(TTTC)_n* und LEPR R223Q, zeigten in den Experimenten auch ohne vorherige Ausfällung der PCR-Produkte eindeutige Ergebnisse und wurden somit diesem Arbeitsschritt nicht unterworfen.

2.2.3.5. RFLP-Analyse

Durch eine Veränderung der Nukleotidsequenz können Schnittstellen für bakterielle Restriktionsenzyme verlorengehen oder neu entstehen. Die Restriktionsendonukleasen, die auf dem Doppelstrang eine spezifische Sequenz von in der Regel vier bis sechs Nukleotiden

erkennen, hydrolysieren die Phosphodiester-Bindung des Zucker-Phosphat-Rückgrats der DNA, so dass ein Ende mit einer 5'-Phosphat-Gruppe und ein Ende mit einer 3'-OH-Gruppe an der Desoxyribose entsteht. Restriktionsendonukleasen werden von Bakterien synthetisiert und dienen ihnen als Schutzmechanismen gegen eindringende Fremd-DNA, die durch Bakteriophagen oder zufällig durch Transformation aufgenommen wird. Diese artfremde DNA besitzt Erkennungssequenzen für die bakteriellen Restriktionsenzyme und wird dementsprechend abgebaut. Eigene DNA wird dagegen nicht gespalten, weil die entsprechenden Sequenzen durch Methylierung modifiziert sind. Da die eingedrungene Fremd-DNA wesentlich langsamer methyliert wird als sie durch Restriktionsendonukleasen abgebaut wird, kann sich die Bakterienzelle effektiv gegen die artfremde DNA schützen. Die *in vitro*-Reaktionsbedingungen (pH, Salzgehalt des Puffers, Temperatur, Zusätze wie Rinderserumalbumin) sind vom Hersteller für jedes Enzym definiert. In dieser Studie wurden folgende Enzyme und Puffer der Firma New England BioLabs verwendet:

Leptinrezeptor R223Q

Puffer: <i>NEBuffer 2</i> (pH 7,9, 25 °C)	Enzym: <i>Msp I</i> (Inkubation 16 h, 37 °C)
50 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl	Erkennungsstelle: 5'... C [↓] CGG... 3'
10 mM MgCl ₂ , 1mM Dithiothreitol	3'... G [↑] GCC... 5'

PPARG2 P12A

Puffer: <i>NEBuffer 1</i> (pH 7,0, 25 °C)	Enzym: <i>Hga I</i> (Inkubation 16 h, 37 °C)
10 mM Bis Tris Propane-HCl	Erkennungsstelle: 5' ... GACGC(N) ₅ [↓] ... 3'
10 mM MgCl ₂ , 1 mM Dithiothreitol	3' ... CTGCG(N) ₁₀ [↑] ... 5'

Das PCR-Produkt des Leptingens mit der $(TTTC)_n$ -Basenwiederholung wurde dagegen nicht verdaut, sondern konnte, mit Ficoll-Ladepuffer versetzt, direkt der Elektrophorese zugeführt werden. Die Banden lagen dabei umso näher am Auftragspunkt des Gels, je öfter der Tetranukleotidrepeat im Genom vertreten war. Dies ist darin begründet, dass die PCR-Produkte im elektrischen Feld umso weniger weit transportiert werden, je länger und schwerer sie sind. Durch einen statistischen "cut-off" bei 190 bp [150] konnte durch Vergleich mit dem mitgelaufenen Größenmarker eine semiquantitative Differenzierung in Fragmente < 190 bp und > 190 bp erfolgen.

2.2.3.6. Agarose-Gelelektrophorese

Die Elektrophorese in Agarose-Gelen ist eine Standardmethode zur Auftrennung von DNA-Fragmenten. Die negativ geladene DNA wandert im elektrischen Feld von der Anode zur Kathode. Die Wanderungsgeschwindigkeit hängt dabei von der Fragmentlänge, der

angelegten Spannung, der Konzentration und der Schichtdicke des Agarosegels sowie von der Zusammensetzung des Laufpuffers ab. Die mit 1x-Marathon-Puffer (135 mM Tris, 45 mM Borsäure, 2,5 mM EDTA) versetzte Agarose wird unter Wärmezufuhr geschmolzen und in einen Gelträger gegossen. Die Agarosekonzentration (1,5–2 %) wird dabei der Größe der aufzutrennenden Fragmente angepasst. Nach dem Aushärten und Überschichten des Gels mit Laufpuffer werden die in einem Ficoll-Ladepuffer (15 % Ficoll, 0,25 % Bromphenolblau, 0,25 % Xylencyanol) aufgenommenen DNA-Proben in die vorgefertigten Taschen des Gels pipettiert. Das Ficoll verhindert das Aufschwimmen der Proben beim Laden, während Bromphenolblau und Xylencyanol als Farbstoffmarker anzeigen, wo sich die Proben im Gel befinden. Um die Größe der Produkte zu bestimmen, trägt man zusätzlich einen Größenmarker ("*gene ruler*") auf, der aus unterschiedlich großen DNA-Fragmenten mit definierter Länge besteht. Auch die Größe der Gele ist unter Umständen entscheidend für die Auftrennung der Produkte. So zeigte sich, dass die Auftrennung in kleinen Gelen (mit maximal acht Taschen pro Reihe) im Gegensatz zu mittelgroßen Gelen (2 Reihen zu je 20 Taschen) eindeutigere Ergebnisse vor allem für *Lep(TTTC)_n* lieferte. In dieser Arbeit wurden deshalb die RFLP-Produkte auf 1,5%igen großen Agarosegelen getrennt (1,5 g Agarose + 100 ml Marathonpuffer) und der Tetranukleotidrepeat auf 2%igen kleinen Agarosegelen (2 g Agarose + 100 ml Marathonpuffer) analysiert. Die Elektrophorese wird je nach Gelgröße mit 40-100 mA durchgeführt, wobei sich die Trennung umso besser vollzieht, je niedriger die angelegte Stromstärke ist. Nach der Auftrennung wird das Gel für ca. 5 Minuten mit Ethidiumbromid gefärbt. Der Farbstoff lagert sich dabei in den DNA-Doppelstrang ein und ermöglicht somit die Darstellung der DNA im UV-Licht. Zum Entfernen von überschüssigem Farbstoff wird die elektrophoretische Auftrennung nochmals etwa fünf Minuten fortgesetzt. Dann wird die DNA bei langwelliger UV-Strahlung (302 nm) sichtbar gemacht und die Gele auf dem UV-Transilluminator fotografiert (Abbildung 6).

2.2.3.7. Analyse der Fragmentmuster und Festlegung des Genotyps

Zur Auswertung wurden die Gelbilder aller Patientinnen und der gesamten Kontrollgruppe analysiert. Die Kategorisierung wurde folgendermaßen vorgenommen: *Lep(TTTC)_n* homozygot > 190 bp (Typ II/II) oder < 190 bp (Typ I/I) und heterozygot (Typ I/II); LEPR-Polymorphismus R223Q und PPARG2-Polymorphismus P12A: Wildtyp (12PP, 223RR), Hetero- (P12A, R223Q) beziehungsweise Homozygotie (12AA, 223QQ) (Abbildung 6).

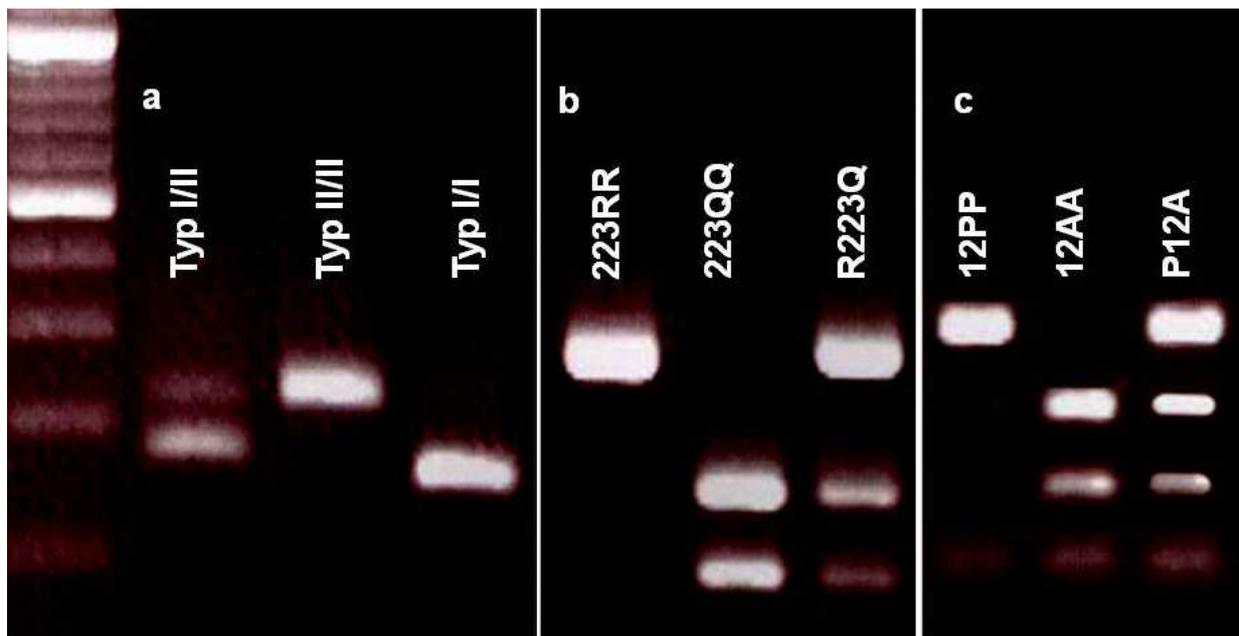


Abbildung 6: Darstellung der jeweils drei unterschiedlichen Genotypen

- a) Tetranukleotidrepeat *Lep(TTTC)_n* mit Typ I: < 190 bp und Typ II > 190 bp
- b) LEPR R223Q-Polymorphismus (rs1137101)
- c) PPARG2 P12A-Polymorphismus (rs1801282)

2.2.3.8. Statistische Analyse der experimentellen Ergebnisse

Die Ergebnisse der experimentellen Arbeit wurden anschließend mittels SPSS® 16.0 ausgewertet. Die Inzidenzen der Genotypen in der Patienten- und Kontrollgruppe wurden analysiert, um signifikante Unterschiede zu ermitteln. Zusätzlich wurde eine Analyse in Relation zu klinischen und laborchemischen Daten durchgeführt. Die Merkmale wurden dabei mittels des nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Tests ($p < 0.05$; metrische Daten) und des Chi²-Tests ($p < 0.05$; nominale Daten) untersucht.

III. Ergebnisse

3.1. Studienpopulation

3.1.1. Maternale Daten

Insgesamt wurden 103 Frauen in die Studie eingeschlossen und in Untergruppen mit folgenden Fallzahlen eingeteilt: SIH n= 39 (37,8%), Präeklampsie n= 27 (26,2%), Eklampsie n= 5 (4,9%) und HELLP-Syndrom n= 32 (31,1%). In der deskriptiven Analyse der Patientendaten zeigte sich anhand von anamnestischen und klinischen Angaben folgendes Gesamtkollektiv (Tabelle 7):

Variable	Mittelwerte des Gesamtkollektivs ± Standardabweichung (min-max)
Alter [a]	32,5 ± 4,8 (17 – 43)
Gravidität	1,7 ± 1,3 (1 – 11)
Parität	1,4 ± 0,6 (1 – 3).
BMI vor der SS [kg/m ²]	26,5 ± 6,3 (17,5 – 48,4)
BMI präpartal [kg/m ²]	31,3 ± 6,3 (22,1 – 50,1)
Systole bei Aufnahme [mmHg]	158,9 ± 20,2 (90 – 210)
Diastole bei Aufnahme [mmHg]	95 ± 12,1 (50 – 120)
Systole im Verlauf [mmHg]	134,9 ± 16,0 (90 – 180)
Diastole im Verlauf [mmHg]	83,9 ± 11,8 (50 – 110)
Entbindung [SSW]	34,7 ± 4,7 (24 – 41)

Tabelle 7: Charakterisierung des gesamten Patientenkollektivs anhand anamnestischer und klinischer Parameter (einzelne Beobachtungseinheiten im Anhang, Tabelle a, Seite 64 -65).

In der Anamnese fanden sich als Risikofaktoren für einen PIH bei 3 Frauen (2,9%) eine Thrombose und bei 10 Patientinnen (9,7%) ein PIH in einer früheren Schwangerschaft (im Einzelnen SIH n= 6, Präeklampsie n= 3, HELLP-Syndrom n= 1). Die Analyse der letzten präpartalen Blutentnahme ergab nachstehende mittlere Laborwerte (Tabelle 8):

Parameter	Metrische Mittelwerte ± s (min – max)	Relative Werte in % (absolute Werte)	
Hämoglobin [mg/dl]	11,9 ± 1,8 (6,1 – 17,2)	< 12 mg/dl	45,6% (47)
Leukozyten [μl]	11,1 ± 3,7 (5,8 – 26,5)	> 11 G/l	42,7% (44)
Thrombozyten [G/l]	173,0 ± 75,5 (22 – 363)	< 150 G/l	39,8% (41)
CRP [mg/dl]	2,7 ± 5,6 (0,1 – 42,9)	> 1mg/dl	37,9% (39)
GOT [U/l]	77,3 ± 191,6 (6-1499)	>33 U/l	31,1% (32)
GPT [U/l]	74,5 ± 145,8 (5-962)	>35 U/l	30,1% (31)
aPTT [sek.]	33,0 ± 6,0 (23 – 61)	> 45 sek	9,7% (10)

Tabelle 8: Darstellung der maternalen klinisch-chemischen Laborparameter unmittelbar vor der Entbindung. Angegeben sind Mittelwert ± Standardabweichung (Minimum – Maximum) und die relative beziehungsweise absolute Anzahl (in Klammern) der erfassten pathologischen Fälle (Auflistung der einzelnen Beobachtungseinheiten im Anhang, Tabelle a und b, Seite 64 - 66).

Im klinischen Verlauf wurde eine vorgezogene Entbindung (SSW < 34) in 40 Fällen (38,8%) dokumentiert, 23 Frauen (22,3%) wurden spontan entbunden und 80 (77,7%) operativ per Sectio cesarea. Postpartal wurden 41 Frauen (39,8%) auf die Intensivstation verlegt, wobei die mittlere Aufenthaltsdauer bei $1,5 \pm 2,3$ Tagen (0-8) lag und je 3 (7,3%) der intensivpflichtigen Patientinnen mit EK, TK und FFP sowie 2 Patientinnen (4,8%) mit ATIII substituiert werden mussten. Der gesamtstationäre Aufenthalt lag bei $11,0 \pm 8,4$ d (3-71) und bei 12,6% der Frauen trat eine Wundheilungsstörung als postpartale Komplikation auf.

Signifikante Unterschiede ($p < 0.05$; Tabelle 9) der klinischen Parametern zeigten sich bei folgenden untersuchten Parametern: der BMI vor der Schwangerschaft ($p = 0.02$) und unmittelbar präpartal ($p < 0.01$) war bei HELLP-Patientinnen signifikant niedriger als bei von SIH betroffenen Frauen, jedoch ohne einen signifikanten Unterschied bezüglich der BMI-Zunahme in der Schwangerschaft. Der diastolische Blutdruck bei Aufnahme in den Kreissaal ($p < 0.01$) zeigte signifikant höhere Werte bei bestehender Präeklampsie im Vergleich zu den drei anderen Erkrankungen ($p < 0.01$ im Vergleich mit SIH, $p = 0.04$ mit Eklampsie und $p = 0.03$ mit dem HELLP-Syndrom) (Abbildung 7).

Beim HELLP-Syndrom wurden folgende laborchemische Werte signifikant häufiger im pathologischen Bereich beobachtet: Thrombozyten- (< 150 G/l; $p < 0.01$), GOT- (< 33 U/l; $p < 0.01$), GPT- (> 35 U/l; $p < 0.01$), CRP- (> 1 mg/dl; $p < 0.01$) und aPTT-Werte (> 45 sek.; $p = 0.02$) (Abbildungen 8-9). SIH-Patientinnen zeigten generell den günstigsten Krankheitsverlauf mit einer höheren Schwangerschaftsdauer ($p < 0.01$) und weniger Frühgeburten ($p < 0.01$), häufiger spontan vaginalen Entbindungen ($p < 0.01$), selteneren (12,8%; $p < 0.01$) und kürzeren (0,3 d; $p < 0.01$) postpartalen Intensivaufhalten sowie eine kürzere gesamtstationäre Aufenthaltsdauer ($p < 0.01$). Demhingegen hatten HELLP-Patientinnen mit 71,9% und der mittleren Aufenthaltsdauer von 2,9 Tage die höchste Intensivpflichtigkeit sowie den größten Bedarf an Blutprodukten ($p = 0.03$).

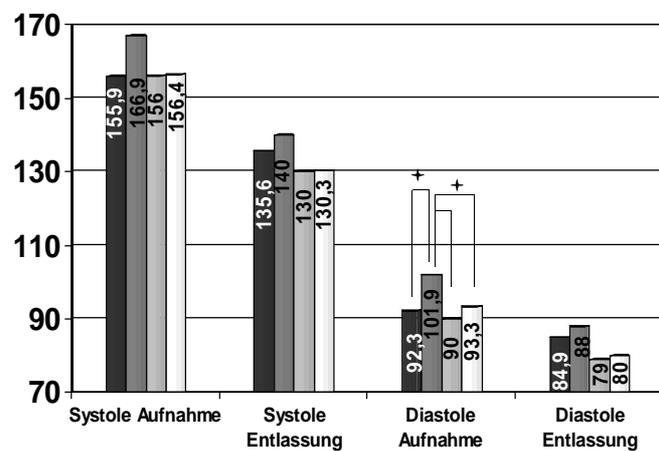


Abbildung 7: Signifikante Unterschiede der Blutdruckwerte bei Aufnahme und Entlassung in mmHg zwischen den einzelnen Erkrankungen SIH (schwarz), Präeklampsie (dunkelgrau), Eklampsie (grau) und HELLP-Syndrom (weiß).

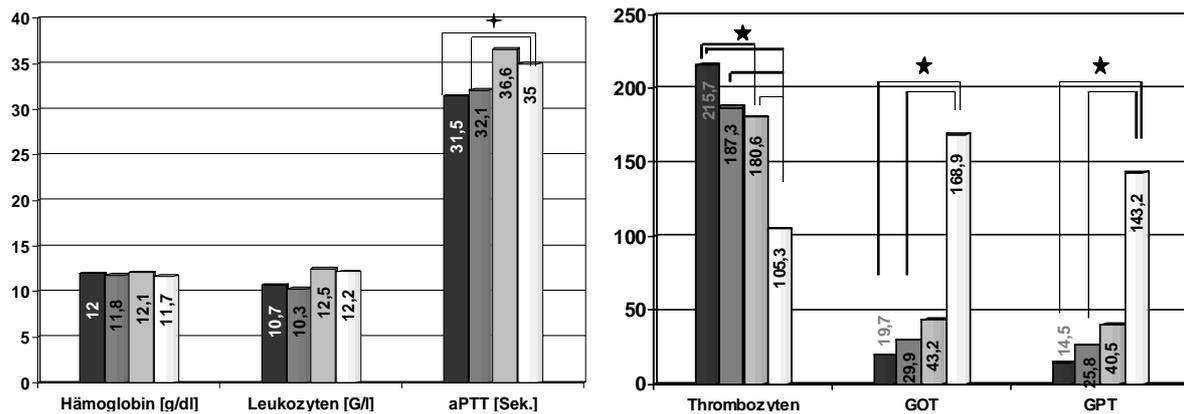


Abbildung 8-9: Graphische Darstellung der laborchemischen Daten. Signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) zeigen sich bei der Analyse von GOT-, GPT-, Thrombozyten- und aPTT-Werten zwischen den einzelnen Erkrankungen: SIH (schwarz), Präeklampsie (dunkelgrau), Eklampsie (grau) und HELLP-Syndrom (weiß).

Variable	N	p-Werte (Kruskal-Wallis-Test)						
		S-P-E-H	S-P	S-E	S-H	P-E	P-H	E-H
Alter [a]	103	0.31						
Gravidität	103	0.16						
Parität	103	0.31						
BMI vor der SS	102	0.02	0.13	0.86	0.00	0.33	0.16	0.08
BMI präpartal	100	0.00	0.07	0.49	0.00	0.92	0.05	0.41
SSW bei Entbindung	103	0.00	0.04	0.13	0.00	0.22	0.07	0.47
Systole Aufnahme	103	0.12						
Diastole Aufnahme	103	0.00	0.00	0.85	0.39	0.04	0.03	0.62
Systole Entlassung	103	0.09						
Diastole Entlassung	103	0.10						
Hämoglobin	98	0.95						
Leukozyten	101	0.14						
Thrombozyten	102	0.00	0.03	0.18	0.00	0.99	0.00	0.05
CRP	92	0.00	0.88	0.23	0.00	0.33	0.00	0.21
GOT	84	0.00	0.07	0.88	0.00	0.44	0.00	0.06
GPT	67	0.00	0.02	0.17	0.00	0.77	0.00	0.09
aPTT	102	0.02	0.79	0.83	0.00	0.71	0.01	0.58
Intensivaufenthalt	103	0.00	0.01	0.00	0.00	0.14	0.01	0.67
Gesamtaufenthalt	103	0.01	0.18	0.09	0.00	0.11	0.13	0.64

Tabelle 9: Analyse mütterlicher Daten. Angabe der p-Werte im Kruskal-Wallis-Test beim Vergleich von allen vier untersuchten Krankheiten (S-P-E-H) und im Mann-Whitney-U-Test bei Untersuchung der Signifikanz zwischen zwei Erkrankungen (S: SIH, P: Präeklampsie, E: Eklampsie, H: HELLP-Syndrom). Signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) sind **fett** gedruckt.

3.1.2. Fetale und kindliche Daten

Innerhalb der 103 beobachteten Schwangerschaften wurden 5 Gemini- und 2 Drillingsgraviditäten betreut, bei denen insgesamt 112 Kinder geboren wurden. 42 Neugeborene (37,5%) waren dabei von Müttern mit einem SIH, 30 (26,8%) mit einer Präeklampsie, 5 (4,5%) mit einer Eklampsie und 35 (31,3%) mit einem HELLP-Syndrom entbunden worden. Bezüglich der Geschlechteraufteilung ergab sich ein Verhältnis von 53 (47,3%) männlichen und 59 (52,7%) weiblichen Neugeborenen. Das Neugeborenenkollektiv wurde anhand folgender postnataler Mittelwerte charakterisiert (Tabelle 10):

Variable	Mittel des Gesamtkollektivs
Graviditätsdauer [SSW]	34,6 ± 4,6 (24-41)
Geburtsgewicht [g]	2264,8 ± 1034,0 (390 – 4500)
Geburtsgröße [cm]	45,3 ± 7,3 (27 – 58)
Kopfumfang bei Geburt [cm]	31,7 ± 4,0 (20 - 38)
Nabelschnur-pH-Wert	7,26 ± 0,1 (6,98 – 7,58)
Apgar bei 1 min	7,2 ± 2,0 (1 – 10)
Apgar bei 5 min	9,0 ± 1,3 (3-10)
Apgar bei 10 min	9,4 ± 0,8 (7-10)

Tabelle 10: Charakterisierung des Neugeborenenkollektivs anhand unmittelbar postpartal erhobener klinischer Daten.

Im Rahmen der fetometrischen Untersuchungen zeigten sich in der statistischen Analyse keine signifikanten Unterschiede unter den einzelnen Subgruppen ($p(\text{FOD})= 0.28$, $p(\text{BPD})= 0.58$, $p(\text{AU})= 0.26$, $p(\text{FL})= 0.28$), ebenso wenig bei den Dopplerbefunden der A.umbilicalis ($p= 0.31$) und der Beurteilung der Fruchtwassermenge ($p= 0.95$). Signifikante Unterschiede wurden bei der Schwangerschaftsdauer ($p < 0.01$) beobachtet, wobei Kindern von SIH-Patientinnen im Vergleich zu Kindern von Präeklampsie- oder HELLP-Patientinnen nach einer längeren Schwangerschaftsdauer geboren wurden und somit signifikant höhere Werte des postnatalen Gewichts ($p < 0.01$), der Größe ($p < 0.01$) und des Kopfumfangs ($p < 0.01$) aufwiesen (Abbildung 10).

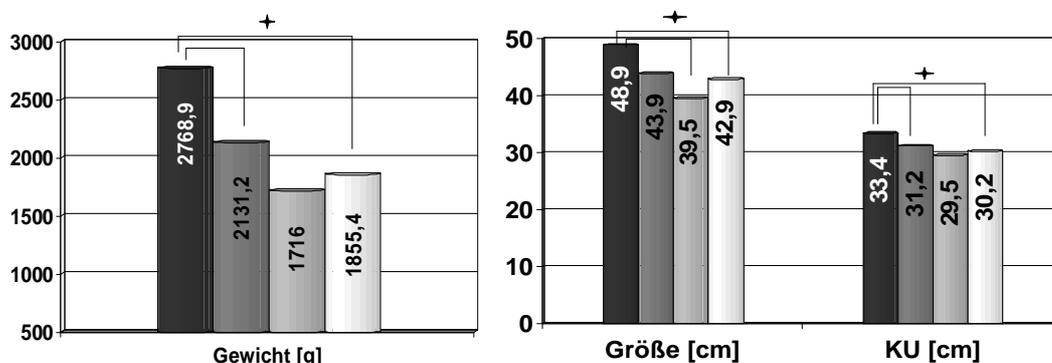


Abbildung 10: Darstellung von kindlichem Geburtsgewicht, Kopfumfang und Größe. Aufgeteilt entsprechend der maternalen Erkrankung SIH (schwarz), Präeklampsie (dunkelgrau), Eklampsie (grau) und HELLP-Syndrom (weiß).

Obwohl der mittlere 1-Minuten- ($p < 0.01$), der 3-Minuten- ($p < 0.01$) und der 5-Minuten-Apgar-Wert ($p < 0.01$) signifikant höhere Werte bei Kinder von SIH- und Präeklampsie-Patientinnen zeigten (Abbildung 11), waren beim den 10-Minuten-Werten keine signifikanten Unterschiede mehr zu beobachten. Der postnatale Nabelschnur-pH unterschied sich nicht signifikant unter den einzelnen Erkrankungsgruppen ($p = 0.78$). Insgesamt mussten 15 (13,4%) Säuglinge mit Nabelvenenkatheter (NVK) und 16 (14,3%) mittels Intubation versorgt werden. Ein Säugling (0,9%) wurde bereits im Kreissaal reanimiert und 58 Neugeborene (51,8%) mussten auf die neonatale Intensivstation verlegt werden, wobei sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der postnatalen Intensivpflichtigkeit der Neugeborenen im Vergleich der einzelnen Beobachtungseinheiten ergab ($p = 0.12$).

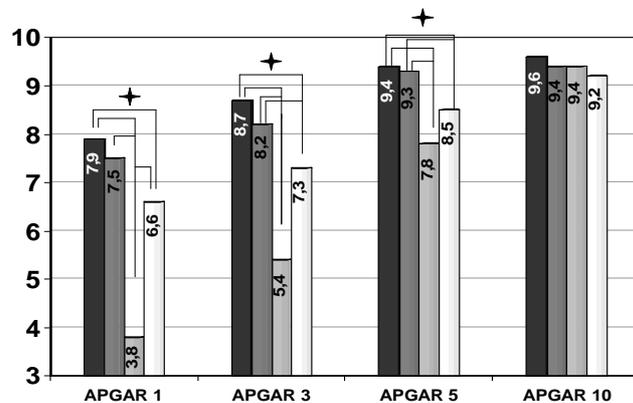


Abbildung 11: Signifikante Unterschiede der kindlichen Apgar-Werte in Bezug auf die einzelnen mütterlichen Erkrankungen. SIH (schwarz), Präeklampsie (dunkelgrau), Eklampsie (grau) und HELLP-Syndrom (weiß).

Die gesamte deskriptive Statistik des kindlichen Kollektivs entsprechend der mütterlichen Erkrankung findet sich im Anhang (Tabelle d und e, Seite 68 - 69).

Variable	n	Kruskal-Wallis-Test				Mann-Whitney-U-Test			
		S-P-E-H	S - P	S - E	S - H	P - E	P - H	E - H	
SSW	112	0.00	0.02	0.15	0.00	0.22	0.23	0.47	
Gewicht	110	0.00	0.03	0.05	0.00	0.35	0.35	0.38	
Größe	110	0.00	0.01	0.08	0.00	0.28	0.60	0.42	
KU	112	0.00	0.03	0.23	0.00	0.59	0.31	0.72	
Apgar 1	112	0.00	0.36	0.00	0.00	0.00	0.04	0.01	
Apgar 3	112	0.00	0.54	0.00	0.00	0.01	0.02	0.09	
Apgar 5	112	0.00	0.65	0.01	0.00	0.02	0.00	0.39	
Apgar 10	112	0.12							
pH	111	0.78							
NVK	112	0.01	0.12	0.01	0.24	0.07	1.00	0.05	
Intubation	112	0.01	0.12	0.01	0.13	0.07	1.00	0.07	
Intensivpflicht	112	0.12							

Tabelle 11: Kindliche Daten, Angabe der p-Werte beim Vergleich aller vier Untergruppen und zwischen jeweils zwei Erkrankungen (S: SIH, P: Präeklampsie, E: Eklampsie, H: HELLP-Syndrom). Signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) sind **fett** gedruckt.

3.2. Genanalyse

3.2.1. Häufigkeiten der Polymorphismen

Die Analyse der drei genetischen Polymorphismen *Lep(TTTC)_n*, LEPR R223Q und PPARG2 P12A ergab folgende relative Werte an Inzidenzen:

N		<i>LEP (TTTC)_n</i>			LEPR R223Q			PPARG2 P12A		
		I/I	II/II	I/II	223RR	223QQ	R223Q	12PP	12AA	P12A
203	Gesamt	54.2	24.6	21.2	35.5	23.7	40.9	72.9	1.0	26.1
103	Patienten	57.3	25.2	17.5	36.9	23.3	39.8	73.8	1.0	25.2
39	SIH	59.0	25.6	15.4	38.5	25.6	35.9	74.4	0	25.6
27	Präeklampsie	70.4	22.2	7.4	29.6	25.9	44.4	77.8	0	22.2
5	Eklampsie	60.0	40.0	0	40.0	20.0	40.0	60.0	0	40.0
32	HELLP	43.8	28.1	28.1	40.6	15.6	43.8	71.9	1	25.0
100	Kontrolle	51.0	24.0	25.0	34.0	24.0	42.0	72.0	1.0	27.0
p-Wert 1		0.40			0.94			0.94		
p-Wert 2		0.43			0.86			0.89		

Tabelle 12: Relative Häufigkeit der Polymorphismen (in %) im *LEP* Gen (I< 190 bp, II> 190 bp), *LEPR*- und *PPARG2*-Gen. p-Wert 1: Vergleich zwischen Patientinnen und Kontrollgruppe; p-Wert 2: Vergleich der Untergruppen des PIHs.

3.2.2. Statistische Analyse der Polymorphismen

Die Inzidenzen des Tetranukleotidpolymorphismus *Lep(TTTC)_n* des Leptingens zeigten bezüglich der drei einzelnen Genotypen (I/I, II/II und I/II) keinen signifikanten Unterschied im Vergleich der Patienten- mit der Kontrollgruppe (p= 0.40). Auch die einzelnen PIH-Subgruppen unterschieden sich bezüglich des Auftretens der einzelnen Substitutionen nicht signifikant untereinander (p= 0.43).

Anhand der Inzidenzen der Punktmutation des LEPR-Gens im Codon 223 konnte im Vergleich zwischen Patientinnen- und Kontrollgruppe mit einem p-Wert von p= 0.94 beziehungsweise im Vergleich der einzelnen PIH-Untergruppen mit einen p-Wert von p= 0.86 keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Auch das Auftreten des Q-Allels (Genotypen R223Q und 2223QQ) fand sich im Vergleich zu den homozygoten R-Trägern (223RR) in keiner Gruppe signifikant häufiger (p= 0.77 zwischen Patienten- und Kontrollgruppe; p= 0.83 zwischen den PIH-Subgruppen).

Hinsichtlich der Inzidenzen des Polymorphismus P12A im PPARG2-Gen wurden die p-Werte $p=0.94$ (Patientinnen- im Vergleich zum Kontrollkollektiv) und $p=0.89$ (PIH-Untergruppen) ohne signifikante Unterschiede ermittelt. Träger des A-Allels (12AA und P12A) wurden im Vergleich zu Wildtypen (12PP) ebenso wenig in einer bestimmten klinischen Untergruppe signifikant häufiger beobachtet ($p= 0.88$ im Vergleich von Patientinnen und Kontrollen, $p=0.85$ im Vergleich der PIH-Subgruppen).

Somit wurde auch nach dem Zusammenschluss aller Polymorphismusträger im Genom von LepR und PPARG2 (R223Q und 223QQ; P12A und 12AA) im Vergleich zu Trägerinnen des Wildtyps (223RR und 12PP) keine der klinischen Beobachtungseinheiten signifikant häufiger beobachtet (Tabelle 13).

Kollektiv	Polymorphismus	p-Wert
Patientinnen (n=103) – Kontrolle (n=100)	LepR R223Q	0.77
	PPARG2 P12A	0.88
Einzelne PIH	LepR R223Q	0.83
	PPARG2 P12A	0.85

Tabelle 13: p-Werte des Vergleichs von Wildtyp- und Polymorphismusträgerinnen.

3.2.3. Korrelation zwischen Polymorphismen und klinischen Parametern

Maternale klinische Daten wurden mit den vorliegenden Genotypen in Relation gestellt, um einen möglichen Einfluss der Polymorphismen auf klinische Parameter aufzuzeigen. Dabei konnte für den Tetranukleotidrepeat *Lep(TTTC)_n* kein Zusammenhang zu den untersuchten klinischen Parametern erhoben werden.

Bei der Analyse von klinischen Parametern im Vergleich zum Vorliegen des Polymorphismus LepR R223Q zeigten sich signifikante Unterschiede bei folgenden klinischen Werten: der diastolische Blutdruck bei Entlassung war bei Trägerinnen der Substitution 223QQ im Vergleich zu Frauen mit einer anderen Substitutionen signifikant höher ($p= 0.01$; Abbildung 12) und die präpartale CRP-Werte niedriger ($p= 0.03$). Pathologische GOT-Werte ($p= 0.03$) und das Auftreten einer postpartalen Wundheilungsstörung ($p= 0.03$) fand sich am häufigsten bei Trägerinnen der heterozygoten Substitution R223Q.

Im Rahmen von Untersuchungen des PPARG2-Polymorphismus zeigte sich eine Assoziation des Genotyps P12A zu signifikant höheren Quick-Werten im Vergleich zu Trägerinnen der Substitution 12AA ($p= 0.02$).

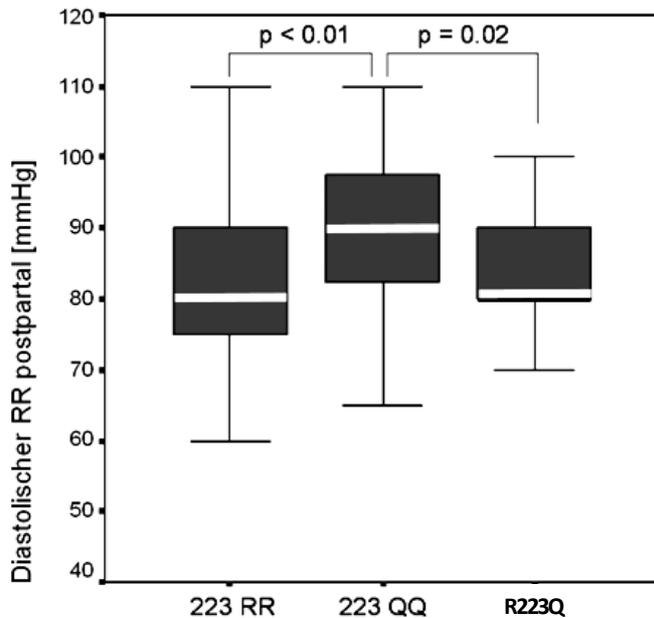


Abbildung 12: Boxplot des diastolischen postpartalen Blutdrucks mit Angabe der p-Werte entsprechende der genetischen Substitution.

Eine Subgruppeneinteilung des LEPR-Polymorphismus nach Allelträgern (R- und Q-Allel) wurde ebenso vorgenommen und mit den beobachteten klinischen Parametern verglichen. Analog zu homozygoten Polymorphismus-Trägern zeigten sich nach Zusammenschluss aller Q-Allel-Trägerinnen (R223Q und 223QQ) auch die präpartalen diastolischen ($p < 0.01$) und systolischen ($p = 0.04$) Blutdruckwerte signifikant höher als bei R-Trägerinnen.

3.2.4. Subgruppenanalyse

Als Maß der Stärke eines Zusammenhangs und der Assoziation zweier Merkmale zueinander wird die *odds ratio* (OR) verwendet. So konnte das unterschiedliche Erkrankungsrisiko für einen PIH im Vergleich zweier genetischer Substitutionen angegeben werden.

Der Leptinpolymorphismus zeigte beim Vorkommen des Typ I-Allels (Typ I/I und I/II) im Vergleich zum Typ II/II mit einer OR von 0.94 eine nur geringe Risikosenkung und für das Typ II-Allel (Typ I/II und II/II) im Vergleich zu Typ I/I-Trägerinnen ein leicht erhöhtes Erkrankungsrisiko ($OR = 1.3$).

Für die R-Substitutionen im Leptinrezeptor-Gen (R223Q und 223RR) wurde im Vergleich zu homozygoten Q-Trägerinnen (223QQ) eine OR mit 1.04 berechnet, für Polymorphismus-Trägerinnen mit Vorliegen des Q-Allels (223QQ und R223Q) im Vergleich zu Wildtypen (223RR) eine OR von 0.86 und somit konnte für kein Allel ein deutlich erhöhtes Erkrankungsrisiko belegt werden.

Homozygote Polymorphismus-Trägerinnen (12AA) des PPARG2-Polymorphismus zeigten verglichen mit P-Allelträgerinnen (12PP und P12A) mit einer OR von 0.91 eine leichte Erhöhung des Erkrankungsrisikos, das Vorhandensein des A-Allels in homozygoter oder heterozygoter Form (12AA und P12A) hingegen hatte im Vergleich zum Wildtyp (12PP) mit einer OR von 1.0 keinen Einfluss auf das Erkrankungsrisiko.

Leptin	I + (I/I, I/II)	I – (II/II)	II + (I/II, II/II)	II – (I/I)
Patientinnen	74,8%	25,2%	42,7%	57,3%
Kontrolle	76%	24%	49,0%	51,0%
OR	0.94		1.3	
LEPR	R/Arg + (223RR, R223Q)	R/Arg – (223QQ)	Q/Gln + (223QQ, R223Q)	Q/Gln – (223RR)
Patientinnen	76,6%	23,3%	63,1%	36,9%
Kontrolle	76,0%	24,0%	66,0%	33,0%
OR	1.04		0.86	
PPARG2	P/Pro + (12PP, P12A)	P/Pro – (12AA)	A/Ala + (P12A, 12AA)	A/Ala – (12PP)
Patientinnen	26,2%	73,8%	99,0%	1,0%
Kontrolle	28,0%	72,0%	99,0%	1,0%
OR	0.91		1.0	

Tabelle 14: Darstellung der odds ratio bezogen auf die vorliegenden Allele. Keine der Allelkonstellationen zeigte ein stark erhöhtes Risiko an einer hypertensiven Schwangerschafts-erkrankung zu erkranken.

IV. Diskussion

Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen stellen nach hämostasiologischen Störungen (wie beispielsweise Blutungen und Thrombosen) die häufigste Komplikation der menschlichen Schwangerschaft dar. Die klinische Symptomatik, die im Rahmen einer Eklampsie oder eines HELLP-Syndroms bis zu lebensbedrohlichen Verläufen führen kann, gibt Anlass, die bisher noch nicht vollständig geklärte Pathophysiologie und mögliche genetische Risikofaktoren zu untersuchen, um betroffene Frauen bezüglich eines Rezidivrisikos in einer weiteren Schwangerschaft beraten zu können. Dazu wurde ein geburtshilfliches Patientenkollektiv in die Subgruppen des PIHs eingeteilt und anhand von anamnestischen, klinischen und laborchemischen Daten charakterisiert sowie auf das Vorliegen bestimmter Polymorphismus-Konstellationen im Leptin-, Leptinrezeptor- und PPARG2-Gen untersucht. Aufgrund der bestehenden Datenlage konnte angenommen werden, dass die ausgewählten Polymorphismen *Lep(TTTC)_n*, LepR R223Q und PPARG2 P12A die pathophysiologischen Mechanismen eines essentiellen Hypertonus und eines PIHs direkt oder indirekt über eine Veränderung der intakten Peptidtranskription und -funktion beeinflussen können.

4.1. Studienpopulation

Die deskriptive Analyse anamnestischer und klinischer Parameter der Mütter, der Feten und der Neugeborenen diente der Charakterisierung der Beobachtungseinheiten. Die sich ergebenden signifikanten Unterschiede innerhalb der Subgruppen beschrieben das Morbiditätsrisiko der Mütter und das postnatale Risikoprofil der Neugeborenen entsprechend der vorliegenden Schwangerschaftserkrankung. Die statistische Analyse der Eklampsie-Subgruppe (n= 5) wurde wegen des großen Unterschieds der Fallzahl im Vergleich zur Kontrollgruppe (n= 100) als nicht signifikant gewertet und daher diese Beobachtungseinheit als rein deskriptiv betrachtet.

4.1.1. Maternale Daten

Die statistische Analyse maternaler Anamnesedaten und klinischer Laborparameter führte zur Erstellung eines charakteristischen Profils der PIH-Patientinnen. Anamnestische und in der Fachliteratur als Risikofaktoren für das Auftreten eines PIHs genannte Einflussgrößen (zum Beispiel Erstparität, mütterliches Alter >35 Jahre, ein präexistenter Hypertonus, ein PIH oder eine Thrombose in der Vorgeschichte) zeigten sich wegen dem Mangel an signifikanten

Unterschieden zwischen den Subgruppen nicht zugleich auch als begünstigende Parameter für eine PIH-Exazerbation.

Die im Rahmen der laborchemischen Untersuchungen beobachteten signifikant höheren CRP-Werte bei Patientinnen mit einem HELLP-Syndrom im Vergleich zu Frauen mit einem SIH oder einer Präeklampsie, die möglicherweise durch die systemische inflammatorische Reaktion bei PIH bedingt sind, zeigten sich in unserem Kollektiv schon bei Klinikaufnahme. Ebenso wurden erst leicht erniedrigten Thrombozytenwerte und mäßig erhöhten Werte von GOT, GPT und der aPTT schon vor dem Eintritt einer klinischen HELLP-Symptomatik beobachtet und so könnte die Konstellation dieser laborchemischen Parameter bei SIH- und Präeklampsie-Patientinnen hinweisend auf eine drohende Exazerbation sein.

Präeklampsie-Patientinnen zeigten innerhalb des Kollektivs zwar signifikant höhere diastolische Blutdruckwerte sowie eine hohe Intensivpflichtigkeit, allerdings war ihr „outcome“ im Vergleich zu Patientinnen mit einem HELLP-Syndrom mit niedrigeren Blutdruckwerten signifikant besser. In den Leitlinien werden im Rahmen der PIH-Therapie zur individuellen Verlaufsbeobachtung der Erkrankungen konsequente Blutdruckmessungen empfohlen, wobei es gemäß dieser Studie auch bei sehr hohen Blutdruckwerten nicht zwangsläufig zu einer Exazerbation des PIHs kommen muss. Die quantitative Beurteilung der Blutdruckwerte scheint somit als Warnhinweis auf einen fulminanten Krankheitsverlauf nicht als alleiniger Entscheidungsparameter für das intrahospitale Management wertbar zu sein, sondern erlangt erst über die zusätzliche Analyse weiterer laborchemischer Parameter (wie zum Beispiel der CRP- und Transaminasen-Werte) genügend Aussagekraft, um Änderungen in der Therapie und im weiteren klinischen Vorgehen davon abhängig machen zu können.

Postpartal konnte eine positive Korrelation zwischen der Krankheitsausprägung und der Aufenthaltsdauer auf Intensivstation sowie des gesamtstationären Verlaufs mit einer höheren Verweildauer bei Patientinnen mit einem HELLP-Syndrom im Vergleich zu SIH- und Präeklampsie-Patientinnen beobachtet werden. Obwohl das Auftreten postpartaler Komplikationen (atonische Nachblutungen, operative Revisionen oder Wundheilungsstörungen) im HELLP-Kollektiv nicht signifikant erhöht war, zeigte sich anhand des klinischen Verlaufs, dass in Bezug auf maternale Bedürfnisse die Betreuung der an einem exazerbierten PIH (Eklampsie, HELLP-Syndrom) erkrankten Patientinnen in einem intensivmedizinischen Zentrum empfehlenswert zu sein scheint.

4.1.2. Fetale und kindliche Daten

Anhand der nach Perzentilenverteilungen beurteilten pränatalen fetometrischen Diagnostik konnte in keiner der fetalen Subgruppen ein signifikant häufigeres Auftreten einer IUGR oder einer pathologischen Dopplermessung der A. umbilicalis nachgewiesen werden, welche zwar als Diagnostikum für das Erkrankungsrisiko eines PIHs gelten, jedoch scheinbar nicht zugleich auch eine Aussage über das maternale Exazerbationsrisiko zulassen.

Die insgesamt im Kollektiv beobachtete Frühgeburtlichkeit führte zu einem durchschnittlich hypotrophen kindlichen Kollektiv, wobei sich eine negative Korrelation zwischen Schwere der maternalen Erkrankung und der kindlichen Maße (Geburtsgewicht, Größe und KU) beziehungsweise der Apgar-Werte zeigte. Kinder von SIH-Patientinnen mit signifikant höherer Gravitätäsdauer wiesen im Vergleich zu Neugeborenen von HELLP-Patientinnen signifikant günstigere Werte der Apgar-Beurteilung bis zur fünften Lebensminute auf, wobei sich bei der Analyse der Neugeborenen nach 10 Minuten diese Beobachtung relativierte und alle Untergruppen eine annähernd gleich gute Adaption aufwiesen. Dies könnte einerseits durch eine verzögerte, aber gute postnatale Anpassung der Kindern von HELLP-Patientinnen oder andererseits durch ihr gutes Ansprechen auf die signifikant häufiger notwendige neonatale Therapie (NVK, cPap-Beatmung und Intubation) bedingt sein.

Die Analyse der fetalen und kindlichen Daten zeigte, dass die pränatale, sonographische Diagnostik keine Aussage über das maternale Exazerbationsrisiko zulässt. Wegen der unabhängig von der maternalen Erkrankung im gesamten kindlichen Kollektiv überdurchschnittlich häufig notwendigen pädiatrisch-intensivmedizinische Versorgung scheint in Anbetracht des kindlichen Bedarfs, im Vergleich zur alleinigen Betrachtung der maternalen Beobachtungseinheit, nicht nur die Betreuung der Patientinnen mit einem exazerbierten PIH, sondern aller Patientinnen mit einem Schwangerschaftshypertonus in Perinatalzentren mit neonataler Maximalversorgung empfehlenswert zu sein.

4.2. Genanalyse

Der Hauptaspekt der Pathophysiologie des PIHs ist eine Dysbalance zwischen pro- und antiangiogenetischen endothelialen und plazentaren Wachstumsfaktoren mit der Folge einer gestörten Trophoblasteninvasion [120, 151] und einer konsekutiven plazentaren Hypoxie, die über die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine zu einer systemischen endothelialen Dysfunktion führt [152-154]. Da Leptin und PPAR γ die systemische Inflammation, den intakten Gefäßstatus und die plazentare Entwicklung beeinflussen können, wurde vermutet, dass Polymorphismen im LEP-, LEPR- und PPARG2-Gen eine Assoziation zur Entwicklung

einer Präeklampsie haben (Abbildung 3, Seite 25). Die Analyse der Polymorphismus-Inzidenzen im Patientinnen- und im Kontrollkollektiv sollte ihre Rolle als mögliche Risikofaktoren für das Auftreten oder die Exazerbation eines PIHs klären sowie unabhängig von der vorliegenden Erkrankung einen möglichen Einfluss auf klinische maternale Parameter darstellen.

4.2.1. Leptin und der Tetranukleotidrepeat *Lep(TTTC)_n*

Das Auftreten des erstmalig 2002 beschriebenen Polymorphismus *Lep(TTTC)_n* der 3'-Region des Leptingens (Genlokus 7q31.3–32.1 [155]) scheint sowohl Zytokin- (zum Beispiel von IL-6 und TNF α) und Leptinkonzentrationen im Serum als auch beim essentiellen Hypertonus die Höhe des Blutdrucks beeinflussen zu können. So wurde in dieser Studie für den PIH eine Mitursache dieses Polymorphismus über seinen Einfluss auf die systemische Inflammation und die Begünstigung einer Hypertension angenommen und dies anhand der semiquantitativen Einteilung des Tetranukleotids mit einem eindeutigen analogen *cutoff* bei 190 bp (Typ I < 190 bp, Typ II > 190 bp) untersucht [150].

Da sich für das Typ I-Allel (I/I und I/II) im Vergleich zum Genotypen II/II in internistischen Studien ein signifikant häufigeres Auftreten von Hypertonus sowie einer erhöhten TNF α -Serumkonzentration ergab [156, 157], zeigen sich Gemeinsamkeiten zu pathophysiologischen Ereignissen der PIH-Genese. Falls eine Übertragung dieser internistischen Ergebnisse auf ein geburtshilfliches Kollektiv möglich ist, müsste das Typ I-Allel bei Patientinnen mit einer hypertensiven Schwangerschaftserkrankung gehäuft beobachtet werden und so eventuell die erhöhten Zytokinkonzentrationen und Blutdruckwerte erklärt werden können. Wegen dem Mangel einer signifikant erhöhten Inzidenz des Genotyps I im Patientinnen-Kollektiv konnte diese Vermutung jedoch nicht bestätigt und eine Verknüpfung der Pathophysiologien von essentiellen und Schwangerschaftshypertonus über das Auftreten des Typ I-Allels im *Lep(TTTC)_n*-Polymorphismus nicht nachgewiesen werden.

Der Genotyp II des Leptin-Tetranukleotidrepeats, der mit einer erhöhten Anzahl an (TTTC)-Wiederholungen einhergeht, zeigt durch eine Erhöhung der Hormon-Serumspiegel einen Einfluss auf transiente Hyperleptinämien, welche wiederum konsekutiv mit hypertensiven Blutdruckwerten assoziiert sind [156]. Es wurde vermutet, dass die beim PIH im Vergleich zum physiologischen Graviditätsverlauf beobachteten signifikant höheren Leptin-Serumspiegel möglicherweise durch eine erhöhte Inzidenz des Typs II verursacht werden und folglich zu hypertensiven Blutdruckwerten in der Schwangerschaft führen. Unsere Ergebnisse zeigten, dass gegensätzlich dazu in der Subgruppe mit den höchsten Blutdruckwerten

(Präeklampsie-Kollektiv) der Typ I relativ, jedoch nicht signifikant am häufigsten auftrat. Anhand der Inzidenzen der Genotypen innerhalb der Beobachtungseinheiten konnte die These einer durch den *Lep(TTTC)_n*-Polymorphismus bedingten Hyperleptinämie mit darauf folgender Hypertonie nicht gesichert werden.

Die statistische Auswertung einer geburtshilflichen Studie an einem kaukasischen Kollektiv konnte für den heterozygoten Genotyp I/II ein statistisch 3,8fach erhöhtes Risiko für das Auftreten eines PIHs belegen [157]. Unserer Analyse zeigte jedoch für keine der genetischen Substitutionen ein derart deutlich erhöhtes Erkrankungs- oder Exazerbationsrisiko (OR (Typ I)= 0.94, OR (Typ II) = 1.3).

Ein Einfluss des Polymorphismus *Lep(TTTC)_n* auf PIH scheint weder über die Initiation einer Hyperleptinämie mit folglich Hypertension noch über eine verstärkte systemische Inflammation mit erhöhten TNF α -Konzentrationen erklärbar zu sein. Widersprüchliche Ergebnisse zu bestehenden Studien sind vermutlich durch differierende Fallzahlen (n=210 [158] im internistischen Kollektiv, n=40 im reinen Präeklampsie-Kollektiv [157] und n=103 in unserem Kollektiv) oder durch klinische und ethische Differenzen der Beobachtungseinheiten begründet (kaukasische geburtshilfliche PIH-Patientinnen im Gegensatz zu einem reinen Präeklampsie- [157] und einem lateinamerikanischen beziehungsweise asiatischen, gemischt-geschlechtlichen, internistischen Kollektiv [156, 158]). Gerade in Anbetracht der für verschiedene ethnische Gruppierungen charakteristische Verteilung der Anzahlen an (*TTTC*)-Wiederholungen im Leptingen [159] ist der Vergleich der Studien schwierig. Zusammenfassend lässt sich anhand des untersuchten Kollektivs weder eine direkte noch eine indirekte Assoziation zwischen einem Vorliegen des Polymorphismus *Lep(TTTC)_n* und dem Risiko für das Auftreten oder die Exazerbation eines PIHs belegen.

4.2.2. LEPR und der Polymorphismus R223Q

Das Hormon Leptin vermittelt seine Wirkung über die Bindung an den Leptinrezeptor, der während einer Schwangerschaft auch plazentar transkribiert wird. Missense-Mutationen im *LepR*-kodierenden Gen (Genlokus 1p31), wie zum Beispiel der Aminosäureaustausch von Arginin (R) zu Glutamin (Q) (CGG \rightarrow CAG) im Codon 223, könnten über eine Dysfunktion des Rezeptors zu Konzentrationsänderungen des Peptidhormons Leptin führen [160], was über verschiedene *feedback*-Mechanismen mit einer Inflammation und einer Hypertension assoziiert sein kann.

Internistische Studien belegen für den *LepR*-Polymorphismus in der homozygoten Form 223QQ im Vergleich zu seinem Wildtyp 223RR eine abweichenden Leptin-Bindungsaktivität

mit darauf folgender Erhöhung der Plasma-Leptinkonzentration [161, 162], was über die Initiation einer Hyperleptinämie zu hypertensiven Blutdruckwerten führen kann [113]. Übertragen auf das geburtshilfliche Kollektiv mit PIH, der eine Erkrankungen mit erhöhten Leptin-Serumspiegeln und Hypertonus darstellt, müsste somit der homozygote Polymorphismus 223QQ bei erkrankten Patientinnen gehäuft auftreten. Bestätigt werden konnte diese vermutete Assoziation in unserer Studie nicht, wobei der Wildtyp 223RR bei PIH-Patientinnen sogar häufiger als in der Kontrollgruppe beobachtet wurde. Die internistische Beschreibung des Wildtyps 223RR als protektiven Faktor vor Hypertonus konnten somit nicht auf das geburtshilfliche Kollektiv mit PIH übertragen werden.

Für das R-Allel (Genotypen 223RR und R223Q) wurde allerdings auch eine Assoziation zu erhöhten LDL- und Cholesterol-Serumspiegeln beschrieben, was nicht nur ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko im Vergleich zu Trägern des Genotyps 223QQ, sondern auch ein zweifach erhöhtes Risiko für das Auftreten einer Präeklampsie zu bedingen scheint. Diese Substitution könnte somit über eine Schädigung der maternalen Spiralarterien zur Progression des PIHs im Rahmen einer Exazerbation führen [163]. Unser Kollektiv zeigte zwar tatsächlich die höchste relative Inzidenz des R-Allels beim HELLP-Syndrom, welches einen exazerbierten PIH darstellt, jedoch konnte dieses Allel mangels eines signifikanten Unterschieds zwischen den einzelnen Subgruppen nicht eindeutig als genetischer Risikofaktor für die Exazerbation eines PIHs beschrieben werden. Als möglicher *confounder* und als Ursache für die Diskrepanz zu internistischen Ergebnissen sind das heterogene Patientenklientel aus SIH-, Präeklampsie-, Eklampsie- und HELLP-Patientinnen sowie möglicherweise eine in der Schwangerschaft abweichende und hormonellen oder geschlechtsabhängigen Einflüssen unterliegende Funktion des Leptinrezeptors anzusehen.

4.2.3. PPAR γ 2 und Polymorphismus P12A

Als Matrize für die Transkription PPAR γ 2-Rezeptor dient die genetischen Sequenz des PPAR γ 2-Gens mit dem Genlokus 3p25 [123]. Im Codon 12 kann der Prolin zu Alanin-Polymorphismus (CCA \rightarrow GCA) [136], der in der kaukasischen Bevölkerung mit einer Inzidenz von 12% auftritt [131, 136], zu einer reduzierten Transkription des Rezeptors [164, 165] mit einer verminderten Fettmassen-Akkumulation und einer verstärkten Insulinsensitivität führen [164, 166], wodurch ihm vor allem in der homozygoten Substitution 12AA eine Rolle als protektiver Faktor gegen Adipositas, Diabetes mellitus Typ II und Arteriosklerose zugesprochen wird [131].

Der aktuelle Stand der Forschung belegt für die Pathophysiologie des PIHs unter anderem einen Arteriosklerose-ähnliche Prozess der plazentaren Arterien, der vermutlich auch das erhöhte Risiko für die Entwicklung einer kardiovaskulären Erkrankung nach der Schwangerschaft bedingt [21]. Internistische Studien zeigten eine Assoziation zwischen einem erhöhten kardiovaskulären Risiko und dem Genotyp 12PP, wobei dies nicht auf das geburtshilfliche Kollektiv im Sinne einer Assoziation zwischen dem Wildtyp 12PP und dem Auftreten oder der Exazerbation eines PIHs übertragen werden kann. Der Genotyp 12AA, der vor internistischen arteriosklerotischen Krankheiten zu schützen scheint, wurde zwar in unserem Patientenkollektiv mit einer Inzidenz von nur 1% im Vergleich zu Literaturangaben (Inzidenz 12%) insgesamt sehr selten beobachtet [131, 136], allerdings zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied, der diese Substitution auch als protektiven Faktor vor einem PIH in der Schwangerschaft beziehungsweise vor einem erhöhten kardiovaskulären Risiko nach der Schwangerschaft bestätigen würde.

Das Auftreten des heterozygoten Polymorphismus P12A wurde zwar in internistischen Studien mit signifikant erhöhten diastolischen und mittleren arteriellen Werten in 24-Stunden-Blutdruckmessungen assoziiert [167], scheint aber in der Schwangerschaft über die Blockade von PPAR γ 2 zu einer verbesserten und somit physiologischen Trophoblasteninvasion zu führen [142]. Die Hypothese, dass diese Substitution bei PIH mit einer mangelhaften Trophoblasteninvasion seltener zu beobachten sein müsste, konnte in unserer Studie wegen dem Mangel eines signifikanten Unterschieds zwischen den Subgruppen nicht bestätigt werden.

In der Literatur finden sich vielerlei Daten, die einen Einfluss von PPAR γ 2 auf die Pathophysiologie des PIHs vermuten lassen, in unserer Studie konnten wir allerdings keine Belege erbringen, die einen Einfluss des Polymorphismus P12A auf hypertensive Schwangerschaftserkrankungen über eine verstärkte Arterogenese, eine gestörte Invasion des Trophoblasten oder über eine direkte Erhöhung des Blutdrucks bestätigen. Die Inzidenzen der Substitutionen zeigten zwischen den Subgruppen keine signifikanten Unterschiede und so scheint die genetische Substitution P12A nicht als Risikofaktor für das Auftreten oder die Exazerbation eines PIHs gewertet werden zu können.

4.3. Zusammenhang zwischen Polymorphismen und klinischen Parametern

4.3.1. *Lep(TTTC)_n*

Beim Vorliegen des Typs I des Tetranukleotidrepeats (*TTTC*)_n im Leptingen wurde für ein internistisches, brasilianisches Kollektiv eine Assoziation zu Fettleibigkeit und erhöhten BMI-

Werten beschrieben [158], was im geburtshilflichen PIH-Kollektiv weder in Hinblick auf den BMI vor der Schwangerschaft oder präpartal, noch durch eine signifikant höhere Gewichtszunahme in der Schwangerschaft bestätigt werden konnte.

Die dokumentierten Blutdruckwerte zeigten im PIH-Kollektiv in ihrer Höhe keine Abhängigkeit vom Typ II des Leptingen-Polymorphismus, was im Vorfeld der Untersuchungen wegen seiner Assoziation zu Hyperleptinämie und hypertensiven Blutdruckwerten [156] vermutet wurde.

Die pathophysiologischen Vorgänge, die der Polymorphismus *Lep(TTTC)_n* im internistischen Kollektiv zu beeinflussen vermag, scheinen nicht auf die PIH-Pathophysiologie übertragbar zu sein. Als mögliche Ursache muss die für verschiedenen ethnischen Gruppierungen charakteristische Verteilung der Tetranukleotid-Wiederholung und eine unterschiedlichen Ursachen zugrundeliegende pathogenetische Entwicklung von essentiellen und schwangerschaftsbedingten Hypertonus bedacht werden.

4.3.2. LEPR R223Q

In der Analyse des LEPR R223Q-Polymorphismus zeigte die einzige Übereinstimmung von internistischen [113] und geburtshilflichen Ergebnissen bezüglich erhöhter Blutdruckwerte beim Vorliegen des Q-Allels. Trägerinnen der 223QQ-Substitution hatten einen signifikant höheren postpartalen diastolischen Blutdruck und beim Zusammenschluss aller Q-Allel-Trägerinnen (R223Q und 223QQ) im Vergleich zum 223RR-Genotyp zeigte sich unabhängig von der vorliegenden Subgruppe der Erkrankung ein entsprechendes Ergebnis für die präpartalen systolischen und diastolischen Blutdruckwerte. Erklärt werden könnte dies durch eine Rezeptordysfunktion, die durch mangelnde Signalantwort auf hormonelle Reize die vermehrte Sekretion von Leptin bedingt und über eine Hyperleptinämie zur Hypertension führt. Dennoch sollte hierbei der Mangel an längerfristigen Daten und ein Hormon-Serumspiegeln im Rahmen von 24h-Blutdruckmessungen als möglicher *confounder* bedacht werden.

PIH-Patientinnen, die die Substitution R223Q aufwiesen zeigten postpartal signifikant häufiger eine Wundheilungsstörung, was möglicherweise durch eine Rezeptordysfunktion beim Vorliegen des Polymorphismus R223Q bedingt sein könnte, da das alleinige Auftreten des Polymorphismus *Lep(TTTC)_n* mit einer abweichenden Funktion des Hormons Leptin nicht mit einer erhöhten postpartalen Wundkomplikation assoziiert war. Die beim Vorliegen des Q-Allels (R223Q und 223QQ) im Vergleich zum Wildtyp 223RR schon präpartal signifikant erhöhten CRP-Werte machen zudem einen Einfluss des Rezeptors auf die Inflammation im

Rahmen eines PIHs wahrscheinlich, was möglicherweise mit der vermehrten postpartalen Wundheilungsstörung in Verbindung steht.

Zusammenfassend scheint die Q-Substitution, also das Auftreten des Polymorphismus im Codon 223 des LEPR-Gens, mit prä- und postpartalen Blutdruckwerten assoziiert zu sein. Der Nachweis, ob der Polymorphismus tatsächlich auch maßgeblich an einer postpartalen Wundheilungsstörung und im Rahmen der erhöhten CRP-Sekretion vor der Geburt an der systemischen Inflammation beteiligt ist, sollte weiteren Untersuchungen vorbehalten sein.

4.3.3. PPARG2 P12A

Die für die homozygote Alanin-Substitution im PPARG2-Gen beschriebene Assoziation zu einem höheren diastolischen und mittleren arteriellen Blutdruck und niedrigeren Werten bei P12A [167] im internistischen Kollektiv konnte bei geburtshilflichen Patientinnen nicht bestätigt werden. Vermutlich sind auch hier die unterschiedlichen ethnischen Zusammensetzungen der Studienkollektive ursächlich für die konträren Ergebnisse. Eine möglicherweise hormonellen Schwankungen unterliegende Physiologie und Transkription des Rezeptors sollte zusätzlich bedacht werden.

4.4. Ausblick für Forschung und Klinik

Die statistische Analyse des PIH-Kollektivs in unserer Studie zeigte, dass bekannte anamnestische und klinische Risikofaktoren für das Auftreten eines PIHs nicht zugleich auch als Risikofaktoren für eine Krankheitsexazerbation gelten und wegen dem Mangel an signifikanten Unterschieden zwischen den Inzidenzen der Polymorphismen *Lep(TTTC)_n*, LEPR R223Q und PPARG2 P12A kann ihr Nachweis nicht als genetisches Diagnostikum zur Beratung der Patientinnen über ein Exazerbationsrisiko herangezogen werden.

Da sich dennoch unabhängig von der vorliegenden Erkrankung ein Einfluss der genetischen Substitutionen auf klinische Parameter zeigte, zum Beispiel ein erhöhter Blutdruck bei Trägerinnen des Q-Allels im LepR-Polymorphismus LepR R223Q, kann eine Assoziation der genetischen Varianten zur Pathophysiologie eines PIHs nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Die im Vergleich zu internistischen Studien mit gemischtgeschlechtlichen Kollektiven zum Teil auftretenden konträren Ergebnisse belegen die unterschiedliche Pathogenese von essentiellen Hypertonus und PIH und machen eine geschlechtsspezifische Rezeptor- und Proteineigenschaft wahrscheinlich, die vermutlich zudem in der Schwangerschaft hormonellen Schwankungen unterliegt.

Es scheint sinnvoll zu sein, Korrelationen zwischen den untersuchten Polymorphismen und klinischen Parametern in Studienkollektiven mit höheren Fallzahlen und unter Verwendung der reproduktionsfähigen und störungsunanfälligen 24h-Blutdruckmessung zu untersuchen. Auch die Hormonbestimmung von Leptin, Östrogen, Progesteron und eventuell β HCG im zeitlichen Zusammenhang mit klinischen und laborchemischen Parametern könnte weitere pathophysiologische Zusammenhänge und Assoziationen im Leptin-PPAR γ 2-Kreislauf bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen belegen.

V. Zusammenfassung

Das Hormon Leptin, sein Rezeptor und PPAR γ 2 stellen in einem Regelkreislauf verbundene Proteine dar, für die in verschiedenen Studien Einflüsse auf die Genese von essentiellen Hypertonus beschrieben werden. Eine Veränderung ihrer physiologischen Funktion durch das Auftreten von genetischen Polymorphismen zeigen hingegen Gemeinsamkeiten zur Pathophysiologie des Hypertonus in der Schwangerschaft auf.

Die Fragestellung der Arbeit war, ob die Polymorphismen *Lep(TTTC)_n*, LEPR R223Q und PPARG2 P12A einen Einfluss auf das Auftreten beziehungsweise die Exazerbation von hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen oder auf klinische Parameter im Rahmen ihres Verlaufs haben und die familiär gehäufte Inzidenz von PIH so erklärt werden kann. Die Inzidenzen der drei Polymorphismen wurden bei 103 Patientinnen mit einem PIH (SIH, Präeklampsie, Eklampsie oder HELLP-Syndrom) unter Verwendung der Polymerase-Ketten-Reaktion und der RFLP-Analyse ermittelt und mit jenen von 100 Kontrollen mit mindestens einem Kind und einer unauffälligen Anamnese bezüglich Aborten oder PIH verglichen.

Eine Assoziation zwischen dem Auftreten einer bestimmten genetischen Substitution und einem erhöhten Erkrankungs- beziehungsweise Exazerbationsrisiko in eine Eklampsie oder ein HELLP-Syndrom konnte wegen dem Mangel an signifikanten Unterschieden nicht bestätigt werden. Bei der Analyse der klinischen Parameter konnte aber übereinstimmend mit internistischen Studien beim Vorliegen des Q-Allels im Codon 223 des LEPR-Gen ein signifikant höherer Blutdruck nachgewiesen werden als beim Vorliegen des Wildtyps (223RR), der eventuell über eine durch den Polymorphismus veränderte Rezeptorfunktion mit konsekutiver Initiation einer Hyperleptinämie verursacht sein könnte.

Die sich im Vergleich zu internistischen Studien bei Patienten mit einem essentiellen Hypertonus zeigten widersprüchliche Ergebnisse bezüglich des Einflusses der Polymorphismen auf klinische Parameter legen nahe, dass die physiologische Funktion von Leptin, LepR und PPAR γ 2 ätiologischen, ethnischen, geschlechtlichen und hormonellen Einflüssen in der Schwangerschaft unterliegt.

In weiteren Untersuchungen zu Assoziationen zwischen dem Leptin-PPAR γ 2-Kreislauf und PIH sollten simultan Molekulargenetik und Symptomatik beobachtet werden, wobei vor allem der zeitliche Zusammenhang zwischen der individuellen Klinik der Patientin und Leptin-, PPAR γ -, Östrogen-, Progesteron- und β HCG-Spiegeln im Serum weitere Aufschlüsse über die Pathophysiologie von PIH belegen könnte. Die Erweiterung des Kollektivs auf höhere Fallzahlen scheint sinnvoll, um betroffenen Patientinnen eine bessere Beratung über das Erkrankungs-, Exazerbations- und Wiederholungsrisiko eines PIHs anbieten zu können.

VI Literaturverzeichnis

1. Durig, P., C. Ferrier, and H. Schneider, [*Hypertensive disorders in pregnancy*]. *Ther Umsch*, 1999. **56**(10): p. 561-71.
2. Toth, B., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptors: new players in the field of reproduction*. *Am J Reprod Immunol*, 2007. **58**(3): p. 289-310.
3. *Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy*. *Am J Obstet Gynecol*, 2000. **183**(1): p. S1-S22.
4. Paruk, F. and J. Moodley, *Maternal and neonatal outcome in early- and late-onset pre-eclampsia*. *Semin Neonatol*, 2000. **5**(3): p. 197-207.
5. Roberts, J.M. and H.S. Gammill, *Preeclampsia: recent insights*. *Hypertension*, 2005. **46**(6): p. 1243-9.
6. Duley, L., *Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean*. *Br J Obstet Gynaecol*, 1992. **99**(7): p. 547-53.
7. Noris, M., N. Perico, and G. Remuzzi, *Mechanisms of disease: Pre-eclampsia*. *Nat Clin Pract Nephrol*, 2005. **1**(2): p. 98-114; quiz 120.
8. Delmis, J., [*Hypertension in pregnancy*]. *Lijec Vjesn*, 2006. **128**(11-12): p. 357-68.
9. Villar, M.A. and B.M. Sibai, *Eclampsia*. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 1988. **15**(2): p. 355-77.
10. Sibai, B.M., *Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia*. *Obstet Gynecol*, 2003. **102**(1): p. 181-92.
11. Brown, M.A., et al., *The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP)*. *Hypertens Pregnancy*, 2001. **20**(1): p. IX-XIV.
12. Lindheimer MD, K.A., *The renal response to pregnancy*. In: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. Raven Press, 1992. **2nd ed.**: p. 1762 - 1815.
13. Mattar, F. and B.M. Sibai, *Eclampsia. VIII. Risk factors for maternal morbidity*. *Am J Obstet Gynecol*, 2000. **182**(2): p. 307-12.
14. Weinstein, L., *Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy*. *Am J Obstet Gynecol*, 1982. **142**(2): p. 159-67.
15. Gilstrap LC III, R.S., *Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia*. *Int J Obstet Gynecol*, 2002. **77**: p. 67-75.
16. Anumba, D.O. and S.C. Robson, *Management of pre-eclampsia and haemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome*. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 1999. **11**(2): p. 149-56.
17. Rath, W., W. Loos, and W. Kuhn, [*HELLP syndrome*]. *Zentralbl Gynakol*, 1994. **116**(4): p. 195-201.
18. Port, J.D. and N.J. Beauchamp, Jr., *Reversible intracerebral pathologic entities mediated by vascular autoregulatory dysfunction*. *Radiographics*, 1998. **18**(2): p. 353-67.
19. Saleh, A.A., et al., *Markers for endothelial injury, clotting and platelet activation in preeclampsia*. *Arch Gynecol Obstet*, 1992. **251**(3): p. 105-10.
20. Stubbs, T.M., et al., *Evidence of accelerated platelet production and consumption in nonthrombocytopenic preeclampsia*. *Am J Obstet Gynecol*, 1986. **155**(2): p. 263-5.
21. Sibai, B.M., et al., *Maternal-perinatal outcome associated with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia-eclampsia*. *Am J Obstet Gynecol*, 1986. **155**(3): p. 501-9.
22. Reubinoff, B.E. and J.G. Schenker, *HELLP syndrome--a syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count--complicating preeclampsia-eclampsia*. *Int J Gynaecol Obstet*, 1991. **36**(2): p. 95-102.
23. Li, D.K. and S. Wi, *Changing paternity and the risk of preeclampsia/eclampsia in the subsequent pregnancy*. *Am J Epidemiol*, 2000. **151**(1): p. 57-62.
24. Barden, A.E., et al., *Does a predisposition to the metabolic syndrome sensitize women to develop pre-eclampsia?* *J Hypertens*, 1999. **17**(9): p. 1307-15.
25. Duckitt, K. and D. Harrington, *Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies*. *Bmj*, 2005. **330**(7491): p. 565.

26. Kupferminc, M.J., et al., *Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy*. N Engl J Med, 1999. **340**(1): p. 9-13.
27. Walker, J.J., *Pre-eclampsia*. Lancet, 2000. **356**(9237): p. 1260-5.
28. Wolf, M., et al., *First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia: a prospective study*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(4): p. 1563-8.
29. Dekker, G. and P.Y. Robillard, *The birth interval hypothesis-does it really indicate the end of the primipaternity hypothesis*. J Reprod Immunol, 2003. **59**(2): p. 245-51.
30. Solomon, C.G. and E.W. Seely, *Brief review: hypertension in pregnancy : a manifestation of the insulin resistance syndrome?* Hypertension, 2001. **37**(2): p. 232-9.
31. Dekker, G. and B. Sibai, *Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia*. Lancet, 2001. **357**(9251): p. 209-15.
32. O'Shaughnessy, K.M., et al., *Factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in an East Anglian preeclampsia cohort*. Hypertension, 1999. **33**(6): p. 1338-41.
33. Morgan, T. and K. Ward, *New insights into the genetics of preeclampsia*. Semin Perinatol, 1999. **23**(1): p. 14-23.
34. Barden, A., *Pre-eclampsia: contribution of maternal constitutional factors and the consequences for cardiovascular health*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2006. **33**(9): p. 826-30.
35. Schmidt, M. and R. Kimmig, *[Pathophysiology of preeclampsia]*. Gynakol Geburtshilfliche Rundsch, 2007. **47**(4): p. 199-204.
36. Kadyrov, M., et al., *Pre-eclampsia and maternal anaemia display reduced apoptosis and opposite invasive phenotypes of extravillous trophoblast*. Placenta, 2003. **24**(5): p. 540-8.
37. Pijnenborg, R., et al., *Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy*. Br J Obstet Gynaecol, 1991. **98**(7): p. 648-55.
38. Jauniaux, E., et al., *Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies*. Am J Pathol, 2003. **162**(1): p. 115-25.
39. Hustin, J., E. Jauniaux, and J.P. Schaaps, *Histological study of the materno-embryonic interface in spontaneous abortion*. Placenta, 1990. **11**(6): p. 477-86.
40. Endresen, M.J., B. Lorentzen, and T. Henriksen, *Increased lipolytic activity and high ratio of free fatty acids to albumin in sera from women with preeclampsia leads to triglyceride accumulation in cultured endothelial cells*. Am J Obstet Gynecol, 1992. **167**(2): p. 440-7.
41. Redman, C.W., G.P. Sacks, and I.L. Sargent, *Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 1999. **180**(2 Pt 1): p. 499-506.
42. Conde-Agudelo, A., J. Villar, and M. Lindheimer, *World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia*. Obstet Gynecol, 2004. **104**(6): p. 1367-91.
43. Yu, C.K., et al., *An integrated model for the prediction of preeclampsia using maternal factors and uterine artery Doppler velocimetry in unselected low-risk women*. Am J Obstet Gynecol, 2005. **193**(2): p. 429-36.
44. W. Rath , T.F., W. Klockenbusch *Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Schwangerschaftshochdruck/Gestose der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. (DGGG)*. 2008, Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF).
45. Murakami, S., et al., *Renal disease in women with severe preeclampsia or gestational proteinuria*. Obstet Gynecol, 2000. **96**(6): p. 945-9.
46. Lachmeijer, A.M., et al., *Searching for preeclampsia genes: the current position*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2002. **105**(2): p. 94-113.
47. Alfirevic, Z., D. Roberts, and V. Martlew, *How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2002. **101**(1): p. 6-14.
48. Brown, M.A., et al., *Randomised trial of management of hypertensive pregnancies by Korotkoff phase IV or phase V*. Lancet, 1998. **352**(9130): p. 777-81.
49. Brown, M.A., G.K. Davis, and L. McHugh, *The prevalence and clinical significance of nocturnal hypertension in pregnancy*. J Hypertens, 2001. **19**(8): p. 1437-44.
50. Phelan, L.K., et al., *A prospective study of the impact of automated dipstick urinalysis on the diagnosis of preeclampsia*. Hypertens Pregnancy, 2004. **23**(2): p. 135-42.

51. Knight, M., et al., *Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia*. Cochrane Database Syst Rev, 2000(2): p. CD000492.
52. Poston, L., et al., *Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-controlled trial*. Lancet, 2006. **367**(9517): p. 1145-54.
53. Rumbold, A.R., et al., *Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications*. N Engl J Med, 2006. **354**(17): p. 1796-806.
54. Redman, C.W., *Fetal outcome in trial of antihypertensive treatment in pregnancy*. Lancet, 1976. **2**(7989): p. 753-6.
55. Duley, L., S. Meher, and E. Abalos, *Management of pre-eclampsia*. Bmj, 2006. **332**(7539): p. 463-8.
56. Abalos, E., et al., *Antihypertensive drug therapy for mild to moderate hypertension during pregnancy*. Cochrane Database Syst Rev, 2001(2): p. CD002252.
57. von Dadelszen, P., et al., *Fall in mean arterial pressure and fetal growth restriction in pregnancy hypertension: a meta-analysis*. Lancet, 2000. **355**(9198): p. 87-92.
58. Redman, C.W. and J.M. Roberts, *Management of pre-eclampsia*. Lancet, 1993. **341**(8858): p. 1451-4.
59. Ganzevoort, W., et al., *A randomised controlled trial comparing two temporising management strategies, one with and one without plasma volume expansion, for severe and early onset pre-eclampsia*. Bjog, 2005. **112**(10): p. 1358-68.
60. Westergaard, H.B., et al., *A critical appraisal of the use of umbilical artery Doppler ultrasound in high-risk pregnancies: use of meta-analyses in evidence-based obstetrics*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2001. **17**(6): p. 466-76.
61. Schussling, G. and J. Gutschmidt, *[HELLP syndrome as a threatening postpartum complication]*. Zentralbl Gynakol, 1991. **113**(14): p. 841-4.
62. Mihu, D., et al., *HELLP syndrome - a multisystemic disorder*. J Gastrointestin Liver Dis, 2007. **16**(4): p. 419-24.
63. Dukler, D., et al., *Remote prognosis of primiparous women with preeclampsia*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2001. **96**(1): p. 69-74.
64. van Rijn, B.B., et al., *Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early-onset preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2006. **195**(3): p. 723-8.
65. Beltowski, J., *Role of leptin in blood pressure regulation and arterial hypertension*. J Hypertens, 2006. **24**(5): p. 789-801.
66. Brann, D.W., et al., *Leptin and reproduction*. Steroids, 2002. **67**(2): p. 95-104.
67. Sinha, M.K., et al., *Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting*. J Clin Invest, 1996. **98**(6): p. 1277-82.
68. Chen, H., et al., *Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice*. Cell, 1996. **84**(3): p. 491-5.
69. Tartaglia, L.A., *The leptin receptor*. J Biol Chem, 1997. **272**(10): p. 6093-6.
70. Bajoria, R., et al., *Prospective function of placental leptin at maternal-fetal interface*. Placenta, 2002. **23**(2-3): p. 103-15.
71. Rahmouni, K. and W.G. Haynes, *Leptin and the cardiovascular system*. Recent Prog Horm Res, 2004. **59**: p. 225-44.
72. Maffei, M., et al., *Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects*. Nat Med, 1995. **1**(11): p. 1155-61.
73. Saad, M.F., et al., *Sexual dimorphism in plasma leptin concentration*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(2): p. 579-84.
74. Hauguel-de Mouzon, S., J. Lepercq, and P. Catalano, *The known and unknown of leptin in pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 2006. **194**(6): p. 1537-45.
75. Lord, G.M., et al., *Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression*. Nature, 1998. **394**(6696): p. 897-901.
76. Welt, C.K., et al., *Recombinant human leptin in women with hypothalamic amenorrhea*. N Engl J Med, 2004. **351**(10): p. 987-97.
77. Faggioni, R., et al., *Leptin-deficient (ob/ob) mice are protected from T cell-mediated hepatotoxicity: role of tumor necrosis factor alpha and IL-18*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(5): p. 2367-72.

78. Islami, D., P. Bischof, and D. Chardonens, *Possible interactions between leptin, gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-I and II) and human chorionic gonadotrophin (hCG)*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2003. **110**(2): p. 169-75.
79. Lappas, M., M. Permezel, and G.E. Rice, *Leptin and adiponectin stimulate the release of proinflammatory cytokines and prostaglandins from human placenta and maternal adipose tissue via nuclear factor-kappaB, peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma and extracellularly regulated kinase 1/2*. Endocrinology, 2005. **146**(8): p. 3334-42.
80. Chen, K., et al., *Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin*. Nat Med, 2006. **12**(4): p. 425-32.
81. Wellhoener, P., et al., *Glucose metabolism rather than insulin is a main determinant of leptin secretion in humans*. J Clin Endocrinol Metab, 2000. **85**(3): p. 1267-71.
82. Coleman, R.A. and T.S. Herrmann, *Nutritional regulation of leptin in humans*. Diabetologia, 1999. **42**(6): p. 639-46.
83. Fried, S.K., et al., *Regulation of leptin production in humans*. J Nutr, 2000. **130**(12): p. 3127S-3131S.
84. Wolf, G., et al., *Leptin stimulates proliferation and TGF-beta expression in renal glomerular endothelial cells: potential role in glomerulosclerosis [see comments]*. Kidney Int, 1999. **56**(3): p. 860-72.
85. Henson, M.C. and V.D. Castracane, *Leptin in pregnancy: an update*. Biol Reprod, 2006. **74**(2): p. 218-29.
86. Unkila-Kallio, L., et al., *Leptin during assisted reproductive cycles: the effect of ovarian stimulation and of very early pregnancy*. Hum Reprod, 2001. **16**(4): p. 657-62.
87. Tanaka, M., et al., *Effects of estrogen on serum leptin levels and leptin mRNA expression in adipose tissue in rats*. Horm Res, 2001. **56**(3-4): p. 98-104.
88. Harigaya, A., et al., *Relationship between concentration of serum leptin and fetal growth*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(10): p. 3281-4.
89. Koistinen, H.A., et al., *Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(10): p. 3328-30.
90. Schubring, C., et al., *Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(5): p. 1480-3.
91. Chan, T.F., et al., *Amniotic fluid and maternal serum leptin levels in pregnant women who subsequently develop preeclampsia*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2003. **108**(1): p. 50-3.
92. Masuzaki, H., et al., *Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans*. Nat Med, 1997. **3**(9): p. 1029-33.
93. Buhling, K.J., et al., *Independent association between leptin and blood pressure during third trimester in normal and gestational diabetic pregnancies*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2005. **119**(2): p. 180-4.
94. Challier, J., et al., *Placental leptin receptor isoforms in normal and pathological pregnancies*. Placenta, 2003. **24**(1): p. 92-9.
95. Peng, P., et al., *[Examining consecutively serum leptin levels in normal pregnant and pregnancy-induced hypertension women]*. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2002. **37**(9): p. 529-32.
96. Lolmede, K., et al., *Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2003. **27**(10): p. 1187-95.
97. Chung, W.K., et al., *Genomic structure of the human OB receptor and identification of two novel intronic microsatellites*. Genome Res, 1996. **6**(12): p. 1192-9.
98. Henson, M.C. and V.D. Castracane, *Leptin in pregnancy*. Biol Reprod, 2000. **63**(5): p. 1219-28.
99. Bjorbaek, C., et al., *Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels*. Endocrinology, 1998. **139**(8): p. 3485-91.
100. Vaisse, C., et al., *Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice*. Nat Genet, 1996. **14**(1): p. 95-7.
101. Niswender, K.D., et al., *Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia*. Nature, 2001. **413**(6858): p. 794-5.

102. Niswender, K.D. and M.W. Schwartz, *Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities*. Front Neuroendocrinol, 2003. **24**(1): p. 1-10.
103. Zhao, A.Z., et al., *A phosphatidylinositol 3-kinase phosphodiesterase 3B-cyclic AMP pathway in hypothalamic action of leptin on feeding*. Nat Neurosci, 2002. **5**(8): p. 727-8.
104. Bjorbaek, C., et al., *Divergent roles of SHP-2 in ERK activation by leptin receptors*. J Biol Chem, 2001. **276**(7): p. 4747-55.
105. Bates, S.H., et al., *STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction*. Nature, 2003. **421**(6925): p. 856-9.
106. Golden, P.L., T.J. Maccagnan, and W.M. Pardridge, *Human blood-brain barrier leptin receptor. Binding and endocytosis in isolated human brain microvessels*. J Clin Invest, 1997. **99**(1): p. 14-8.
107. Sierra-Honigmann, M.R., et al., *Biological action of leptin as an angiogenic factor*. Science, 1998. **281**(5383): p. 1683-6.
108. Gotoda, T., et al., *Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population*. Hum Mol Genet, 1997. **6**(6): p. 869-76.
109. Farooqi, I.S., et al., *Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor*. N Engl J Med, 2007. **356**(3): p. 237-47.
110. Yiannakouris, N., et al., *The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(9): p. 4434-9.
111. Wauters, M., et al., *Leptin receptor gene polymorphisms are associated with insulin in obese women with impaired glucose tolerance*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(7): p. 3227-32.
112. Clement, K., et al., *A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction*. Nature, 1998. **392**(6674): p. 398-401.
113. Rosmond, R., et al., *Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus*. J Clin Endocrinol Metab, 2000. **85**(9): p. 3126-31.
114. Henson, M.C. and V.D. Castracane, *Leptin: roles and regulation in primate pregnancy*. Semin Reprod Med, 2002. **20**(2): p. 113-22.
115. Diano, S., et al., *Leptin receptors in estrogen receptor-containing neurons of the female rat hypothalamus*. Brain Res, 1998. **812**(1-2): p. 256-9.
116. Henson, M.C., *Pregnancy maintenance and the regulation of placental progesterone biosynthesis in the baboon*. Hum Reprod Update, 1998. **4**(4): p. 389-405.
117. Ashworth, C.J., et al., *Placental leptin*. Rev Reprod, 2000. **5**(1): p. 18-24.
118. Hoggard, N., et al., *Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(20): p. 11073-8.
119. Gavrilova, O., et al., *Hyperleptinemia of pregnancy associated with the appearance of a circulating form of the leptin receptor*. J Biol Chem, 1997. **272**(48): p. 30546-51.
120. Toth, B., et al., *Leptin and peroxisome proliferator-activated receptors: impact on normal and disturbed first trimester human pregnancy*. Histol Histopathol, 2008. **23**(12): p. 1465-75.
121. Poehlmann, T.G., et al., *Trophoblast invasion: tuning through LIF, signalling via Stat3*. Placenta, 2005. **26 Suppl A**: p. S37-41.
122. Elbrecht, A., et al., *Molecular cloning, expression and characterization of human peroxisome proliferator activated receptors gamma 1 and gamma 2*. Biochem Biophys Res Commun, 1996. **224**(2): p. 431-7.
123. Mukherjee, R., et al., *Identification, characterization, and tissue distribution of human peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) isoforms PPARgamma2 versus PPARgamma1 and activation with retinoid X receptor agonists and antagonists*. J Biol Chem, 1997. **272**(12): p. 8071-6.
124. Mueller, E., et al., *Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR gamma*. Mol Cell, 1998. **1**(3): p. 465-70.
125. Mueller, E., et al., *Effects of ligand activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human prostate cancer*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(20): p. 10990-5.
126. Lehrke, M. and M.A. Lazar, *The many faces of PPARgamma*. Cell, 2005. **123**(6): p. 993-9.
127. Meirhaeghe, A. and P. Amouyel, *Impact of genetic variation of PPARgamma in humans*. Mol Genet Metab, 2004. **83**(1-2): p. 93-102.

128. Ricote, M., et al., *The peroxisome proliferator-activated receptor(PPARgamma) as a regulator of monocyte/macrophage function.* J Leukoc Biol, 1999. **66**(5): p. 733-9.
129. Tontonoz, P., E. Hu, and B.M. Spiegelman, *Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor.* Cell, 1994. **79**(7): p. 1147-56.
130. Jiang, C., A.T. Ting, and B. Seed, *PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines.* Nature, 1998. **391**(6662): p. 82-6.
131. Temelkova-Kurktschiev, T., et al., *Ala12Ala genotype of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 protects against atherosclerosis.* J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(9): p. 4238-42.
132. Bruemmer, D., et al., *Regulation of the growth arrest and DNA damage-inducible gene 45 (GADD45) by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in vascular smooth muscle cells.* Circ Res, 2003. **93**(4): p. e38-47.
133. Cabrero, A., et al., *Leptin down-regulates peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma) mRNA levels in primary human monocyte-derived macrophages.* Mol Cell Biochem, 2005. **275**(1-2): p. 173-9.
134. Welch, J.S., et al., *PPARgamma and PPARdelta negatively regulate specific subsets of lipopolysaccharide and IFN-gamma target genes in macrophages.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(11): p. 6712-7.
135. Chinetti, G., J.C. Fruchart, and B. Staels, *Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation.* Inflamm Res, 2000. **49**(10): p. 497-505.
136. Yen, C.J., et al., *Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR gamma 2 missense mutation.* Biochem Biophys Res Commun, 1997. **241**(2): p. 270-4.
137. Spiegelman, B.M., *PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor.* Diabetes, 1998. **47**(4): p. 507-14.
138. Kallen, C.B. and M.A. Lazar, *Antidiabetic thiazolidinediones inhibit leptin (ob) gene expression in 3T3-L1 adipocytes.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(12): p. 5793-6.
139. De Vos, P., et al., *Thiazolidinediones repress ob gene expression in rodents via activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma.* J Clin Invest, 1996. **98**(4): p. 1004-9.
140. Zhang, B., et al., *Down-regulation of the expression of the obese gene by an antidiabetic thiazolidinedione in Zucker diabetic fatty rats and db/db mice.* J Biol Chem, 1996. **271**(16): p. 9455-9.
141. Hollenberg, A.N., et al., *Functional antagonism between CCAAT/Enhancer binding protein-alpha and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma on the leptin promoter.* J Biol Chem, 1997. **272**(8): p. 5283-90.
142. Tarrade, A., et al., *PPARgamma/RXRalpha heterodimers control human trophoblast invasion.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(10): p. 5017-24.
143. Cui, Y., et al., *Loss of the peroxisome proliferation-activated receptor gamma (PPARgamma) does not affect mammary development and propensity for tumor formation but leads to reduced fertility.* J Biol Chem, 2002. **277**(20): p. 17830-5.
144. Tarrade, A., et al., *PPAR gamma/RXR alpha heterodimers are involved in human CG beta synthesis and human trophoblast differentiation.* Endocrinology, 2001. **142**(10): p. 4504-14.
145. Waite, L.L., R.E. Louie, and R.N. Taylor, *Circulating activators of peroxisome proliferator-activated receptors are reduced in preeclamptic pregnancy.* J Clin Endocrinol Metab, 2005. **90**(2): p. 620-6.
146. Pascual, G., et al., *A SUMOylation-dependent pathway mediates transrepression of inflammatory response genes by PPAR-gamma.* Nature, 2005. **437**(7059): p. 759-63.
147. Waite, L.L., A.K. Atwood, and R.N. Taylor, *Preeclampsia, an implantation disorder.* Rev Endocr Metab Disord, 2002. **3**(2): p. 151-8.
148. Reginato, M.J., et al., *Prostaglandins promote and block adipogenesis through opposing effects on peroxisome proliferator-activated receptor gamma.* J Biol Chem, 1998. **273**(4): p. 1855-8.
149. Tsai, Y.S., et al., *Hypertension and abnormal fat distribution but not insulin resistance in mice with P465L PPARgamma.* J Clin Invest, 2004. **114**(2): p. 240-9.

150. Nagy, B., et al., *Leptin gene (TTTC)(n) microsatellite polymorphism in pre-eclampsia and HELLP syndrome*. Clin Chem Lab Med, 2009. **47**(9): p. 1033-7.
151. Toth, B., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in normal human pregnancy and miscarriage*. Acta Histochem, 2009.
152. Conrad, K.P. and D.F. Benyo, *Placental cytokines and the pathogenesis of preeclampsia*. Am J Reprod Immunol, 1997. **37**(3): p. 240-9.
153. Rinehart, B.K., et al., *Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1beta, and interleukin 10 is increased in preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 1999. **181**(4): p. 915-20.
154. Wang, Y. and S.W. Walsh, *TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas*. J Reprod Immunol, 1996. **32**(2): p. 157-69.
155. Isse, N., et al., *Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene*. J Biol Chem, 1995. **270**(46): p. 27728-33.
156. Shintani, M., et al., *Leptin gene polymorphism is associated with hypertension independent of obesity*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(6): p. shin.
157. Muy-Rivera, M., et al., *Leptin, soluble leptin receptor and leptin gene polymorphism in relation to preeclampsia risk*. Physiol Res, 2005. **54**(2): p. 167-74.
158. Hinuy, H.M., et al., *LEP 3'HVR is associated with obesity and leptin levels in Brazilian individuals*. Mol Genet Metab, 2006. **89**(4): p. 374-80.
159. Moffett, S., et al., *Genetic diversity and evolution of the human leptin locus tetranucleotide repeat*. Hum Genet, 2002. **110**(5): p. 412-7.
160. Mann, D.R., et al., *Changes in circulating leptin, leptin receptor, and gonadal hormones from infancy until advanced age in humans*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(7): p. 3339-45.
161. Thompson, D.B., et al., *Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians*. Hum Mol Genet, 1997. **6**(5): p. 675-9.
162. Quinton, N.D., et al., *A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women*. Hum Genet, 2001. **108**(3): p. 233-6.
163. Rigo, J., et al., *Leptin receptor gene polymorphisms in severely pre-eclamptic women*. Gynecol Endocrinol, 2006. **22**(9): p. 521-5.
164. Deeb, S.S., et al., *A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity*. Nat Genet, 1998. **20**(3): p. 284-7.
165. Masugi, J., et al., *Inhibitory effect of a proline-to-alanine substitution at codon 12 of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 on thiazolidinedione-induced adipogenesis*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **268**(1): p. 178-82.
166. Buzzetti, R., et al., *The common PPAR-gamma2 Pro12Ala variant is associated with greater insulin sensitivity*. Eur J Hum Genet, 2004. **12**(12): p. 1050-4.
167. Stefanski, A., et al., *Association between the Pro12Ala variant of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene and increased 24-h diastolic blood pressure in obese patients with type II diabetes*. J Hum Hypertens, 2006. **20**(9): p. 684-92.
168. Machinal, F., et al., *In vivo and in vitro ob gene expression and leptin secretion in rat adipocytes: evidence for a regional specific regulation by sex steroid hormones*. Endocrinology, 1999. **140**(4): p. 1567-74.
169. O'Neil, J.S., et al., *Effects of estrogen on leptin gene promoter activation in MCF-7 breast cancer and JEG-3 choriocarcinoma cells: selective regulation via estrogen receptors alpha and beta*. Mol Cell Endocrinol, 2001. **176**(1-2): p. 67-75.

Anhang

a) Abbildungsverzeichnis

Abb.	Titel	Seite
1	Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen als multiorganisches Geschehen	12
2	Konzentrationen von PPAR γ -Aktivatoren im Verlauf der Schwangerschaft	24
3	Flussdiagramm zu möglichen wechselseitigen Einflüssen der beschriebenen Polymorphismen	25
4	Versuchsaufbau	29
5	Prinzip der Polymerasekettenreaktion (PCR)	31
6	Darstellung der jeweils drei unterschiedlichen Genotypen	35
7	Signifikante Unterschiede der Blutdruckwerte bei Aufnahme und Entlassung	37
8-9	Graphische Darstellung der laborchemischen Daten	38
10	Darstellung von kindlichen Geburtsgewicht, Kopfumfang und Größe	39
11	Signifikante Unterschiede der kindlichen Apgar-Werte	40
12	Boxplot des diastolischen postpartalen Blutdrucks	43

b) Tabellenverzeichnis

Tab.	Titel	Seite
1	Werte zur Risikoabschätzung anhand von anamnestischen maternalen Daten	15
2	Laborchemische Parameter in der Diagnostik hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen	16
3	Im experimentelle Teil der Studie verwendete Geräte und deren Hersteller	26
4	Im experimentelle Teil der Studie verwendete Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sowie deren Hersteller	26
5	Versuchsdurchführung der PCR	31
6	Darstellung der verwendeten Primer und Restriktionsenzyme	32
7	Charakterisierung des gesamten Patientenkollektivs	36
8	Darstellung der maternalen klinisch-chemischen Laborparameter	36
9	Analyse mütterlicher Daten	38
10	Charakterisierung des Neugeborenenkollektivs	39
11	Kindliche Daten, Angabe der p-Werte	40
12	Relative Häufigkeit der Polymorphismen (%) im <i>LEP</i> – (I < 190 bp, II > 190 bp), <i>LEPR</i> - und <i>PPARG2</i> -Gen	41
13	p-Werte des Vergleichs von Wildtyp- und Polymorphismusträgerinnen	42
14	Darstellung der <i>odds ratio</i> bezogen auf vorliegende Allele	44

c) Tabellarische Darstellung der erhobenen Daten

Variable	Gesamtkollektiv Mittelwert (min – max; s), n	SIH Mittelwert (min – max; s), n	Präeklampsie Mittelwert (min – max; s), n	Eklampsie Mittelwert (min – max; s), n	HELLP Mittelwert (min – max; s), n
Alter [a]	32,5 (17 - 43; 4,8), n=103	32,0 (19 - 40; 4,8), n=39	32,5 (24 - 43; 5,9), n=27	28,6 (24 - 43; 8,0), n=5	33,7 (25 - 40; 3,8), n=32
Gravidität	1,7 (1 - 11; 1,3), n=103	2,1 (1 - 11; 1,7), n=39	1,7 (1 - 5; 1,0), n=27	1,2 (1 - 2; 0,4), n=5	1,4 (1 - 4; 0,7), n=32
Parität	1,4 (1 - 3; 0,6), n=103	1,5 (1 - 3; 0,7), n=39	1,4 (1 - 2; 0,5), n=27	1,0 (1 - 1; 0,0), n=5	1,3 (1 - 3; 0,5), n=32
BMI [kg/m²] vor SS	26,5 (17,5 - 48,4; 6,3), n=102	28,7 (19,0 - 48,4; 7,2), n=39	25,8 (17,5 - 41,5; 5,6), n=26	28,6 (22,0 - 41,1; 7,4), n=5	24,1 (18,6 - 36,1; 4,5), n=32
BMI-Zunahme [kg/m²]	4,8 (-2,2 - 28,2; 3,2), n=100	5,6 (0,4 - 28,2; 5,6), n=38	4,7 (-0,7 - 8,9; 2,4), n=26	2,0 (-2,2 - 4,3; 2,9), n=4	4,2 (0,7 - 7,6; 4,2), n=32
SSW bei Entbindung	34,7 (24 - 41; 4,7), n=103	37,2 (29 - 41; 3,0), n=39	34,5 (25 - 40; 4,8), n=27	30,4 (24 - 40; 7,9), n=5	32,4 (24 - 40; 32,4), n=32
Systole Aufnahme [mmHg]	158,9 (90 - 210; 20,2), n=103	155,9 (130 - 190; 15,1), n=39	166,9 (140 - 210; 18,6), n=27	156,0 (110 - 180; 27,0), n=5	156,4 (90 - 200; 24,6), n=32
Diastole Aufnahme [mmHg]	95,0 (50 - 120; 12,1), n=103	92,3 (70 - 110; 9,4), n=39	101,9 (80 - 120; 8,7), n=27	90,0 (70 - 100; 12,2), n=5	93,3 (50 - 120; 15,2), n=32
Systole Entlassung [mmHg]	134,9 (90 - 180; 16,0), n=103	135,6 (90 - 170; 16,8), n=39	140,0 (120 - 180; 12,2), n=27	130,0 (110 - 140; 12,2), n=5	130,3 (90 - 170; 17,3), n=32
Diastole Entlassung [mmHg]	83,9 (50 - 110; 11,8), n=103	84,9 (60 - 110; 11,4), n=39	88,0 (65 - 110; 10,9), n=27	79,0 (60 - 90; 11,4), n=5	80,0 (50 - 110; 12,0), n=32
Hb [mg/dl]	11,9 (6,1 - 17,2; 1,8), n=98	12,0 (8,7 - 17,2; 1,6), n=37	11,8 (6,1 - 14,6; 1,8), n=26	12,1 (10,8 - 14,0; 1,2), n=5	11,7 (7,3 - 15,0; 2,1), n=30
Leukozyten [G/l]	11,1 (5,8 - 26,5; 3,7), n=101	10,7 (5,9 - 18,9; 3,5), n=38	10,3 (6,0 - 17,4; 3,1), n=27	12,5 (8,3 - 18,1; 3,8), n=5	12,2 (5,8 - 26,5; 4,2), n=31
Thrombozyten [G/l]	173,0 (22 - 363; 75,5), n=102	215,7 (103 - 340; 56,8), n=39	187,3 (113 - 296; 54,0), n=27	180,6 (118 - 236; 45,7), n=5	105,3 (22 - 363; 70,6), n=31

Variable	Gesamtkollektiv Mittelwert (min – max; s), n	SIH Mittelwert (min – max; s), n	Präeklampsie Mittelwert (min – max; s), n	Eklampsie Mittelwert (min – max; s), n	HELLP Mittelwert (min – max; s), n
CRP [mg/dl]	2,7 (0,1 – 42,9; 5,6), n=92	2,1 (0,1 – 42,9; 7,4), n=33	1,7 (0,2 – 11,2; 3,0), n=25	2,1 (0,5 – 6,3; 2,5), n=5	4,5 (0,5 – 20,0; 5,2), n=29
GOT [U/l]	77,3 (6 – 1499; 191,6), n=84	19,7 (6 – 71; 13,9), n=25	29,9 (12 – 135; 25,9), n=24	43,2 (7 – 132; 53,8), n=5	168,9 (11 – 1499; 300,7), n=30
GPT [U/l]	74,5 (5 – 962; 145,8), n=67	14,5 (5 – 71; 16,0), n=18	25,8 (6 – 81; 20,6), n=16	40,5 (6 – 102; 43,1), n=4	143,2 (15 – 962; 202,0), n=29
aPTT [Sek.] bei Aufnahme	33,0 (23 – 61; 6,0), n=102	31,5 (27 – 40; 3,1), n=39	32,1 (27 – 59; 6,1), n=27	36,6 (23 – 61; 14,8), n=5	35,0 (24 – 53; 6,1), n=31
Intensivaufenthalt [d]	1,5 (0 – 8; 2,3), n=103	0,3 (0 – 4; 0,9), n=39	1,3 (0 – 6; 2,1), n=27	3,6 (0 – 8; 3,6), n=5	2,9 (0 – 8; 2,5), n=32
Gesamtzeit stationär [d]	11,0 (3 – 71; 8,4), n=103	10,2 (3 – 71; 11,5), n=39	10,3 (4 – 22; 5,8), n=27	15,8 (6 – 30; 10,6), n=5	11,7 (6 – 22; 4,5), n=32

Tabelle a: Deskriptive Statistik anamnestischer und klinischer metrischer maternalen Daten im Vergleich von Gesamtkollektiv und der einzelnen Subgruppen (SIH, Präeklampsie, Eklampsie, HELLP-Syndrom).

Variable	Gesamtkollektiv (Absolute Werte/n)	SIH (Absolute Werte/n)	Präeklampsie (Absolute Werte/n)	Eklampsie (Absolute Werte/n)	HELLP (Absolute Werte/n)
Thrombosen in der Anamnese	2,9 % (3/103)	5,1 % (2/39)	0	0	3,1 % (1/32)
PIH in Anamnese	9,7 % (10/103)	10,3 % (4/39)	22,2 % (6/27)	0	0
SIH	5,8 % (6/103)	5,1 % (2/32)	14,8 % (4/27)		
Präeklampsie	2,9 % (3/103)	5,1 % (2/39)	3,7 % (1/27)		
HELLP	1,0 % (1/103)	0	3,7 % (1/27)		
Entbindung in SSW < 34	38,8 % (40/103)	12,8 % (5/39)	40,7 % (11/27)	60,0 % (3/5)	65,6 % (21/32)
Sectio cesarea					
Primär	60,2 % (62/103)	35,9 % (14/39)	63,0 % (17/27)	60,0 % (3/5)	84,4 % (27/32)
Sekundär	17,5 % (18/103)	28,2 % (11/39)	7,4 % (2/27)	0	15,6 % (5/32)
Intensivpflichtigkeit	39,8 % (41/103)	12,8 % (5/39)	37,0 % (10/27)	60,0 % (3/5)	71,9 % (23/32)
Wundheilungsstörung	12,6 % (13/103)	15,4 % (6/39)	11,1 % (3/27)	0	12,5 % (4/32)

Tabelle b: Relative Häufigkeiten anamnestischer und klinischer nominaler maternalen Daten. Die absoluten Werte und die durch das Studiendesign der retrospektiven Analyse bedingten Abweichung der Fallzahl werden in Klammer angegeben. Vergleich des Gesamtkollektivs und der einzelnen Schwangerschaftserkrankungen.

Variable	n	Chi2-Test						
		S-P-E-H	S - P	S - E	S - H	P - E	P - H	E - H
Alter > 35	103	0.65						
BMI vor der SS >25	102	0.12						
Nikotinkonsum in der SS	103	0.98						
Thrombosen in der Anamnese	103	0.81						
PIH in der Anamnese	103	0.16						
SSW <34	103	0.00	0.01	0.01	0.00	0.43	0.06	0.81
Modus	103	0.00	0.05	0.15	0.00	0.71	0.00	0.03
Hämoglobin < 12 g/dl	98	0.65						
Leukozyten > 11 G/l	101	0.06						
Thrombozyten < 120 G/l	102	0.00	0.09	0.79	0.00	0.56	0.00	0.01
CRP > 1 mg/dl	92	0.00	0.75	0.46	0.00	0.59	0.00	0.10
GOT > 33 U/l	84	0.00	0.06	0.06	0.00	0.63	0.00	0.19
GPT >35 U/l	67	0.00	0.05	0.02	0.00	0.48	0.00	0.20
Wundheilungsstörung	103	0.83						

Tabelle c: Analyse mütterlicher nominaler Daten, Angabe der p-Werte im Chi²-Test beim Vergleich von allen vier untersuchten Krankheiten und im Mann-Whitney-U-Test bei Untersuchung der Signifikanz zwischen zwei Erkrankungen. S-P-E-H: vergleich aller Erkrankungen, S-P: Vergleich SIH/Präeklampsie, S-E: SIH/Eklampsie, S-H: SIH/HELLP, P-E: Präeklampsie/Eklampsie, P-H: Präeklampsie/HELLP, E-H: Eklampsie/HELLP.

Variable	Gesamtkollektiv Mittelwert (min – max; s), n	SIH Mittelwert (min – max; s), n	Präeklampsie Mittelwert (min – max; s), n	Eklampsie Mittelwert (min – max; s), n	HELLP Mittelwert (min – max; s), n
SSW	34,6 (24 – 41;4,6), n=112	37,1 (29 – 41; 2,9), n=42	34,1 (25 - 40; 4,7), n=30	30,4 (24 - 40; 7,9), n=5	32,7 (24 - 40; 4,2), n=35
Gewicht [g]	2264,8 (390 - 4500; 1034,0), n=110	2768,9 (920 - 4080; 781,1), n=41	2131,2 (497 - 4060; 1139,3), n=30	1716,0 (400 - 4500; 1741,7), n=5	1855,4 (390 - 3200; 856,5), n=34
Größe [cm]	45,3 (27 - 58; 7,3), n=108	48,9 (34 - 55; 5,1), n=41	43,9 (31 - 55; 7,2), n=30	39,5 (28 - 58; 12,9), n=5	42,9 (27 - 52; 7,1), n=32
KU [cm]	31,7 (20 - 38; 4,0), n=109	33,4 (26 - 37; 2,8), n=42	31,2 (22 - 37; 4,0), n=30	29,5 (23 - 38; 7,0), n=4	30,2 (20 - 36; 4,2), n=33
Apgar bei 1 min	7,2 (1 - 10; 2,0), n=112	7,9 (2 - 9; 1,4), n=42	7,5 (2 - 10; 1,9), n=30	3,8 (1 - 7; 2,3), n=5	6,6 (2 - 9; 2,0), n=35
Apgar bei 3 min	8,0 (2 - 10; 1,9), n=112	8,7 (3 - 10; 1,2), n=42	8,2 (2 - 10; 2,0), n=30	5,4 (2 - 8; 2,7), n=5	7,3 (2 - 10; 2,0), n=35
Apgar bei 5 min	9,0 (3 - 10; 1,3), n=112	9,4 (7 - 10; 0,8), n=42	9,3 (3 - 10; 1,4), n=30	7,8 (5 - 9; 1,8), n=5	8,5 (4 - 10; 1,4), n=35
Apgar bei 10 min	9,4 (7 - 10; 0,8), n=112	9,6 (8 - 10; 0,6), n=42	9,4 (7 - 10; 0,9), n=30	9,4 (8 - 10; 0,9), n=5	9,2 (7 - 10; 0,9), n=35
Nabelschnur-pH	7,26 (6,98 – 7,58; 0,1), n=111	7,27 (7,06 – 7,58; 0,1), n=42	7,26 (6,98 – 7,37; 0,1), n=29	7,21 (7,06 – 7,34; 0,1), n=5	7,28 (7,13 – 7,35; 0,0), n=35

Tabelle d: Deskriptive Statistik der kindlichen metrischen Daten. Die absoluten Werte und die durch das Studiendesign der retrospektiven Analyse bedingten Abweichung der Fallzahl werden angegeben. Vergleich des Gesamtkollektivs und der einzelnen Schwangerschaftserkrankungen.

Variable	Gesamtkollektiv (Absolute Werte/n)	SIH (Absolute Werte/n)	Präeklampsie (Absolute Werte/n)	Eklampsie (Absolute Werte/n)	HELLP (Absolute Werte/n)
SSW bei Entbindung < 34	40,2% (45/112)	11,9% (5/42)	50% (15/30)	60% (3/5)	62,9% (22/35)
FOD < 5% Perzentile	13,2% (14/106)	7,1 % (3/42)	10,7% (3/28)	20,0% (1/5)	21,2% (7/33)
BPD < 5% Perzentile	21,3% (23/108)	19,0% (8/42)	25,0% (7/28)	40,0% (2/5)	18,2% (6/33)
AU < 5% Perzentile	17,6% (19/108)	9,5% (4/42)	15,4% (6/39)	20,0% (1/5)	25,0% (8/32)
FL < 5% Perzentile	22,4% (24/107)	14,3% (6/42)	32,1% (9/28)	20,0% (1/5)	24,2% (8/33)
Fruchtwasser					
Normal	74,3% (78/105)	70,0% (28/40)	78,6% (22/28)	75,0% (3/4)	75,8% (25/33)
Oligohydramnion	22,9% (24/105)	25,0% (10/40)	21,4% (6/28)	25,0% (1/4)	21,2% (7/33)
Polyhydramnion	2,9% (3/105)	4,8% (2/40)	0	0	3,0% (1/33)
RI der A. umbilicalis					
Norm	70,5% (79/97)	83,3 % (35/42)	66,7% (16/24)	75,0% (3/4)	86,2% (25/29)
Erniedrigt	13,4% (15/97)	9,5% (4/42)	29,2% (7/24)	25,0% (1/4)	10,3% (3/29)
Erhöht	2,7% (3/97)	2,4% (1/42)	4,2% (1/24)	0	3,4% (1/29)
Geschlecht					
männlich	47,3% (53/112)	54,8% (23/42)	26,7% (8/30)	60,0 (3/5)	54,3 (19/35)
weiblich	52,7% (59/112)	45,2% (19/42)	73,3% (22/30)	40,0% (2/5)	45,7% (16/35)
pH < 7,2	11,7% (13/111)	14,3% (6/42)	13,8% (4/29)	40,0% (2/5)	2,9% (1/35)
Intensivpflichtigkeit	51,8% (58/112)	35,7% (15/42)	60,0% (18/30)	60,0% (3/5)	62,9% (22/35)
Nabelvenenkatheter	13,4% (15/112)	4,8% (2/42)	16,7% (5/30)	60,0% (3/5)	14,3% (5/35)
Intubation	14,3% (16/112)	4,8% (2/42)	16,7% (5/30)	60,0% (3/5)	17,1% (6/35)
cPAP-Beatmung	16,1% (18/112)	7,1% (3/42)	10,0% (3/30)	40,0% (2/5)	28,6% (10/35)
Reanimationspflicht (CPR)	0,9 (1/112)	0	3,3% (1/30)	0	0

Tabelle e: Deskriptive Statistik kindlicher nominaler Daten. Vergleich des Gesamtkollektivs mit den einzelnen hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen.

Variable	n	LEP (TTTC) _n	LEPR R223Q	PPARG2 P12A	Variable	n	LEP (TTTC) _n	LEPR R223Q	PPARG2 P12A
BMI vor SS >25	102	0.93	0.90	1.00	GOT > 33U/l	84	0.29	0.03	0.87
Thrombosen anamnestisch	103	1.00	0.44	223RR/R223Q: 0.90					
PIH in der Anamnese	103	0.31	0.48	R223Q/223QQ: 0.02					
SSW <34	103	0.67	0.46	223RR/223QQ: 0.09					
Hb < 12 g/dl	98	0.24	0.40	0.62	Intensivpflicht	103	0.82	0.37	1.00
Leukozyten > 11G/l	101	0.73	0.60	0.24	Wundheilungs- störung	103	0.09	0.03	0.80
Thrombozyten <120 G/l	102	0.07	0.54	223RR/ Q223R: 0.03					
CRP > 1mg/dl	92	0.35	0.27	R223Q/223QQ: 0.22					
aPTT > 35 sec.	102	1.00	0.84	223RR/223QQ: 0.15					
GPT > 35U/l	67	0.21	0.20	0.87					

Tabelle f: Analyse der Genotypen der untersuchten Polymorphismen und klinischer nominaler maternalen Daten durch den Kruskal-Wallis-Test, Angabe der p-Werte. Bei signifikanten Werten < 0,05 wurden anhand des Mann-Whitney-U-Tests die einzelnen Genotypen nochmals bezüglich ihrer Signifikanz getestet. Gruppen mit signifikant höhere Werte (p<0,05) werden fett gedruckt.

Variable	n	<i>LEP</i> (<i>TTTC</i>) _n	LEPR Q223R	PPARG2 P12A	Variable	n	<i>LEP</i> (<i>TTTC</i>) _n	LEPR R223Q	PPARG2 P12A
BMI vor der SS	102	0.88	0.93	0.98	Hämoglobin	98	0.14	0.94	0.18
BMI präpartal	100	0.91	0.69	0.87	Leukozyten	101	0.77	0.66	0.19
BMI-Zunahme	99	0.95	0.30	0.38	Thrombozyten	102	0.06	0.52	0.17
SSW	103	0.13	0.72	0.64	GOT	84	0.24	0.09	0.92
Systole Aufnahme	103	0.17	0.64	0.30	GPT	67	0.17	0.21	0.65
Diastole Aufnahme	103	0.84	0.92	0.65	aPTT	102	0.82	0.31	0.98
Systole Entlassung	103	0.18	0.09	0.39	CRP	92	0.45	0.03 223QQ/223RR: 0.01 223RR/R223Q:0.02 223QQ/R223Q: 0.76	0.47
Diastole Entlassung	103	0.41	0.01 223RR/223QQ: 0.02 223QQ/R223Q:0.02 223RR/R223Q: 0.42	0.78	Intensivpflicht	103	0.66	0.48	0.73

Tabelle g: Analyse der Genotypen der untersuchten Polymorphismen und klinischer metrischer maternalen Daten durch den Kruskal-Wallis-Test. Bei signifikanten Werten < 0,05 wurden die verschiedenen Genotypen nochmals anhand des Mann-Whitney-U-Testes auf Signifikanz getestet. Höhere Werte mit p<0,05 werden fett gedruckt.

d) Anschreiben an die Patientinnen



KLINIKUM DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN · KLINIK UND POLIKLINIK FÜR
FRAUENHEILKUNDE UND GEBURTSHILFE-GROSSHADERN · MARCHIONINISTR.
15 · 81377 MÜNCHEN

TELEFON +49 (0)89 7095 - 0
TELEFAX +49 (0)89 7095 - 8892

Name

Strasse, Hausnummer
PLZ Wohnort

WWW.KLINIKUM.UNI-MUENCHEN.DE
WWW.MUTTER-KIND-ZENTRUM-
GROSSHADERN.DE
POSTANSCHRIFT:
MARCHIONINISTR. 15
D-81377 MÜNCHEN

MÜNCHEN, DEN DATUM

Sehr geehrte Frau ,

Sie haben im Zeitraum von 2000 bis 2006 in der Frauenklinik Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München ein Kind geboren. In der damaligen Schwangerschaft waren sie von einer Schwangerschaftshochdruck-Erkrankung (Schwangerschaftsinduzierter Hypertonus, Präeklampsie, Eklampsie oder HELLP-Syndrom) betroffen.

10-15% aller Frauen entwickeln im Verlauf einer Schwangerschaft einen Bluthochdruck mit unterschiedlichen Komplikationen. Die Ursachen und Mechanismen hierfür sind nur in Bruchteilen bekannt. Bisher bekannte Risikofaktoren sind ein vor der Schwangerschaft bestehender Bluthochdruck, Mehrlingsschwangerschaften, mütterliches Alter über 40 Jahre, Übergewicht, Blutgerinnungsstörungen und Blutdruckerkrankungen in der Familie.

Wir untersuchen aktuell, ob es Zusammenhänge zwischen Schwangerschaftshochdruck-Erkrankungen und genetisch bedingten Veränderungen im Fettstoffwechsel gibt. Diese Veränderungen werden im Erbgut (DNA) in Blutzellen untersucht und sind bekanntermaßen außerhalb einer Schwangerschaft für das Auftreten von Bluthochdruck und Reaktionen des Immunsystems verantwortlich.

Um diese Studie erfolgreich durchzuführen und so eventuell Erkenntnisse über neue, bessere Behandlungsmöglichkeiten zu bekommen, benötigen wir Ihre Hilfe.

Falls Sie Interesse bekommen haben und Sie unsere Studie unterstützen möchten, benötigen wir eine einmalige Blutprobe von Ihnen, welche wir Ihnen in der Ambulanz der Frauenklinik-Großhadern entnehmen. In unserem Labor werden wir Ihr Blut auf Veränderungen der DNA (in den Genen für Leptin, Leptin-Rezeptoren und Peroxisomen-Proliferations-Aktivator-Rezeptor γ) untersuchen.

Wenn Sie es wünschen, werden wir Sie gerne über das Ergebnis informieren. Nachdem wir Sie informiert haben, werden die Proben unwiderruflich anonymisiert. Das heißt, aus unseren Aufzeichnungen kann dann nicht mehr auf Sie persönlich rückgeschlossen werden.

Wir würden uns sehr freuen, wenn wir Sie in diese Studie aufnehmen können. Sie würden einen Beitrag zur Erforschung der Schwangerschaftshochdruck-Erkrankungen (Schwangerschaftsinduzierter Hypertonus, Präeklampsie, Eklampsie und HELLP-Syndrom) leisten.

Bitte melden sie sich bei Interesse oder dem Wunsch nach weiteren Informationen zur Studie an:

Annette Wiedemann 0176/60021054

Dr. Bettina Toth

089/7095 3154

Vielen Dank für ihre Mitarbeit.
Mit freundlichen Grüßen,

Dr. med. Bettina Toth
Leiterin der Forschungsgruppe

Annette Wiedemann
Medizinstudentin

e) Aufklärung und Einverständniserklärung



Klinikum der Universität München · Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde
und Geburtshilfe-Großhadern · Marchioninstr. 15 · 81377 München
Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Friese

TELEFON +49 (0)89 7095 - 0
TELEFAX+49 (0)89 7095 - 8892

WWW.KLINIKUM.UNI-MUENCHEN.DE
WWW.MUTTER-KIND-ZENTRUM-
GROSSHADERN.DE

POSTANSCHRIFT:
MARCHIONISTR. 15
D-81377 MÜNCHEN

Patienteninformation und Einverständniserklärung

Sehr geehrte Patientin,

wir möchten Sie heute über eine Studie zur Erforschung der Ursachen für das Auftreten von Schwangerschaftserkrankungen informieren, welche in der Frauenklinik Großhadern durchgeführt wird.

Der Titel dieser Studie lautet:

**Neue Risikofaktoren für das Auftreten von
Schwangerschafts-induziertem Hypertonus, Präeklampsie, Eklampsie und
HELLP-Syndrom**

5-10% aller Schwangerschaften zeigen im Verlauf eine Erhöhung des mütterlichen Blutdruckes. Diese als Schwangerschafts-induzierte Hypertonie (SIH) bezeichnete Erkrankung ist dadurch gekennzeichnet, dass sich erst in der Schwangerschaft eine Blutdruckerhöhung bemerkbar macht. Eine Komplikation dieser Erkrankung nennt man Präeklampsie (früher: EPH-Gestose), die dadurch charakterisiert ist, dass neben dem erhöhten Blutdruck Wassereinlagerungen (Ödeme) bevorzugt in den Beinen und Eiweiß im Urin (Proteinurie) auftreten. Dies ist bei bis zu 7-8 % aller Schwangerschaften der Fall. Die schwerwiegendste Verlaufsform der Präeklampsie, die Eklampsie, führt dazu, dass die Schwangeren zusätzlich Krämpfe, Kopfschmerzen, Übelkeit und Erbrechen entwickeln. Die Häufigkeit liegt bei 0,05 %.

Das HELLP-Syndrom (Zerstörung roter Blutkörperchen, erhöhte Leberwerte, Armut an Blutplättchen) ist eine weitere mögliche Konsequenz des SIH mit einer Häufigkeit von 0,3 %.

In der Frauenklinik Grosshadern werden seit vielen Jahren Frauen mit diesen Schwangerschaftserkrankungen behandelt. Als mögliche Ursachen werden Störungen im Bereich der Gerinnung oder des Immunsystems diskutiert. Dennoch konnte man bislang noch keine exakte Aussage zur Entstehung solcher Beschwerden treffen. Möglicherweise bestehen bei diesen Schwangerschaftserkrankungen Veränderungen im Erbgut (sogenannte DNA-Polymorphismen), welche den Fett- und Zuckerstoffwechsel beeinflussen.

Diese Veränderungen im Erbgut, welche Einfluss auf den Fett- und Zuckerstoffwechsel nehmen, wollen wir in dieser Studie untersuchen. Im Speziellen handelt es sich dabei um Veränderungen der Peroxisomen-Proliferator-Aktivator-Rezeptoren, des Leptins und der Leptin-Rezeptoren. Wir vermuten, dass es über bestimmte Regelkreise im Körper, die mit diesen Erbgutveränderungen im Zusammenhang stehen, zu den genannten Beschwerden in der Schwangerschaft und insbesondere zu Bluthochdruck kommt.

Durch die Teilnahme an dieser Studie helfen Sie mit, diese Parameter zu erforschen und damit möglicherweise neue Erkenntnisse über Schwangerschaftserkrankungen und letztendlich auch Ansätze zu einer besseren Behandlung zu liefern.

Bei dieser Studie werden die Vorschriften über den Datenschutz und die ärztliche Schweigepflicht eingehalten. Es werden persönliche Daten (wie Alter, Anzahl der bisherigen Schwangerschaften, Größe, Gewicht) und Befunde (Erkrankungen in der Schwangerschaft) erhoben sowie die oben aufgeführte Untersuchung auf Erbgutveränderungen durchgeführt. Anschließend werden die Daten gespeichert. Danach werden die Daten irreversibel anonymisiert, so dass zwischen der Studiennummer und den Originaldaten und Blutproben kein Zusammenhang mehr hergestellt werden kann. Das bedeutet, dass von den Blutproben bzw. den Daten dann nicht mehr auf Ihre Person rückgeschlossen werden kann. Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Sie können jederzeit Ihre Einwilligung zurückziehen. In diesem Falle werden Ihre Daten und Befunde gelöscht.

In etwaigen Veröffentlichungen der Daten dieser Studie werden Sie aufgrund der irreversiblen Anonymisierung nicht namentlich genannt, so dass die Vertraulichkeit der persönlichen Daten gewährt wird.

Ablauf der Studie:

Frauen mit Schwangerschafts-induziertem Hypertonus, Präeklampsie, Eklampsie oder HELLP-Syndrom in der Vorgeschichte wird Blut entnommen. Die DNA wird isoliert und auf Veränderungen in drei Genen (PPAR γ -Pro12Ala-Variante, LepR-Polymorphismus und Leptin-Gen-Polymorphismus) untersucht. Um eine Aussage über die Bedeutung dieser DNA-Varianten treffen zu können, werden zusätzlich bei Frauen mit unauffälligen Schwangerschaften dieselben Untersuchungen durchgeführt (Kontrollgruppe).

Bei Rückfragen zu dieser Studie erreichen Sie uns unter folgender Telefonnummer:

Dr. B. Toth (Frauenklinik)

Tel.: 089-7095-0

Fax: 089-7095-6840

A. Wiedemann (Doktorandin)

Ich erkläre hiermit, dass ich von_(Name der/des Ärztin/Arztes bzw. der Doktorandin) ausführlich über die Studie aufgeklärt und meine offenen Fragen beantwortet wurden. Ich erteile meine Zustimmung zur Speicherung meiner Daten unter Berücksichtigung des oben ausgeführten Datenschutzes.

Über die datenschutzrechtlichen Vorgehensweisen wurde ich informiert und erteile hierzu explizit meine Einwilligung.

Ort, Datum, Unterschrift der Patientin

Mit meiner Unterschrift erkläre ich mich bereit, an der Studie teilzunehmen.

Ort, Datum, Unterschrift der Patientin

Ort, Datum, Unterschrift der/s aufklärenden Ärztin/Arztes/Doktorandin

f) Verwendete fetometrische Standard-Perzentilenverteilung

(aus: J. Kurmanavicius et al., Prof. Dr. A. Huch, Dept. Frauenheilkunde, Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe, Universitätsspital Zürich; http://www.geburtshilfe.usz.ch/Documents/HealthProfessionals/Guidelines/tabellen_sonografie.pdf)

Fig.1 Kopfbimetrie:
Biparietal-Durchmesser (BPD), Occipito-frontal Durchmesser (OFD), Kopfumfang (KU)

Kopf-Biometrie									
SSW	[BPD],(mm)			[OFD],(mm)			Kopfumfang [KU],(mm)		
	5.P	50.P	95.P	5.P	50.P	95.P	5.P	50.P	95.P
12	17.0	21.0	25.0	20.2	24.6	29.1	59.7	72.1	84.5
13	20.8	24.9	29.0	24.9	29.6	34.3	73.3	86.1	98.9
14	24.5	28.7	32.9	29.6	34.5	39.4	86.7	99.9	113.1
15	28.2	32.5	36.8	34.3	39.3	44.4	99.9	113.5	127.0
16	31.8	36.2	40.6	38.8	44.1	49.4	112.9	126.8	140.7
17	35.3	39.9	44.4	43.2	48.7	54.2	125.6	139.9	154.2
18	38.8	43.5	48.1	47.6	53.2	58.9	138.1	152.7	167.4
19	42.2	47.0	51.7	51.8	57.7	63.5	150.2	165.2	180.3
20	45.6	50.4	55.3	55.9	62.0	68.1	162.1	177.5	192.9
21	48.8	53.8	58.8	59.9	66.2	72.4	173.6	189.4	205.2
22	52.0	57.1	62.2	63.7	70.2	76.7	184.9	201.0	217.1
23	55.1	60.3	65.5	67.5	74.1	80.8	195.7	212.2	228.7
24	58.1	63.4	68.7	71.1	77.9	84.8	206.2	223.1	240.0
25	61.1	66.5	71.9	74.5	81.6	88.7	216.4	233.6	250.9
26	63.9	69.4	74.9	77.8	85.1	92.4	226.1	243.7	261.3
27	66.6	72.2	77.8	80.9	88.4	95.9	235.5	253.4	271.4
28	69.2	74.9	80.7	83.9	91.6	99.3	244.4	262.7	281.1
29	71.7	77.6	83.4	86.7	94.6	102.5	252.9	271.6	290.3
30	74.1	80.1	86.0	89.3	97.4	105.5	260.9	280.0	299.1
31	76.4	82.5	88.5	91.8	100.1	108.4	268.4	287.9	307.3
32	78.6	84.7	90.9	94.1	102.5	111.0	275.5	295.3	315.1
33	80.6	86.9	93.1	96.1	104.8	113.5	282.1	302.2	322.4
34	82.5	88.9	95.3	98.0	106.9	115.8	288.1	308.7	329.2
35	84.3	90.8	97.3	99.7	108.8	117.8	293.6	314.5	335.5
36	86.0	92.6	99.1	101.1	110.4	119.7	298.6	319.9	341.2
37	87.5	94.2	100.9	102.4	111.9	121.3	303.0	324.6	346.3
38	88.9	95.7	102.5	103.4	113.1	122.8	306.8	328.8	350.9
39	90.1	97.0	103.9	104.2	114.1	124.0	310.0	332.4	354.8
40	91.2	98.2	105.2	104.7	114.8	124.9	312.6	335.4	358.2
41	92.1	99.2	106.3	105.1	115.3	125.6	314.6	337.7	360.9
42	92.9	100.1	107.3	105.1	115.6	126.1	315.9	339.4	363.0

Fig.2 Abdomen- und Femurbiometrie:
 Abdomen Durchmesser (AD), Abdomenumfang (AU), Femurlänge (FL)

Abdomen- und Femur-Biometrie									
SSW	Abdomen - Ø [AD],(mm)			Abdomenumfang [AU],(mm)			Femurlänge [FL],(mm)		
	5.P	50.P	95.P	5.P	50.P	95.P	5.P	50.P	95.P
12	14.5	18.1	21.8	45.3	56.6	67.9	4.1	7.0	9.8
13	17.9	21.9	25.8	56.1	68.2	80.3	7.2	10.3	13.4
14	21.4	25.5	29.7	66.9	79.8	92.7	10.3	13.6	16.9
15	24.8	29.2	33.6	77.6	91.3	105.0	13.3	16.8	20.4
16	28.2	32.9	37.5	88.3	102.7	117.2	16.3	20.0	23.7
17	31.6	36.5	41.4	98.8	114.0	129.3	19.2	23.0	26.9
18	34.9	40.1	45.2	109.3	125.3	141.3	22.1	26.1	30.0
19	38.2	43.6	49.0	119.7	136.4	153.2	24.9	29.0	33.1
20	41.5	47.1	52.8	129.9	147.5	165.1	27.6	31.9	36.1
21	44.7	50.6	56.5	140.1	158.5	176.8	30.3	34.7	39.0
22	48.0	54.1	60.2	150.2	169.3	188.4	33.0	37.4	41.8
23	51.1	57.5	63.9	160.1	180.0	200.0	35.6	40.1	44.5
24	54.3	60.9	67.5	169.9	190.6	211.3	38.1	42.6	47.2
25	57.4	64.2	71.1	179.6	201.1	222.6	40.5	45.2	49.8
26	60.4	67.5	74.7	189.2	211.5	233.7	42.9	47.6	52.3
27	63.4	70.8	78.2	198.7	221.7	244.8	45.2	50.0	54.8
28	66.4	74.0	81.6	208.0	231.8	255.6	47.5	52.3	57.1
29	69.3	77.2	85.0	217.1	241.7	266.3	49.7	54.5	59.4
30	72.2	80.3	88.4	226.1	251.5	276.9	51.8	56.7	61.6
31	75.0	83.4	91.7	235.0	261.1	287.3	53.9	58.8	63.8
32	77.8	86.4	95.0	243.6	270.6	297.6	55.9	60.9	65.8
33	80.5	89.4	98.2	252.2	279.9	307.7	57.8	62.8	67.9
34	83.2	92.3	101.4	260.5	289.0	317.6	59.6	64.7	69.8
35	85.8	95.1	104.5	268.7	298.0	327.3	61.4	66.5	71.6
36	88.4	97.9	107.5	276.7	306.8	336.9	63.1	68.3	73.4
37	90.9	100.7	110.5	284.5	315.4	346.2	64.8	70.0	75.1
38	93.3	103.4	113.4	292.1	323.8	355.4	66.4	71.6	76.8
39	95.7	106.0	116.3	299.5	332.0	364.4	67.9	73.1	78.4
40	98.0	108.5	119.1	306.8	340.0	373.2	69.3	74.6	79.9
41	100.2	111.0	121.8	313.8	347.8	381.8	70.7	76.0	81.3
42	102.4	113.4	124.5	320.6	355.3	390.1	72.0	77.3	82.6

g) Publikationen

Aus dieser Dissertation geht folgende Publikation hervor:

Wiedemann A., Vocke F., Fitzgerald J.S., Markert U.R., Jeschke U., Lohse P., Toth B. (2010). American Journal of Reproductive Immunology, 2010 April 1, 63(4):310-7

Leptin gene (TTTC)_n microsatellite polymorphism as well as leptin receptor R223Q and PPAR γ 2 P12A substitution are not associated with hypertensive disorders in pregnancy

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. med. Bettina Toth für die Ermöglichung dieses Projektes. Ihr Wissen, ihre Begeisterung für das Thema, die Geduld und der unermüdliche Enthusiasmus haben in einem ganz erheblichen Maß zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ihre stete Präsenz und war mir ebenso wichtig wie ihre kompetente, motivierende und freundschaftliche Betreuung. In meiner Schreibphase fühlte ich mich durch unsere gute Zusammenarbeit und ihre konstruktive Kritik immer gut aufgehoben.

Ein besonderes Dankeschön gilt auch Prof. Dr. med. Peter Lohse und dem gesamten Team des molekulargenetischen Labors am Institut für Klinische Chemie des Klinikums der Universität München, Großhadern, die mir im experimentellen Teil unermüdlich zur Seite standen, mir wesentliche gedankliche und organisatorische Hinweise gaben sowie eine große Unterstützung bei der Versuchsdurchführung, der Datenanalyse und allen Fragen im Laboralltag waren.

Große Anerkennung und Dank gilt allen Patientinnen, die mit großem Engagement an meiner Studie teilgenommen haben. Von ihrem Interesse an der weiteren Erforschung hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen mitzuwirken und von ihrer Kraft der Krankheitsbewältigung von mitunter lebensbedrohlichen Verläufen war ich überaus beeindruckt.

Der größte Dank gilt aber meinen Eltern, die mir stets ihre ausdauernde und vielseitige Unterstützung schenken. Ohne das zu jederzeit offene Ohr und den Rückhalt in der Familie über die letzten Jahre wäre die Umsetzung meines Studiums und meiner Promotion nicht möglich gewesen. Da ich ihnen gar nicht genug danken kann für alles was sie tun, dass sie immer für mich da sind und an mich glauben, möchte ich ihnen zumindest als kleines Dankeschön diese Arbeit widmen.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt zu haben.

Bei der Verfassung der Dissertation wurden keine anderen als die im Text aufgeführten Hilfsmittel verwendet.

München, den 03. September 2010

Annette Lucia Wiedemann