

Aus dem
Lehrstuhl für Neuroanatomie, Anatomische Anstalt
Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Christoph Schmitz

**Geschlechtsspezifische Unterschiede in der
Plazentamorphologie bei Präeklampsie**

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

vorgelegt von
Lea Simone Hansen

aus
Hamburg

Jahr
2025

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Hans-Georg Frank
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Orsolya Genzel-Boroviczény
PD Dr. Maria Delius

Mitbetreuung durch die
promovierten
Mitarbeiterinnen: Dr. Nirav Barapatre
Dr. Eva Pfaff

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.2025

„Change happens by listening and then starting a dialogue with the people who are
doing something you don't believe is right.“

Jane Goodall

Zusammenfassung

Die Präeklampsie (PE) zählt zu den hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen und entsteht durch eine generalisierte endotheliale Dysfunktion. Aufgrund maternaler Komplikationen ist oft eine vorzeitige Entbindung erforderlich, nach der sich die maternalen Symptome rasch bessern. Dies deutet auf eine plazentare Ursache der PE hin, wobei die genaue Pathogenese unklar ist und keine spezifischen histopathologischen Merkmale existieren. Pathophysiologisch wird die PE häufig mit der intrauterinen Wachstumsrestriktion (IUGR) unter dem Begriff der maternalen vaskulären Malperfusion zusammengefasst. Ziel dieser Arbeit ist die quantitative Untersuchung des villösen Trophoblasten und des Zottenbaums in PE Plazenten im Vergleich zu klinisch unauffälligen Schwangerschaften, um spezifische morphologische Korrelate zu identifizieren.

Der villöse Trophoblast und der Zottenbaum wurden mittels 3D-Mikroskopie und Stereologie analysiert. Mittels der 3D-Mikroskopie wurden die Flächendichte der Zellkerne im Syncytium und ihre Zellproliferation (PCNA-Marker) sowie die Verzweigungswinkel, Länge, Durchmesser und Volumen der peripheren Zotten bestimmt. Für die stereologische Bestimmung der Zottenvolumina und des Verzweigungsindex wurde der glattmuskuläre Reifungsmarker γ -smooth-muscle-Aktin (γ -sm-Aktin) genutzt, um kontraktile (C-villi) von nicht kontraktilem (NC-villi) Zotten zu unterscheiden.

Hauptergebnis ist eine erhöhte Dichte proliferierender trophoblastärer Zellkerne und eine erniedrigte Dichte nicht proliferierender trophoblastärer Zellkerne in weiblichen PE Plazenten – dieser Effekt fehlt bei männlichen PE Plazenten. Die NC- und C-villi sowie die Kapillaren der NC-villi weisen bei konstanter Diffusionsdistanz ein verringertes Volumen auf. Der Verzweigungsindex des Zottenbaums ist bei PE Plazenten insgesamt reduziert und bei weiblichen PE Plazenten stärker ausgeprägt. Dies deutet auf geschlechtsspezifische Unterschiede der PE hin, die sich von den bekannten Daten zur IUGR abgrenzen.

Abstract

Pre-eclampsia (PE) is one of the hypertensive pregnancy disorders and is caused by generalized endothelial dysfunction. Premature delivery is often necessary due to maternal complications. The maternal symptoms improve rapidly after delivery and this suggests a placental cause of PE, although the exact pathogenesis is still unclear and no specific histopathologic features exist. Based on the pathophysiology, PE is often summarized with intrauterine growth restriction (IUGR) under the term maternal vascular malperfusion (MVM). The aim of this study is the quantitative investigation of the villous trophoblast and the villous tree in PE placentas in comparison to clinically normal pregnancies in order to identify specific morphological correlates.

The villous trophoblast and villous tree were analyzed by 3D microscopy and stereology. The surface density of the cell nuclei in the syncytium and their cell proliferation (PCNA markers) as well as the branching angle, length, diameter and volume of the peripheral villi were determined using 3D microscopy. For the stereological determination of villous volumes and the branching index, the smooth muscle maturation marker γ -smooth muscle actin (γ -sm) was used to distinguish contractile (C-villi) from non-contractile (NC-villi) villi.

The main result of this study is an increased density of proliferating trophoblast cell nuclei and a decreased density of non-proliferating trophoblast cell nuclei in female PE placentas - this effect is absent in male placentas. The NC- and C-villi as well as the capillaries of the NC-villi show a reduced volume, with a constant diffusion distance. The branching index of the villous tree is generally lower in PE placentas and more pronounced in female PE placentas. This indicates sex-specific differences in PE, which differ from the known data on IUGR.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	IV
Abstract	V
Abbildungsverzeichnis	IX
Tabellenverzeichnis	X
Abkürzungsverzeichnis	XI
1 Einleitung	1
1.1 Plazenta: Entwicklung, Aufbau und Funktion	1
1.1.1 Übersicht	1
1.1.2 Entwicklung der menschlichen Plazenta	1
1.1.3 Aufbau und Funktion der reifen Plazenta	4
1.2 Präeklampsie	5
1.2.1 Uterus und Plazenta bei der Entstehung einer PE.....	7
1.2.2 PE und IUGR als ischämische Plazentaerkrankungen	8
1.3 Geschlechtsspezifische Unterschiede der menschlichen Plazenta.....	9
1.4 Ziele	10
2 Material und Methoden	12
2.1 Studienmaterial.....	12
2.2 Klinische und makroskopische Daten.....	12
2.3 Gewebeentnahme nach dem <i>systematic random sampling</i>	15
2.4 <i>Whole-mount</i> Präparation eines Zottenbaums	16
2.4.1 Immunhistochemie der isolierten peripheren Zottenbäume	16
2.4.2 Gegenfärbung der isolierten peripheren Zottenbäume	17
2.5 Aufbereitung der Gewebeproben für die Stereologie	17
2.5.1 Anfertigung der 2D-Schnitte.....	17
2.5.2 Immunhistochemie der 2D-Schnitte	18
2.6 Computer-assistierte 3D-Analyse der isolierten peripheren Zottenbäume ..	18

2.6.1	Tracing nach dem <i>terminal distance ordering</i>	19
2.6.2	Identifikation der Zellkerne des villösen Trophoblasten	20
2.7	Stereologische Analyse der 2D-Schnitte	21
2.7.1	Abschätzung des Plazentavolumens	21
2.7.2	Messung der Diffusionsdistanz	22
2.7.3	Verzweigungsindex als Maß für Verzweigungen	22
2.8	Statistische Analyse.....	22
3	Ergebnisse	24
3.1	3D-Mikroskopie peripherer Zotten	24
3.1.1	Zellkerne des villösen Trophoblasten.....	24
3.1.2	Verzweigungsstruktur der Plazentazotten.....	32
3.2	Stereologie.....	33
3.3	Klinische und makroskopische Parameter.....	46
4	Diskussion	54
4.1	Veränderungen des villösen Trophoblasten bei PE.....	54
4.2	Veränderungen des Zottenbaums bei PE.....	60
4.3	Plazentarer Sexualdimorphismus bei PE	61
4.3.1	Gestationsalter	61
4.3.2	Fetales Wachstum	61
4.3.3	Genexpression	62
4.3.4	Trophoblast und endokrine Funktion der Plazenta	62
4.3.5	Trophoblastdeportation und maternale Symptomatik	63
4.4	Vergleiche von PE und IUGR	64
4.5	Methodische Besonderheiten dieser Arbeit	65
4.5.1	Vorbemerkungen.....	65
4.5.2	Stereologie und 3D-Mikroskopie ergänzen sich komplementär	65
4.6	Offene Fragen und Ausblick	66
5	Literatur	69

Danksagung	80
Eidesstattliche Versicherung	81
Erklärung der Übereinstimmung	82
Publikationsliste	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Punkteraster zur randomisierten Gewebeentnahme.....	15
Abbildung 2: Flächendichte PCNA (-) Kerne.....	25
Abbildung 3: Flächendichte PCNA (+) Kerne.....	26
Abbildung 4: Flächendichte PCNA (-) Kerne ♂ und ♀	27
Abbildung 5: Flächendichte PCNA (+) Kerne ♂ und ♀	28
Abbildung 6: Nearest Neighbor Distance	30
Abbildung 7: Nearest Neighbor Distance ♂ und ♀	31
Abbildung 8: Volumina Zotten und intervillöser Raum	34
Abbildung 9: Zottenvolumina C-villi und NC-villi	35
Abbildung 10: Volumina der Kapillaren C-villi und NC-villi.....	36
Abbildung 11: Verzweigungsindex C-villi und NC-villi.....	37
Abbildung 12: Verhältnis C-villi zu NC-villi	38
Abbildung 13: Volumina Zotten und intervillöser Raum ♂ und ♀.....	40
Abbildung 14: Zottenvolumina C-villi und NC-villi ♂ und ♀	41
Abbildung 15: Volumina der Kapillaren C-villi und NC-villi ♂ und ♀	42
Abbildung 16: Verzweigungsindex C-villi und NC-villi ♂ und ♀	43
Abbildung 17: Verzweigungsindex Kapillaren C-Villi und NC-Villi ♂ und ♀	44
Abbildung 18: Gestationsalter und Geburtsgewicht	47
Abbildung 19: Plazentagewicht und Oberfläche	48
Abbildung 20: Kleinster und längster Durchmesser	49
Abbildung 21: Gestationsalter und Geburtsgewicht ♂ und ♀	50
Abbildung 22: Plazentagewicht und Oberfläche ♂ und ♀	51
Abbildung 23: Kleinster und längster Durchmesser ♂ und ♀	52
Abbildung 24: Konzept der Kontrolle nach Fusion im Synzytiotrophoblasten.....	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Deskriptive Statistik der klinischen und makroskopischen Daten	14
Tabelle 2: Anzahl PCNA (-) und PCNA (+) Zellkerne nach jeweiliger Gruppe.....	23
Tabelle 3: p-Werte und Signifikanzen 3D-Mikroskopie	32
Tabelle 4: p-Werte und Signifikanzen Stereologie	46
Tabelle 5: p-Werte und Signifikanzen klinische und makroskopische Parameter.....	53

Abkürzungsverzeichnis

b	branch (Zweig)
C-villi	Zotten mit perivaskulären stromalen Myofibroblasten (y-sm-Aktin positiv)
EOPE	Early-Onset-Präeklampsie
et al.	und andere (et alia)
etc.	und die Übrigen (et cetera)
FD	Flächendichte
GA	Gestationsalter
GG	Geburtsgewicht
HCG	humanes Chorion-Gonadotropin
IgG	Immunglobulin G
IUGR	Intrauterine Wachstumsretardierung
KD	kleinster Durchmesser der Plazenta
KI	dimensionsloser Konkavitätsindex
LOPE	Late-Onset-Präeklampsie
LD	längster Durchmesser der Plazenta
NC-villi	Zotten ohne perivaskuläre stromale Myofibroblasten (y-sm-Aktin negativ)
NK-Zelle	natürliche Killerzelle
NND	mittlere Distanz zum nächsten Nachbarn
NORM	klinisch unauffällige Schwangerschaft
ns	nicht signifikant
OF	Oberfläche der Plazenta
p.c.	post conceptionem
PCNA	Proliferating-Cell-Nuclear-Antigen

PE	Präeklampsie
PG	Plazentagewicht
PIGF	Placental Growth Factor
R	The R Project for Statistical Computing
SD	Standardabweichung
sFlt-1	soluble Fms-like tyrosine kinase-1
s.o.	siehe oben
SSW	Schwangerschaftswoche
t	terminal
v.a.	vor allem
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
vgl.	vergleiche
γ-sm-Aktin	gamma smooth muscle actin Antikörper
♀	weiblich
♂	männlich

1 Einleitung

1.1 Plazenta: Entwicklung, Aufbau und Funktion

1.1.1 Übersicht

Die Plazenta besitzt die einzigartige Fähigkeit, während der Schwangerschaft nahezu alle fetalen Organfunktionen vorübergehend zu übernehmen. Grundvoraussetzung für das Entstehen der Plazenta ist die Vereinigung von mütterlichem und kindlichem Gewebe in der Gebärmutter (1). Auf der Seite des Kindes bildet sich die Chorionplatte, von welcher ein baumähnliches Zottensystem bis hin zur Basalplatte auf der mütterlichen Seite entspringt. Die Zottenbäume des Zottensystems enthalten die fetalen Gefäße und werden vom Blut der Mutter umspült. Damit befindet sich hier die feto-materiale Austausch- und Grenzzone. Das fetale und mütterliche Blut wird von einer epithelialen (Trophoblast) und bindegewebigen (Mesenchym und Endothel) Barriere, der Plazentaschranke, getrennt. Diese ist embryonaler beziehungsweise fetaler Herkunft. Die Grenzmembranen – und hier vor allem der Trophoblast – kontrollieren den aktiven und passiven Stoffaustausch zwischen Mutter und Kind. Atemgase können passiv diffundieren (1).

Nach einer klinisch unauffälligen Schwangerschaft löst sich die Plazenta nachgeburtlich vom Uterus und wird mit den Eihäuten als Nachgeburtsgeboren. Sie wiegt ungefähr 500g, hat einen Durchmesser von ca. 18-20 cm und misst eine durchschnittliche Dicke von 2-3 cm (postpartal, per Ultraschall gemessen) (2).

1.1.2 Entwicklung der menschlichen Plazenta

In der Präimplantationsphase durchläuft die befruchtete Eizelle während der Passage durch die Tuba uterina mehrere Teilungsstadien, um als Blastozyste fünf bis sechs Tage p.c. (post conceptionem) am Implantationsort im Uterus anzukommen (3). Die meisten Zellen der Blastozyste bilden die Außenwand der Blastozystenhöhle, den Trophoblasten, welcher der direkte Vorläufer des plazentaren fetalen Epithels ist. Aus der inneren Zellmasse, dem Embryoblasten, gehen der Embryo, die Nabelschnur und das Amnion sowie bindegewebige Anteile der Plazenta hervor (4). Die Invasivität des Trophoblasten und die durch die Gelbkörperhormone veränderte Uterusschleimhaut mit Dezidua und Spiralarterien ermöglichen die Implantation, sobald die Blastozyste in Kontakt mit der Uteruswand gekommen ist (5). Normalerweise heftet sich die Blastozyste mit der Seite an die Gebärmutter, an der innen der Embryoblast liegt.

Diese Seite wird Implantationspol genannt. Während der Adhäsion des Trophoblasten am Endometrium proliferiert dieser stark und seine apikalen Zellen verschmelzen miteinander in ein synzytiales, polynukleäres Konstrukt, den Synzytiotrophoblasten (6). Dieser bildet die apikale Schicht des nunmehr zweischichtigen Epithels. Die basale Schicht des Trophoblasten besteht weiterhin aus einzelnen Zellen und wird als Zytotrophoblast bezeichnet. Durch die kontinuierliche Proliferation des Zytotrophoblasten erhält der Synzytiotrophoblast auf dem Weg einer zyto-synzytialen Fusion neue Zellorganellen und Zellmaterial. Der rasch wachsende Synzytiotrophoblast ist anfangs der Treiber der invasiven Verankerung der Blastozyste im uterinen Endometrium, d.h. unterhalb des uterinen Epithels. Bald durchstoßen hier einzelne Trophoblastzellen das Synzytium und werden dann die Invasion weiter in die uterinen Drüsen und auch in die uterinen Gefäße, vor allem die Spiralarterien, vorantreiben. Diese invasiven Trophoblastzellen haben sich von der subtrophoblastären villösen Basalmembran gelöst und werden daher auch als extravillöse Trophoblastzellen bezeichnet (6).

Ab dem achten Tag p.c. bilden sich innerhalb des Synzytiotrophoblasten Lakunen, die den Eintritt in die lakunäre oder trabekuläre Phase der Plazentation markieren. Die Balken und Lamellen aus Synzytiotrophoblast, die zwischen den Lakunen bestehen bleiben, werden als Trabekel bezeichnet. Die trophoblastische Hülle der Blastozyste kann nun in drei Schichten aufgeteilt werden: Als erstes kommt die primäre Chorionplatte auf der Seite der Blastozystenhöhle, als zweites das synzytial umschlossene Lakunensystem mit seinen Trabekeln in der Mitte und als drittes die zelluläre Trophoblastenschale zum Endometrium hin (4, 6, 7).

Da die Proliferation und die Fusion des Trophoblasten vom Implantationspol ausgegangen sind, ist die Wand des Trophoblasten dort sehr viel dicker als an der gegenüberliegenden Seite. Im Verlauf der Schwangerschaft wird die dickere Trophoblastenschicht zur eigentlichen Plazenta (Chorion frondosum) und der dünnere Teil gegenüber wird chorialer Bestandteil der Eihäute (Chorion laeve) werden (4).

Am zwölften Tag p.c. wächst der proliferierte Zytotrophoblast von der primären Chorionplatte entlang der Trabekel bis zur Trophoblastenschale. Die Proliferation des Zytotrophoblasten innerhalb der Trabekel ist entscheidend für ihr Längenwachstum und ihre Verzweigung. Die rein trophoblastären Zweige, die blind in die Lakunen hineinragen, sind die ersten Zotten der entstehenden Plazenta und werden als

Primärzotten (*primary villi*) bezeichnet. Die bisher noch ungefüllten Lakunen werden ab diesem Stadium als intervillöser Raum beschrieben. Zeitgleich zu dem Entstehen der primären Zotten wachsen Zellen des extravillösen Trophoblasten invasiv in endometriale Drüsen und mütterliche Gefäße ein (6). Letztere bleiben jedoch bis ca. zur zwölften Schwangerschaftswoche (SSW) von so genannten „*trophoblast plugs*“ (6) verschlossen. Solche *trophoblast plugs* verhindern den Eintritt zellulärer Blutkomponenten, v.a. der Erythrozyten, in den intervillösen Raum. Wie viel Blutplasma zu diesem Zeitpunkt einströmt, ist noch nicht klar. Das bedeutet, dass der Embryo bis zum Ende des ersten Trimenons nicht hämotroph (über das Blut, aerob), sondern überwiegend histiotroph (durch Drüsensekrete uteriner Drüsen, anaerob) versorgt wird. Zu erkennen ist dies auch daran, dass der Sauerstoffdruck im intervillösen Raum von der zehnten SSW bis zur zwölften SSW von unter 20 mmHg bis über 50 mmHg ansteigt (8).

Zwischen dem 15. und 20. Tag p.c. wächst stark proliferierendes extraembryonales Mesenchym in die Primärzotten ein: Sobald ein mesenchymaler Zottenkern vorhanden ist, werden die Zotten als Sekundärzotten bezeichnet. Durch angiogene und hämatopoetische Prozesse innerhalb des eingewanderten Mesenchyms bilden sich 20 Tage nach Konzeption die ersten fetalen Blutgefäße. Ab dem Auftritt solcher hämangiopoetischer Foci im Zottenkern, werden die Zotten als Tertiärzotten bezeichnet. Alle ab diesem Stadium entstehenden Zotten, die heranreifen und sich verzweigen werden, sind Tertiärzotten (9). Ihr struktureller Aufbau aus dem Synzytiotrophoblasten, dem Zytotrophoblasten, dem Mesenchym und den fetalen Gefäßen gehört zu den grundlegenden Teilen der Plazentaschranke (6). Die Gefäße der Zotten erhalten über die entstandenen Gefäße in der Chorionplatte und im Haftstiel (Vorläufer der Nabelschnur) Anschluss an die embryonalen Blutbahnen (10) und spätestens in der zehnten Woche p.c. ist der komplette fetoplazentare Blutkreislauf entstanden (11).

Der uteroplazentare Kreislauf bildet sich zwischen der achten und zehnten SSW, indem der extravillöse Trophoblast die Spiralarterien von Gefäßen mit hohem Widerstand und geringem Durchfluss zu großen, erweiterten Gefäßen umwandelt (Remodeling) (11, 12). In diesen dilatierten Gefäßen lösen sich die *trophoblast plugs* auf und das maternale Blut findet Anschluss an den intervillösen Raum, wo das

maternale Blut die Zotten umspült und über die durch die Invasion des extravillösen Trophoblasten ebenfalls eröffneten Venen wieder abfließen kann (6, 13, 14).

1.1.3 Aufbau und Funktion der reifen Plazenta

Ab der 13. SSW setzt die Plazenta sich ausgehend vom Embryo hin zur Mutter im Wesentlichen aus diesen drei Anteilen zusammen (10, 13):

1. Der Chorionplatte, die aus Bindegewebe und Chorion-Gefäßen besteht und zum Embryo hin von Amnioneipithel und Amnionbindegewebe überzogen ist.
2. Den vom Trophoblast bedeckten Zottenbäumen, die von der Chorionplatte ausgehend in den intervillösen Raum ragen und von maternalem Blut umspült werden.
3. Der Basalplatte, welche sich aus einer für die Schwangerschaft umfunktionierten Endometriumschicht, der Dezidua, bildet. Dort finden sich auch die invadierten extravillösen Trophoblastzellen sowie zahlreiche NK-Zellen.

Aus der primären Chorionplatte, welche aus Zytotrophoblast und Synzytiotrophoblast entstanden ist, entwickelt sich nach Einwanderung des extraembryonalen Mesoderms (Mesenchym) die Chorionplatte (15). Amnion (mit eigenem Epithel und Bindegewebe) lagert sich der Chorionplatte auf der kindlichen Seite auf. Der Trophoblast begrenzt dieses chorale Bindegewebe zum intervillösen maternalen Blutraum hin und in das chorale Bindegewebe sind auch die Äste der umbilikalen Gefäße eingebettet (13, 16). Die Nabelschnur setzt an der chorialen Seite der Plazenta an und verbindet sie mit dem Kind. In ihr verlaufen die Aa. umbilicales und die V. umbilicalis. Die Gefäße sind in gallertiges Bindegewebe eingebettet, welches von Amnioneipithel bedeckt ist (13).

Der Stoffaustausch, der an den Zottenbäumen im intervillösen Raum stattfindet, sichert die Versorgung des heranwachsenden Kindes und ermöglicht den Abtransport metabolischer Endprodukte. Aus den frühen Tertiärzotten bilden sich unreife Intermediärzotten, die sich dann zu Stammzotten weiterentwickeln. Stammzotten entspringen daher von der Chorionplatte und reichen über mehrere Verzweigungsstufen bis zur Basalplatte. Die reifen Stammzotten verzweigen sich in reife Intermediär- und Terminalzotten der reifen Plazenta (2, 6, 13).

Der Bereich, in dem Trophoblast-Zellen von der Trophoblastenschale aus das Endometrium und Myometrium infiltrieren, wird als junktionale Zone bezeichnet. Ihr

oberflächlicher Teil, der an der Plazenta nach der Plazentaablösung haftet, ist die Basalplatte (6). Von der Basalplatte ausgehend wölben sich Plazentasepten in den intervillösen Raum, welche unvollständig bleiben und die Chorionplatte nicht erreichen. Diese Septen unterteilen die Plazenta in 10-40 Lappen, auch als Kotyledonen bezeichnet, welche mindestens einen Zottenbaum enthalten und postnatal makroskopisch auf der Uterusseite zu sehen sind (6, 12, 13).

Mütterliches Blut umspült im intervillösen Raum die plazentaren Zottenbäume, in denen die fetalen Kapillaren verlaufen. Die Plazentaschranke trennt den intervillösen Raum vom Blut des Kindes. Ausgehend von der maternalen Seite setzt sie sich aus folgenden Zellschichten zusammen: Erstens einer kontinuierlichen Schicht aus Synzytiotrophoblast, zweitens einer kompletten Schicht aus Zytotrophoblast im ersten Trimenon, welche im zweiten und dritten Trimenon lückenhaft wird, drittens aus der Basallamina des Trophoblasten, viertens aus Bindegewebe des Zottenstromas und fünftens aus fetalem Endothel, welches stromaseitig von einer Basallamina umgeben wird (6, 10, 13).

Die Membranen der Plazentaschranke ermöglichen durch verschiedene Mechanismen den Gas- und Stoffaustausch zwischen Mutter und Kind. Die Atemgase O₂ und CO₂ werden durch einfache Diffusion ausgetauscht, Glucose gelangt durch erleichterte Diffusion zum Kind und Aminosäuren werden durch aktiven Rezeptor-Transport eingeschleust. Mit Hilfe von Endozytose sind mütterliche Immunglobuline der Klasse IgG und Antikörper gegen das Rhesus-D-Antigen plazentagängig. Auch Alkohol, viele Medikamente und bestimmte Krankheitserreger können die Plazentaschranke passieren.

Die Hormonproduktion des Synzytiotrophoblasten trägt zur endokrinen Funktion der Plazenta bei, welche dabei hilft, die Schwangerschaft aufrechtzuerhalten. Zu den Hormonen zählen unter anderem das humane Chorion-Gonadotropin (HCG) und Gestagene wie Progesteron (13, 17).

1.2 Präeklampsie

Als eine schwangerschaftsinduzierte Erkrankung gehört die Präeklampsie (PE) mit der Gestationshypertonie, der Eklampsie und dem HELLP-Syndrom zu den hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen der Mutter (18). Die Inzidenz der PE liegt in den USA, Kanada und Westeuropa zwischen 2 – 5% (19). „Eine chronische Hypertonie oder Gestationshypertonie mit mindestens einer in der Schwangerschaft neu auftretenden

Organmanifestation, welche keiner anderen Ursache zugeordnet werden kann“ (20), wird als PE definiert. In vielen Fällen ist die Niere mit einer Proteinurie (Protein/Kreatinin-Quotient ≥ 30 mg/mmol) betroffen (20). Unterschieden wird zwischen der „Early-Onset-Präeklampsie“ (EOPE), welche vor der 34. SSW auftritt und eine höhere Morbidität und Mortalität für Mutter und Kind als die „Late-Onset-Präeklampsie“ (LOPE) aufweist, die nach der 34. SSW entsteht (20). Bisher gibt es keinen aussagekräftigen Screening-Test für alle Schwangeren zur sicheren Früherkennung einer möglicherweise auftretenden PE. Die Risikoabschätzung - insbesondere der EOPE - im 1. oder 2. Trimenon besteht aus maternalen Daten (Alter, Anamnese/Risikofaktoren, Body-Mass-Index, ethnische Zugehörigkeit) in Kombination mit Risikofaktoren wie dem mittleren arteriellen Blutdruck, den biochemischen Markern (PAPP-A, PIGF) und der Dopplersonographie der A. uterinae, die mit einer Sensitivität von bis zu 93 %, der beste Marker ist. Zur Prädiktion einer PE im 2. und 3. Trimenon werden bei jeder Untersuchung nach den Mutterschaftsrichtlinien Blutdruck und Proteinurie erhoben. Zusätzlich können die Dopplersonographie der A. uterinae und die Bestimmung angiogener Faktoren eingesetzt werden (20). Zu den angiogenen Faktoren werden die *soluble Fms-like tyrosine kinase-1* (sFlt-1) und der *Placental Growth Factor* (PIGF), beziehungsweise der Quotient aus beiden - sFlt-1/PIGF - gezählt. sFlt-1 ist ein abgespleißtes Protein des *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)-Rezeptors, welches in der Plazenta vom extravillösen Trophoblasten exprimiert wird und als starker VEGF- und PIGF-Antagonist wirkt. Die physiologische Bedeutung von sFlt-1 ist bislang unklar (21, 22). VEGF und PIGF fördern die Angiogenese (23). Bei der PE zeigt sich ein Überschuss an sFlt-1, welches an VEGF und PIGF bindet und dazu führt, dass deren Konzentration im feto-maternalen Blutkreislauf sinkt. Vasokonstriktion und Endothelschäden sind die Folge, wodurch eine PE oder IUGR (intrauterine Wachstumsrestriktion) entstehen können. Ein hoher sFlt-1/PIGF-Quotient ist mit einem erhöhten Risiko für eine PE verbunden und kann ein hilfreicher Prädiktor für PE assoziierte Schwangerschaftskomplikationen sein (24–26). Die Arbeit von Rana et al. untersuchte Schwangere mit dem Verdacht auf eine PE im 3. Trimenon und konnte zeigen, dass ein sFlt-1/PIGF-Quotient ≥ 85 mit neuen PE-typischen Organmanifestationen sowie einer Entbindung zwei Wochen nach der letzten Vorstellung verbunden war (25). Ein sFlt-1/PIGF-Quotient ≤ 38 wiederum hat einen hohen negativen Vorhersagewert (99,3%) und schließt das Auftreten einer PE innerhalb der folgenden Woche sicher aus (27). Laut der aktuellen Leitlinie der

deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe „kann bei hohem Risiko für eine PE sFlt-1 alleine oder in Kombination mit sFlt-1 (sFlt-1/PIGF-Quotient) im Blut der Schwangeren gemessen werden, mit dem Ziel, eine PE auszuschließen oder die Entwicklung einer PE frühzeitig zu erkennen“ (20).

Die PE ist primär eine Erkrankung der Plazenta (28), die aber klinisch besonders auf der maternalen Seite symptomatisch wird. Die Zottenbäume der Plazenta sind das zentrale Element der funktionalen Mikroarchitektur, von denen vermutet wird, dass ihre Struktur und Funktion eine bedeutsame Rolle bei der symptomatischen Manifestation der Erkrankung in der zweiten Schwangerschaftshälfte spielen (29).

1.2.1 Uterus und Plazenta bei der Entstehung einer PE

Das fetoplazentare Gefäßbett muss sich ständig an die steigenden Anforderungen des wachsenden Embryos/Fetus anpassen (30). Somit bedingen sich das Wachstum der Plazentazotten und die Angiogenese der fetoplazentaren Gefäße, damit der Stoffaustausch und insbesondere der Gasaustausch per Diffusion weiterhin gewährleistet sind (31). Der Trophoblast, bestehend aus dem Syncytiotrophoblasten und dem Zytotrophoblasten, bildet als epitheliales Gewebe die äußere Hülle der Zottenbäume und ist der wichtigste Akteur für den fetomaternalen Austausch und für die sekretorischen Funktionen der Plazenta. Hierbei übernimmt der Syncytiotrophoblast die epithelialen Aufgaben und der Zytotrophoblast sichert die Proliferationsreserve, indem seine Zellen von basal aus mit dem Syncytiotrophoblasten fusionieren (32).

Der Syncytiotrophoblast schüffert ausgediente Bestandteile, darunter auch fetale DNA, in den intervillösen Raum ab, welche dann im Blut der Schwangeren zu finden sind (33, 34). Der Abschilferungsprozess durch Apoptose kostet viel Energie (35, 36). Fehlt diese, kommt es zu nekrotischen Ablagerungen der ausgedienten Bestandteile und es wird vermutet, dass diese nekrotischen Beimengungen mütterliche Makrophagen aktivieren, welche das Endothel der maternalen Gefäße zerstören (35). Diese Vorgänge könnten ein Teil der Pathogenese einer PE sein (6). Den Energiemangel assoziieren Mayhew et al. mit der im intervillösen Raum herrschenden Hypoxie, welche durch die mangelnde Invasion der Spiralarterien des extravillösen Trophoblasten in der frühen Schwangerschaft verursacht wird. Eine ischämische Reperfusion führt zur Schädigung des Trophoblasten und des Gefäßendothels (37). Es gibt jedoch Studien und rheologische Modellrechnungen, die darauf hinweisen,

dass bei nicht vollständig geöffneten Spiralarterien kein Sauerstoffmangel in der Plazenta vorliegt (38, 39).

1.2.2 PE und IUGR als ischämische Plazentaerkrankungen

Der Begriff der ischämischen Plazentaerkrankung fasst vor allem die Syndrome PE und IUGR unter einer gemeinsamen pathogenetischen Hypothese zusammen. Die pathophysiologische Grundlage dieser geburtshilflichen Syndrome ist demnach die uteroplazentare Ischämie und die Plazentainsuffizienz (40) aufgrund einer zu flachen Implantation der Plazenta und eines unzureichenden Remodelings der Spiralarterien durch invadierende Trophoblastzellen im ersten Trimenon (12, 30, 37, 41, 42). Wie jedes der beiden Syndrome schlussendlich im Verlauf der Schwangerschaft klinisch zu Tage tritt, hängt bei dieser pathogenetischen Hypothese von der Anpassung an die pathologischen Bedingungen ab. Hierbei spielen sowohl genetische Faktoren als auch Umwelteinflüsse eine Rolle (40, 43, 44). Bekannt ist, dass der mangelhafte Umbau der Spiralarterien zu veränderten Strömungsverhältnissen im intervillösen Raum führt (38), was die Reifung der Zottenbäume beeinflussen kann (28, 45). Warum es bei der IUGR zu fetalen und plazentaren Wachstumsstörungen kommt, während die Präeklampsie bei ähnlicher Ursache vor allem eine maternale Symptomatik auslöst, ist nicht klar. Es ist aber möglich, dass hinter diesen Differenzen eine andere Art der Anpassung des Zottenbaumes an die zugrundeliegende maternale Perfusionsproblematik steckt. Das ist aus der Position des Zottenbaums abzuleiten, der sowohl zur fetalen als auch zur maternalen plazentaren Zirkulation direkten Kontakt hat. Dies trifft für keine andere plazentare Struktur zu.

Bei der IUGR konnten inzwischen durch Stereologie und 3D-Mikroskopie wesentliche Probleme im Zottenbaum erkannt werden:

- An der Zottenoberfläche – im Synzytium – tritt eine deutlich erhöhte Zellkerndichte auf (46), die nicht mehr sexuell dimorph ist (wie bei normalen Plazenten) (47). Diese Befunde wurden mit Hilfe der 3D-Mikroskopie erhoben.
- Ein spezifischer, durch Gegenwart kontraktiler Zellen im Stroma gekennzeichneter Zottentyp (*contractile villi*: C-villi) ist im Volumen bei IUGR signifikant vermindert und verursacht den plazentaren Gewichtsverlust bei diesem Syndrom (48, 49). Diese Befunde wurden mit Hilfe stereologischer Methoden erhoben, die sich auf den Nachweis des Myofibroblasten-Markers *gamma smooth muscle actin* (y-sm-Aktin) stützten. Die klassisch-histologische

Zotteneinteilung in Stammzotten, Intermediärzotten und Terminalzotten wurde nicht benutzt.

Bei der PE wurden bislang nur klassische stereologische Untersuchungen mit Hilfe der Zottentypisierung nach Kaufmann (Unterteilung nach stromalen Kriterien in Stammzotten, reife Intermediärzotten und Terminalzotten (50)) durchgeführt. Solche klassisch-histologische stereologische Untersuchungen ohne den Nachweis kontraktiler Zellen konnten bisher keine gestörte Zottenreifung nachweisen. Teasdale hat mit Hilfe von quantitativen histologischen Analysen PE Plazenten mit klinisch unauffälligen Kontrollen verglichen und ist zu dem Ergebnis gekommen, dass sie sich morphologisch nicht voneinander unterscheiden (51). Auch andere Forschende konnten mittels solcher klassischer stereologischer Ansätze keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf die Zottenoberfläche und das Zottenvolumen zwischen PE Plazenten und Kontrollplazenten feststellen (37, 52).

Die 3D-Mikroskopie terminaler Zottenbäume ist eine neue Methode (29, 53), für die bisher nur bei IUGR, aber nicht bei PE Vergleichsdaten vorliegen.

1.3 Geschlechtsspezifische Unterschiede der menschlichen Plazenta

Es wird vermutet, dass die geschlechtsspezifische Anpassung der Plazenta eine bedeutende Rolle für das Überleben und das Wachstum des Kindes im Mutterleib spielt (54). Jungen sind häufiger von Frühgeburtlichkeit betroffen und haben eine höhere perinatale Mortalität über die gesamte Schwangerschaft hinweg als Mädchen (55). Der Vergleich von Perzentilen zeigt, dass männliche Nachkommen während der Schwangerschaft schneller wachsen und bei einer termingerechten Geburt größer und schwerer sind als weibliche Nachkommen. Proportional dazu ist das Gewicht von männlichen Plazenten höher (56). Da Plazenten den gleichen Genotyp wie ihr weiblicher oder männlicher Fetus haben, wird davon ausgegangen, dass der Genotyp bei den oben genannten geschlechtsbezogenen Unterschieden eine wichtige Rolle spielt: „Plazenten von weiblichen Feten exprimieren mehr Gene für endokrine Funktionen, Immunregulation und das Plazentawachstum, wohingegen männliche Plazenten eine erhöhte Genexpression für inflammatorische Profile aufweisen“ (57). Dies lässt vermuten, dass der weibliche Genotyp mehr Ressourcen für den Bau der Plazenta mobilisiert, während der männliche Genotyp mehr in das fetale Wachstum investiert, was dazu führt, dass männlichen Feten bei negativen Bedingungen weniger

plazentare Reserven zur Verfügung stehen (57). Auch die Expression von Proteinen und Steroiden in der Plazenta ist geschlechtsdivergent (54, 58).

Die Genexpression betreffend wurden Geschlechtsunterschiede des plazentaren Transkriptoms beschrieben, die laut der Autoren die Plazentafunktion, den Schwangerschaftsverlauf sowie die fetale Entwicklung beeinflussen könnten (59–61).

Je nach Geschlecht finden sich auch Unterschiede in der mikroskopischen Anatomie des plazentaren Zottenbaums. So war die Flächendichte der nicht-proliferierenden Zellkerne des villösen Trophoblasten, welche mittels des Proliferationsmarkers PCNA detektiert wurden, bei weiblichen NORM Plazenten höher als bei männlichen NORM Plazenten (47).

Aufgrund dieser bisher bekannten geschlechtsspezifischen Unterschiede in menschlichen Plazenten sollen auch die Daten in dieser Arbeit geschlechtsbezogen ausgewertet und verglichen werden.

1.4 Ziele

Bei der IUGR konnten mit Hilfe neuer stereologischer Ansätze (Zottentypisierung an Paraffinschnitten mit Hilfe des Nachweises von Myofibroblasten-Markern) und auch durch die neu implementierte 3D-Mikroskopie an *Whole-mount* Präparaten peripherer Zottenbäume neue Erkenntnisse über den pathologisch veränderten Zottenbaum gewonnen werden.

IUGR und PE sind auf gemeinsame pathogenetische Anfangsveränderungen zurückzuführen, obwohl sie klinisch sehr unterschiedlich verlaufen.

Daher ist klar, dass diese neuen Methoden auch auf die Zottenbäume der Plazenten bei PE angewandt werden müssen, um das Bild von der Mikroarchitektur des Zottenbaums bei PE im Vergleich zu verbessern.

Insbesondere sollen – stets im Vergleich zu Plazenten aus klinisch unauffälligen Schwangerschaften – folgende Ziele erreicht werden:

1. Der Trophoblast der Zottenoberfläche, insbesondere die Zellkerndichte im Synzytium, soll bestimmt werden. Dabei wird nach proliferierenden Zellkernen (PCNA positiv) und nicht proliferierenden Zellkernen (PCNA negativ) unterschieden.

2. Verzweigungswinkel (an Verzweigungsstellen) sowie Länge, Durchmesser und Volumen der im Endbereich des Zottenbaums liegenden Zotten sollen bestimmt werden.
3. Die (Teil-)Volumina der Zotten mit perivaskulären stromalen Myofibroblasten (C-villi) und der Zotten ohne perivaskuläre stromale Myofibroblasten (NC-villi) sollen bestimmt werden.

Diese Daten sollen in der Gesamtschau – auch mit den von der IUGR bekannten Befunden – diskutiert und in einen wissenschaftlichen und pathogenetischen Kontext einbezogen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Studienmaterial

In dieser Studie wurden 20 Plazenten aus Schwangerschaften mit Präeklampsie (PE Plazenten) und 20 Plazenten aus klinisch unauffälligen Schwangerschaften (NORM Plazenten) untersucht, die im Zeitraum von Dezember 2017 bis November 2018 in der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie der Frauenklinik des Krankenhauses Dritter Orden in München gesammelt wurden. Die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität hat der Studie mit den NORM Plazenten unter der Nummer 084-11 und mit den PE Plazenten unter der Nummer 478-12 zugestimmt. Die Diagnose einer PE sowie der Befund über die klinisch unauffällige Schwangerschaft wurde von den Geburtshelfern gestellt. Es wurden nur Plazenten verwendet, bei denen die Eltern vor der Geburt ausführlich über die Verwendung zu Forschungszwecken aufgeklärt wurden und dieser schriftlich und ausdrücklich zugestimmt haben. Dabei mussten die sprachlichen und psychischen Voraussetzungen der Eltern vorliegen, um eine eigene Entscheidung zu dieser Erklärung treffen zu können. Plazenten, für die aus Sicht der Geburtshelfer keine Indikation zur Untersuchung in der Pathologie besteht, werden normalerweise mit dem Krankenhausabfall entfernt. Solche für die Entsorgung bestimmten Plazenten wurden stattdessen anonymisiert dem Lehrstuhl II der Anatomischen Anstalt für das Forschungsvorhaben zugeführt. Wurde eine histopathologische Untersuchung von den behandelnden Gynäkologen angefordert, wurde diese anonymisiert und nach der Probenentnahme für diese Studie durch Fachärzte der Anatomischen Anstalt durchgeführt.

Nach der Geburt wurden die Plazenten mit einer anonymisierten Nummer versehen und in einer Tüte verpackt im Kühlschrank bei 4-8°C aufbewahrt, bis sie einmal täglich abgeholt wurden, um dann unter Einhaltung der Kühlkette ins Labor der Anatomischen Anstalt der LMU München transportiert zu werden. Hier erfolgte umgehend die Untersuchung und Bearbeitung der Plazentaspenden im Labor.

2.2 Klinische und makroskopische Daten

Folgende Daten wurden mit den Plazenten übermittelt: Erstens die klinische Fallgruppe (ob PE oder NORM), zweitens das Geburtsgewicht (GG) und das Geschlecht des Neugeborenen, drittens das Gestationsalter bei Geburt in Wochen (GA) und viertens der Geburtsmodus (Entbindung vaginal oder per Sectio). Alle

persönlichen Daten sowie weitere klinische Daten verblieben bei den behandelnden Ärzten im Krankenhaus Dritter Orden.

Im Labor der Anatomischen Anstalt wurde die Plazenta mit der Chorionseite unten liegend, zusammen mit der Eingangsnummer und einem handelsüblichen Lineal fotografiert (Power Shot G12, Canon, Krefeld). Anschließend wurde die Plazenta umgedreht, mit der Chorionseite oben liegend wieder fotografiert und das Gewicht der Plazenta (PG) bestimmt (ohne Nabelschnur, die oberhalb der Chorionplatte abgeschnitten wurde, aber mit Chorion laeve). Mit dem GG und dem PG konnte die Relation PG/GG bestimmt werden (siehe Formel 1) (62).

$$\text{Relation } \frac{PG}{GG} = \frac{PG}{GG} \quad \text{Formel 1}$$

Relation PG/GG: Relation von Plazentagewicht zu Geburtsgewicht des Kindes (Maß für die Abschätzung der relativen Effizienz der Plazenta pro Kindsgewicht), PG: Plazentagewicht, GG: Geburtsgewicht

Des Weiteren wurden mit dem Lineal der längste (LD) und der kleinste Durchmesser (KD) der Plazenta gemessen, wobei der Nabelschnuransatz als Mittelpunkt zu sehen ist. Die Plazentaoberfläche (OF) konnte mit diesen beiden Durchmessern nach Formel 2 näherungsweise berechnet werden (siehe Formel 2) (63).

$$OF = \frac{1}{4} \times \pi \times LD \times KD \quad \text{Formel 2}$$

OF: Plazentaoberfläche, LD: längster Plazentadurchmesser, KD: kleinster Plazentadurchmesser

Die Dicke der Plazenta wurde ohne Druck mit einem Ultraschallgerät (Convex Scanner HS 300, Honda Electronics, Tokyo, Japan) nahe der Insertion der Nabelschnur gemessen.

Material und Methoden

Parameter	Gruppe	NORM	PE	Geschlecht
		Mittelw ± SD (n)	Mittelw ± SD (n)	Mittelw ± SD (n)
GA (Wochen)	♂	38,8 ± 1,3 (10)	34,7 ± 3,5 (10)	36,8 ± 3,3 (20)
	♀	39,3 ± 0,6 (10)	35,0 ± 4,5 (10)	37,2 ± 3,9 (20)
		39,1 ± 1,1 (20)	34,8 ± 4,1 (20)	
GG (g)	♂	3557 ± 435 (10)	2279 ± 862 (10)	2918 ± 935 (20)
	♀	3409 ± 531 (10)	2331 ± 1279 (10)	2870 ± 1118 (20)
		3483 ± 491 (20)	2305 ± 1091 (20)	
PG (g)	♂	690 ± 346 (10)	396 ± 119 (10)	543 ± 297 (20)
	♀	574 ± 115 (10)	398 ± 188 (10)	486 ± 179 (20)
		632 ± 264 (20)	397 ± 157 (20)	
PG/GG	♂	0,188 ± 0,071	0,196 ± 0,072	0,192 ± 0,072
	♀	0,169 ± 0,025	0,183 ± 0,042	0,176 ± 0,036
		0,179 ± 0,054	0,190 ± 0,060	
LD (cm)	♂	21,1 ± 1,9 (10)	19,1 ± 4,3 (10)	20,1 ± 3,5 (20)
	♀	20,1 ± 1,8 (10)	18,5 ± 2,5 (10)	19,3 ± 2,3 (20)
		20,6 ± 1,9 (20)	18,8 ± 3,5 (20)	
KD (cm)	♂	18,8 ± 1,2 (10)	15,7 ± 2,4 (10)	17,3 ± 2,5 (20)
	♀	17,8 ± 2,0 (10)	15,4 ± 2,8 (10)	16,6 ± 2,7 (20)
		18,3 ± 1,7 (20)	15,5 ± 2,6 (20)	
OF (cm ²)	♂	1250 ± 179 (10)	968 ± 357 (10)	1109 ± 316 (20)
	♀	1127 ± 200 (10)	907 ± 269 (10)	1017 ± 261 (20)
		1188 ± 199 (20)	937 ± 318 (20)	
Dicke (cm)	♂	1,8 ± 0,3 (10)	1,4 ± 0,4 (10)	1,6 ± 0,4 (20)
	♀	1,6 ± 0,2 (10)	1,3 ± 0,7 (10)	1,4 ± 0,5 (20)
		1,7 ± 0,3 (20)	1,4 ± 0,5 (20)	

Tabelle 1: Deskriptive Statistik der klinischen und makroskopischen Daten. Mittelwerte und Standardabweichung für die NORM und PE Gruppe geschlechtsunabhängig und geschlechtsabhängig aufgeführt.

2.3 Gewebeentnahme nach dem *systematic random sampling*

Für die Stereologie an Paraffinschnitten und die 3D-Mikroskopie an *Whole-mount* Präparaten erfolgten die Probenentnahmen des Plazentagewebes nach dem systematischen Zufallsprinzip (53, 64, 65), wobei zuerst die Entnahme der Proben für die Stereologie nach folgendem Vorgehen erfolgte: Als erstes wurde die Plazenta mit der Chorionplatte nach oben unter einen Projektor Mini-LED LB 936 (SceneLights Technologie, Buggingen) gelegt, welcher immer ein gleiches Punkteraster auf die Plazenta projizierte, dessen Umfang etwa der Größe des Tablets, auf dem die Plazenta lag, entsprach (Abbildung 1). Als zweites wurde mit einem beschrifteten Pin der Punkt markiert, der sich als erster vollständig auf die linke obere Ecke der Plazenta projizierte. Die fünf weiteren Probeentnahmestellen wurden je nach Plazentagröße dem ersten Pin folgend beim vierten, dritten oder zweiten nachfolgend projizierten Punkt mit dem jeweiligen Pin markiert (Abbildung 1, Pin 1-6). Weitere Probeentnahmestellen zur Bearbeitung sowie die Insertion der Nabelschnur wurden mit weiteren Pins bestückt. Die Gewebeprobe zur Isolierung einer einzelnen peripheren Plazentazotte wurde zwischen den Punkten 3 und 4 markiert (Abbildung 1). Als drittes wurde die Plazenta im Tablett mit einem Lineal als Maßstab fotografiert.

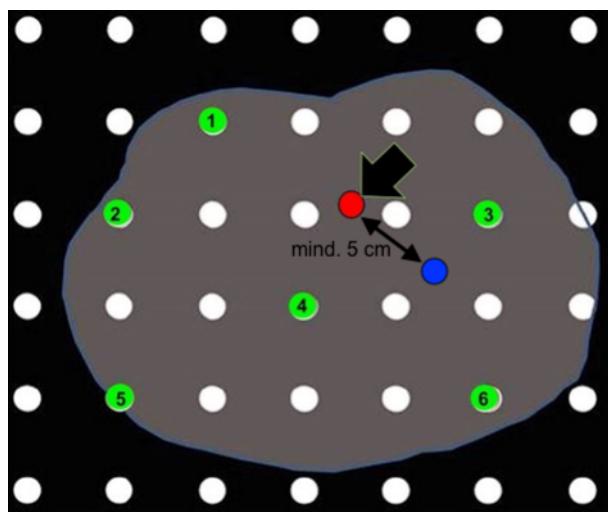


Abbildung 1: Punkteraster zur randomisierten Gewebeentnahme: Die Abbildung zeigt ein schematisiertes Beispiel, in dem die Plazenta grau vor schwarzem Hintergrund dargestellt ist. Über einen LED-Projektor werden helle Lichtpunkte auf die choriale Seite der Plazenta projiziert. Die Entnahmepunkte werden ermittelt, indem der erste Lichtpunkt, der links oben auf die Plazenta fällt, mit einem Pin (grün, bezeichnet mit 1) markiert wird. Von da aus werden die Lichtpunkte im Schema zeilenweise auf der Plazentafläche weiterverfolgt. Jeder vierte Lichtpunkt auf der Plazenta erhält einen weiteren Pin mit aufsteigender Nummerierung. Die Position der Nabelschnur (Nabelschnurinsertion) wurde mit einem roten Pin (Pfeil) markiert. Die nummerierten grünen Punkte sind die Entnahmestellen der Proben 1-6. Der blaue Punkt markiert die Entnahmestelle für die Probe zur Isolierung einzelner Plazentazotten (65).

Als viertes wurden die Gewebeproben an den sechs markierten Stellen mit einer Kantenlänge von 0,5–1 cm mittels einer Schere entnommen. Dabei wurde darauf

geachtet, dass jede Gewebeprobe alle Strukturen zwischen Basal- und Chorionplatte enthält.

2.4 Whole-mount Präparation eines Zottenbaums

Die Gewebeprobe, welche im Rahmen des *systematic random sampling* (vgl. 2.3 und Abbildung 1) für die Isolierung einzelner peripherer Plazentazotten markiert worden war, wurde nach ihrer Entnahme (mit einer Randlänge von 2–3 cm) in eine 4 °C temperierte physiologische Kochsalzlösung gelegt. Die Präparation der einzelnen peripheren Plazentazotten begann innerhalb einer Stunde nach der Probenentnahme für die Paraffineinbettung. Unter einem binokularen Mikroskop (M400, Wild Heerbrugg, Heerbrugg, Schweiz) und zusätzlicher Beleuchtung (KL 1500 electronic, Schott/Zeiss, Jena, Deutschland) wurden freie Zottenbäumchen (2–4 mm) identifiziert und mit Hilfe einer feinen Schere und Pinzette vorsichtig aus dem Gewebe gelöst. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Bäumchen nur an der Stammzotte berührt wurden, damit die peripheren Teile des Bäumchens sich unbeschädigt in der Lösung entfalten konnten. Die isolierten Zottenbäumchen wurden in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß (2 ml) mit 4,5 %-igem Formaldehyd (phosphatgepuffert, pH 7.2; RotiHistofix, #5666.2, Carl Roth, Karlsruhe) über Nacht fixiert. Die folgenden Schritte erfolgten alle bei langsamer Bewegung auf einem Schrägrotator oder 3D-Schüttler.

2.4.1 Immunhistochemie der isolierten peripheren Zottenbäume

Die isolierten peripheren Zottenbäume wurden nach der Fixation 60 Minuten lang in Leitungswasser und kurz in destilliertem Wasser gewaschen, durch eine aufsteigende Alkoholreihe (50%, 70%, 80%, 96%, jeweils für 5 Minuten) in 100% Ethanol übertragen und dann durch die gleichen Alkoholkonzentrationen von 100% Ethanol in destilliertes Wasser zurückgeführt. Diese Schritte wurden durchgeführt, um Membranlipide aus Membranen des fixierten Gewebes für eine bessere Antikörperpenetration zu entfernen. Als nächstes wurden die Zottenbäume kurz in kaltem 1N HCl gewaschen. Die Demaskierung der Antigene wurde durch die Inkubation für 10 Minuten in 1N HCl bei 60°C, gefolgt vom Waschen in destilliertem Wasser (3 x 10 Minuten) und die Überführung in PBS (Phosphat-gepufferte Salzlösung) für die Immunhistochemie erreicht. Endogene Peroxidasen wurden blockiert (3%-iges H₂O₂ für 20 Minuten; Artikel-Nr. 1.07209; Merck, Darmstadt) und es folgte das dreimalige Waschen mit PBS, wovon das 3. Mal mit PBS und 0,1%-igem Tween (Polyethylenglykol-Sorbitan-Fettsäureester; nichtionisches Tensid) erfolgte.

Nachdem sich die Zottenbäume für 15 Minuten in einer Blockierungslösung befanden, wurden sie mit den primären Antikörpern (Maus-Anti-PCNA, 1:9000 im PBS-Puffer; Artikel Nr. 180110; Invitrogen GmbH, Karlsruhe) für 60 Minuten bei Raumtemperatur, dann über Nacht bei einer Temperatur von 4°C und am nächsten Tag für weitere 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Zottenbäume für 3 x 15 Minuten in PBS gewaschen. Die Blockierungslösung vor dem primären Antikörper, der sekundäre Antikörper und der Streptavidin-Komplex wurden aus dem ZyoChem-Plus HRP-Kit (Artikel Nr. HRP125; Zytomed Systems, Berlin) gemäß den Kit-Protokollen eingesetzt. Nun wurden die Präparate in der Lösung mit dem sekundären Antikörper für 15 Minuten inkubiert, dann für 3 x 15 Minuten in PBS gewaschen, 15 Minuten mit dem Streptavidin-Komplex inkubiert und erneut für 3 x 15 Minuten in PBS gewaschen. Die Visualisierung der Zellkerne geschah durch die Peroxidase-Detektion mit Diaminobenzidin (DAB) als Substrat für 15 Minuten mit Waschen in destilliertem Wasser (3 x 15 Minuten).

2.4.2 Gegenfärbung der isolierten peripheren Zottenbäume

Zur leichten Anfärbung aller Zellkerne wurde Mayer's Hämalaun (1:4 verdünnt mit destilliertem Wasser, pH 2.4) für 10 Minuten bei Zimmertemperatur verwendet, um eine schwache Kerngegenfärbung zu erreichen. Gebläut wurden die Proben, in dem sie für 5 Minuten mit Leitungswasser (alkalisch) gewaschen und im Anschluss kurz mit destilliertem Wasser gespült wurden. Auf eine aufsteigende Alkoholreihe (50%, 70%, 80%, 96% jeweils für 5 Minuten, 100 % Ethanol über Nacht) folgte der Wechsel der Proben in ein Ethanol/Xylool 1:1-Gemisch für 5 Minuten und danach in frisches und pures Xylool für 6 Stunden. Schließlich wurden die Proben mit viel DePeX (Eindeckmedium DePeX Mountant for histology, Sigma Aldrich, Nr. 06522, München) in einen konkaven Hohlschliff-Objektträger eingedeckt, so dass der Zottenbaum seine 3D-Struktur aufrechterhalten konnte. Die Präparate hatten einen echten 3D-Charakter und berührten weder den Hohlschliff-Objektträger noch das Deckglas (53).

2.5 Aufbereitung der Gewebeproben für die Stereologie

2.5.1 Anfertigung der 2D-Schnitte

Alle sechs Gewebeproben, die mit Hilfe des *systematic random sampling* zur Entnahme ausgewählt worden waren, wurden für mindestens 24 Stunden bei 4°C in 4,5 %-igem Formaldehyd (phosphatgepuffert, pH 7.2; RotiHistofix, #5666.2, Carl Roth,

Karlsruhe) fixiert, routinemäßig aufbereitet und in Paraffin eingebettet (65). Im Anschluss wurden aus den Paraffinblöcken mit Plazentagewebe mittels eines Paraffin-Schlittenmikrotoms (SM2000R; Leica, Wetzlar) 4 µm dünne Schnitte angefertigt, welche auf einem Superfrost-plus-Objektträger (Gerhard Menzel, Braunschweig) aufgebracht und luftgetrocknet wurden um dann im Brutschrank bei 48°C über Nacht nachgetrocknet zu werden. Nach der Entparaffinierung standen die Schnitte für die Immunhistochemie zur Verfügung.

2.5.2 Immunhistochemie der 2D-Schnitte

Die immunhistochemische Doppelfärbung des Kapillarendothels und der perivaskulären Manschette der Plazentazotten erfolgte nach einem festgelegten Protokoll in zwei Schritten an jeweils einem Tag und wird hier nur kurz beschrieben. Für weitere Information siehe (66).

Im ersten Schritt erfolgte die immunhistochemische Markierung des fetalen Kapillarendothels durch Antikörper gegen das Oberflächenprotein CD34 (1:900 in PBS-Puffer; Art.-Nr. MS-363-PO; Thermo Fisher Scientific, Dreieich) mittels Peroxidase-Reaktion (Diaminobenzidin, DAB) über einen ABC-Komplex. Im zweiten Schritt wurden die kontraktile Zellen (Myofibroblasten) der perivaskulären Manschette mit Hilfe des Antikörpers gegen γ-sm-Aktin (1:900 in PBS-Puffer; Art.-Nr. 69133; MP Biomedicals, Eschwege) und nach Inkubation mit einem biotinylierten Sekundär-Antikörper über die Kopplung mit einem Streptavidin-β-Galactosidase Konjugat durch Galactosidase-Nachweis (X-Gal; Art.-Nr. B1690; Invitrogen, Dreieich) blaugefärbt. Der Umgang mit den beiden Antikörpern richtete sich nach den zugehörigen Kit-Protokollen. Zur besseren Orientierung während der mikroskopischen Analyse wurden die Zellkerne mit Hämalaun gefärbt.

2.6 Computer-assistierte 3D-Analyse der isolierten peripheren Zottenbäume

Die 3D-Analyse der peripheren Zottenbäume wurde an computergesteuerten Mikroskopen, welche den Objektivtisch entlang aller drei Raumachsen X, Y und Z bewegen konnten, mit Hilfe der Software Neurolucida (Version 11.02; MBF Bioscience, Williston, VT, USA) durchgeführt. Unter zweifacher Vergrößerung des Objektivs wurde ein peripherer Zottenbaum, der nicht von anderen Zottenbäumen überlagert wurde und einzeln darstellbar war, scharf fokussiert und mit einem Referenzpunkt (*reference*

point) für die Analyse im 3D-System der Software digital verankert. Zur Erfassung des Referenzpunktes wurde ein Screenshot erstellt und gespeichert.

Folgende zwei Arbeitsplätze wurden zum Mikroskopieren und Tracing verwendet:

- 1) Lichtmikroskop (Axioskop; Zeiss, Göttingen) mit motorisiertem XYZ Objekttisch (Maerzhaeuser, Wetzlar), 3-Achsen-Tischsteuerungseinheit LEP MAC 6000 XYZ (Ludl Electronic Products, Hawthorne, NY USA), Messtaster MT 1271 (Dr. Johannes Heidenhain, Traunreut) und digitale Farbkamera (3/4“ CCD chip, 1,92 MP, 1600x1200 Pixel, MBF Bioscience, Williston, VT, USA)
- 2) Lichtmikroskop BX50 (Olympus, Tokyo, Japan) mit motorisiertem XYZ Objekttisch (MBF Bioscience, Williston, VT, USA), Steuereinheit LEP MAC 6000 XYZ, Messtaster MT 1271 und digitale Farbkamera (1/2“ CCD Chip, 1392x1040 Pixel, MBF Bioscience, Williston, VT, USA)

2.6.1 Tracing nach dem *terminal distance ordering*

Das Tracing (3D-Nachzeichnen) der ausgewählten Zottenbäume erfolgte unter einem Objektiv mit einer 20-fachen Vergrößerung nach dem *terminal distance ordering*, da das biologische Ende des peripheren Zottenbaums als terminales Ende definiert wurde. Die Abzweigungen der Zottenbäume wurden nach ihrem Abstand vom terminalen Ende bis zum jeweiligen Verzweigungspunkt (Knoten) klassifiziert (29, 53). Es wurden die Buchstaben b für *branch* (Zweig) und T für *terminal* verwendet. Somit bezeichnete bT0 einen Zweig in Endstellung, bT1 einen Zweig, der einen Knoten, bT2 einen Zweig, der zwei Knoten und allgemein bTX einen Zweig, der X Knoten vom nächstgelegenen terminalen Ende entfernt war (29). So konnten auf jeder Ebene des *terminal distance ordering* die Anzahl der Knoten und Zweige der gesamten Plazentazotte erfasst werden und zudem Daten wie planare Verzweigungswinkel, Durchmesser, Länge, Oberfläche und Volumen jedes einzelnen Zweiges ermittelt werden. Zusammengefasst wurden diese Daten als mittlerer planarer Verzweigungswinkel (bTX_mpa), mittlerer Durchmesser (bTX_md), mittlere Länge (bTX_ml), mittlere Oberfläche (bTX_ms) und mittleres Volumen (bTX_mv). Der planare Verzweigungswinkel eines durch Tracing erfassten Zweiges wurde als die Richtungsänderung des Zweiges in Bezug auf den vorherigen Zweig definiert. Die Richtung eines jeden Zweiges bestimmten seine Endpunkte (terminales Ende oder Knoten).

2.6.2 Identifikation der Zellkerne des villösen Trophoblasten

Die großen rundlichen Zellkerne des villösen Trophoblasten wurden während des Tracings der peripheren Zotten durch kontinuierliches Fokussieren auf der Zottenoberfläche sichtbar und ließen sich klar voneinander und von den länglichen stromalen Zellkernen im Inneren der Zotten unterscheiden. Aufgrund ihrer immunhistochemischen Färbung (vgl. 2.4.1) mit dem Zellproliferationsmarker PCNA konnten sie als PCNA positiv oder PCNA negativ mittels eines Mausklicks markiert werden. Die Computersoftware Neurolucida bestimmte automatisch die dreidimensionalen XYZ-Koordinaten eines jeden markierten Zellkernmittelpunktes und ordnete jede Zellkernmarkierung ihrem zugehörigen Zottenbaumabschnitt zu. Zudem zählte sie jeden markierten Zellkern einzeln.

Später wurden diese Daten erstens zur Analyse der Flächendichte der Zellkerne an der Zottenoberfläche eines jeden Zweiges nach dem *terminal distance ordering* (bT0, bT1, bT2, bTX) und zweitens zur Ermittlung der Abstände der Zellkerne zu ihren nächsten Nachbarn (*mean nearest neighbor distance*, NND) für den gesamten untersuchten Zottenbaum verwendet.

Die Flächendichte wurde einzeln für die PCNA positiven und PCNA negativen Zellkerne und für alle Zellkerne des villösen Trophoblasten berechnet, indem die Anzahl der Zellkerne pro Zweig durch die Oberfläche des Zweiges geteilt wurde. Zudem wurde die Anzahl der Zellkerne der gesamten Zotte und ihrer Zweige, die entweder PCNA positiv oder PCNA negativ waren, bestimmt und die PCNA Indizes der Zweige in jeder Kategorie (bT0, bT1, bT2, bTX) getrennt voneinander und von der gesamten Zotte berechnet (siehe Formel 3).

$$Index = \frac{N_{PCNA+}}{N_{PCNA+} + N_{PCNA-}} \times 100 \quad \text{Formel 3}$$

N_{PCNA+} : Anzahl der PCNA-positiven Zellkerne, N_{PCNA-} : Anzahl der PCNA-negativen Zellkerne

Mit den Optionen *branching structure analysis* und *marker analysis* konnten alle Daten, die während des Tracings erhoben wurden, im Anschluss mit der Computersoftware Neurolucida Explorer (MBF Bioscience, Williston, VT, USA) ausgewertet und zur Datensammlung in eine Excel-Tabelle exportiert werden.

2.7 Stereologische Analyse der 2D-Schnitte

Durch die Datenauswertung der stereologischen Messungen lassen sich mehrere Volumina als Teilvolumina der Plazentazotten, die Diffusionsdistanzen an den Zottenoberflächen und die Verzweigungsindices als Maß für die Verzweigungen der Zotten abschätzen. Die einzelnen 4 µm dünnen Schnitte wurden an einem computer-assistierten Arbeitsplatz, welcher sich aus einem modifizierten Lichtmikroskop (Axioskop; Zeiss, Jena), einem motorisierten Probenteller für die automatische Probenentnahme (MBF Bioscience, Williston, VT, USA) und einer Steuereinheit LEP MAC 6000 (Ludl Electronic Products, Hawthorne, NY USA), einem Messtaster MT 1271 (Dr. Johannes Heidenhain, Traunreut), einer digitalen Farbkamera (3/4“ CCD chip, 1,92 MP, 1600x1200 Pixel, MBF Bioscience, Williston, VT, USA) und der Stereologie-Software (Stereo Investigator Version 10, MBF Bioscience) zusammensetzte, untersucht. Der Referenzpunkt wurde nach dem gleichen Verfahren wie unter Kapitel 2.6 beschrieben, ermittelt und meist vom Bildschirm aus gesehen im rechten oberen Rand nahe der Chorionplatte mithilfe eines Screenshots dokumentiert und abgespeichert. In dieser Arbeit sollen nur in Kürze die Schritte der stereologischen Messungen beschrieben werden. Genaue Details finden sich in (48).

Der gesamte Plazentaschnitt, der mit der Stereologie-Software analysiert werden sollte, wurde als ROI (*region of interest*) manuell umrandet und mit Hilfe eines Punkterasters anhand eines festgelegten Zählrahmens untersucherunabhängig in viele Messpunkte unterteilt. Daraufhin wurden die Messpunkte automatisch der Reihe nach angesteuert und die Strukturen, die durch die rechte obere Ecke des Zählrahmens im Präparat getroffen wurden, wurden markiert. Unterschieden wurde zwischen Zotten mit perivaskulären stromalen Myofibroblasten (y-sm-Aktin positiv, C-villi) und ohne perivaskuläre stromale Myofibroblasten (y-sm-Aktin negativ, NC-villi), zwischen Zottenanschnitten mit konvexen und konkaven Anteilen der Zottenoberfläche und zwischen Strukturen, die nicht zum Zottenbaum gehörten wie der intervillöse Raum oder das Fibrinoid.

2.7.1 Abschätzung des Plazentavolumens

Aus den Rohdaten der Messungen wurden über die Formel 4 Schätzungen der Volumenanteile (in ml) für jede Strukturkomponente berechnet. Die relativen Volumina setzten sich aus der Anzahl der markierten Marker geteilt durch die Gesamtanzahl der Marker zusammen und die absoluten Volumina wurden durch die Multiplikation der

Volumendichten mit den Plazentavolumina (das Plazentavolumen ist definiert über das jeweilige Plazentagewicht (PG) geteilt durch die Dichte des Plazentagewebes (1,05 g/ml)) berechnet. (49, 67).

$$MV = \frac{\frac{CM}{CG} \times PG \times 100}{\rho(P)}$$

Formel 4

MV = Volumen des Markers (ml), CM = „Counts“ des Markes, CG = Gesamtanzahl „Counts“ des Schnittes, PG = Plazentagewicht (g), $\rho(P)$ = Dichte der Plazenta (g/ml); hier als 1 g/ml gesetzt

2.7.2 Messung der Diffusionsdistanz

Die Diffusionsdistanz des Sauerstoffes vom mütterlichen Blut zum fetalen Blut wurde mit zwei Punkten, wovon einer am Rand des Trophoblasten und einer am Rand eines fetalen Gefäßes im Zottengewebe gesetzt wurde, mithilfe des Zählrahmens gemessen. Durch die Bildung eines Kreises mit Hilfe des Tools *nearest neighbor* konnte die kürzeste Strecke zwischen Trophoblastoberfläche und endothelialer Oberfläche gefunden werden.

2.7.3 Verzweigungsindex als Maß für Verzweigungen

Wie in 2.7 beschrieben, wurde zwischen konvexen und konkaven Anteilen der Zottenoberfläche in Zottenanschnittsprofilen unterschieden. Der Verzweigungsindex ist dabei der relative Anteil (%) der Zottenoberfläche, der konkav ist. Ungekrümmte und konvexe Zottenoberflächen wurden nicht unterschieden. Diese Herangehensweise bestimmt den Prozentsatz der Zottenanschnitte mit konkaven Anschnittsflächen und kann benutzt werden, um die relative räumliche Dichte von Verzweigungspunkten des Zottenbaums abzuschätzen (48). Ausschließlich an Verzweigungspunkten können bei zufälligem Anschnitt konkave Anschnittsflächen entstehen. Außerhalb von Verzweigungspunkten können nur gerade oder konvexe Anschnittsflächen entstehen.

2.8 Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgte mit den Computerprogrammen MS Excel und R (68). Die aus der Computersoftware Neurolucida Explorer exportierten Werte für die 3D-Mikroskopie und Stereologie sowie die gesammelten klinischen und makroskopischen Parameter wurden in Excel-Tabellen aufbereitet und anschließend in R ausgewertet. Die Signifikanz-Tests und die grafische Darstellung der Ergebnisse wurden in R mit den Routinen *ggbetweenstats* und *grouped_ggbetweenstats* aus dem Package *ggstatsplot* erstellt (69). Für die statistischen Tests wurde das robuste Schätzverfahren

mit winsorisierten Mittelwerten angewendet (70, 71). Im Anschluss wurden die Tests nach Yuen durchgeführt (71, 72).

Die Daten wurden zuerst geschlechtsunabhängig und im Anschluss in Abhängigkeit des Geschlechts innerhalb der PE (n=20) und NORM Gruppe (n=20) ausgewertet. Anzumerken ist, dass die Fallzahl der ausgewerteten 3D-mikroskopischen Daten der peripheren Plazentazotten der PE Gruppe (n=9) geringer als die Fallzahl des gesamten PE Studienmaterials ist. Dies hängt mit dem erhöhten Arbeitsaufwand, der für die Untersuchung der peripheren Zotten mittels der 3D-Mikroskopie notwendig ist, zusammen. Insbesondere für die statistische Analyse der Flächendichte als auch für die mittlere Distanz zum nächsten Nachbarn der PCNA positiven oder PCNA negativen Zellkerne ist die geringe Anzahl (n=9) der peripheren Plazentazotten aus der PE Gruppe kein limitierender Faktor, da hier Zellkerne miteinander verglichen werden und die Anzahl dieser pro mikroskopierter peripherer Plazentazotte enorm hoch ist (Tabelle 2). Diese analytische Vorgehensweise sorgt für eine ausreichende Power der statistischen Analysen (47).

Topo	Reaktivität	PE (n=9)		NORM (n=20)	
		♂ (n=3)	♀ (n=6)	♂ (n=10)	♀ (n=10)
Gesamt	PCNA -	1643	7565	4268	9884
Gesamt	PCNA +	278	1796	595	519
bT0	PCNA -	828	2555	1884	3520
bT1	PCNA -	666	4286	2258	5654
bT0	PCNA +	174	835	266	260
bT1	PCNA +	82	878	306	236

Tabelle 2: Anzahl PCNA (-) und PCNA (+) Zellkerne nach jeweiliger Gruppe. Die Darstellung listet in Zeile 3 und 4 die gesamte Anzahl der PCNA negativen (-) und PCNA (+) Zellkerne für die weibliche (♀) PE und NORM Gruppe und die männliche (♂) PE und NORM Gruppe auf. In den Zeilen 5 – 8 ist die Anzahl der PCNA (-) und PCNA (+) Zellkerne für die bT0 und bT1 Äste angegeben (bT2 Äste wurden für die Summe nicht berücksichtigt).

3 Ergebnisse

3.1 3D-Mikroskopie peripherer Zotten

3.1.1 Zellkerne des villösen Trophoblasten

Geschlechtsunabhängig ist die Flächendichte (FD) von PCNA negativen Zellkernen an der Zottenoberfläche von bT0 und bT1 Ästen in der Gruppe der PE Plazentazotten signifikant niedriger (bT0: $p<0,01$; bT1: $p<0,01$) und die FD der PCNA positiven Zellkerne von bT0 und bT1 Ästen an der Zottenoberfläche signifikant höher (bT0: $p<0,05$; bT1: $p<0,05$) als in der NORM Gruppe (Abbildung 2, Abbildung 3).

Die FD der PCNA negativen Zellkerne an der Zottenoberfläche von bT0 und bT1 Zweigen in der Gruppe der weiblichen PE Plazentazotten ist signifikant niedriger (bT0: $p<0,05$; bT1: $p<0,05$, Abbildung 4) und die FD der PCNA positiven Zellkerne von bT0 Zweigen an der Zottenoberfläche signifikant höher ($p<0,05$) als in der weiblichen Kontrollgruppe (Abbildung 5A).

Die FD von PCNA negativen und PCNA positiven Zellkernen an der Zottenoberfläche von bT0 und bT1 Zweigen von männlichen PE und NORM Plazentazotten (Abbildung 4, Abbildung 5) sowie die FD von PCNA positiven Zellkernen an der Zottenoberfläche von bT1 Zweigen von weiblichen PE Plazentazotten zeigen keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 5B).

Ergebnisse

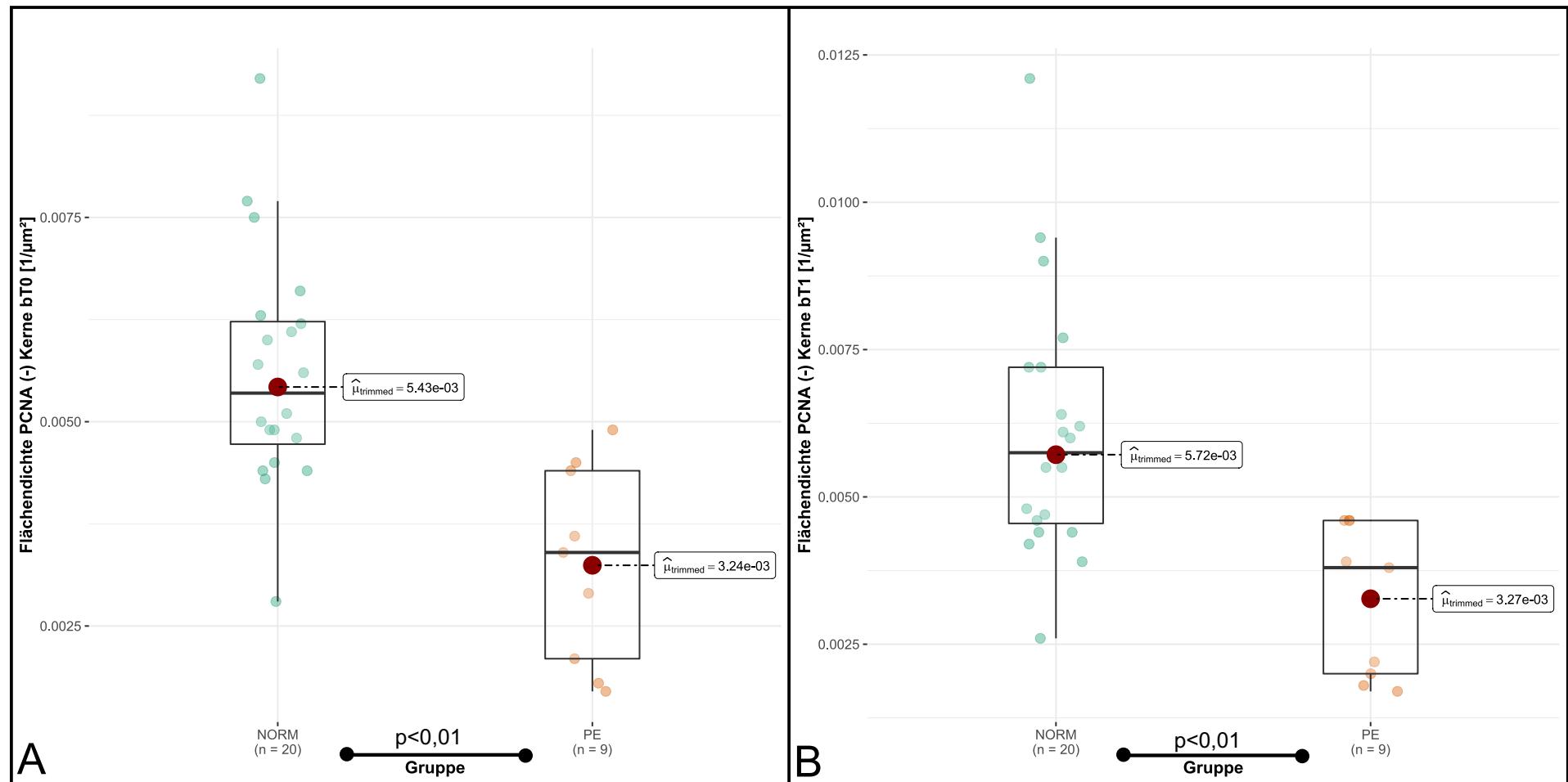


Abbildung 2: Flächendichte PCNA (-) Kerne. Die Dichte der PCNA negativen (PCNA (-)) Zellkerne des villösen Trophoblasten an der Zottenoberfläche terminaler Zotten (bT0; A) und präterminaler Zotten (bT1; B) wird als Flächendichte (FD, $1/\mu\text{m}^2$) bezeichnet und jeweils nach Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die FD-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=9) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

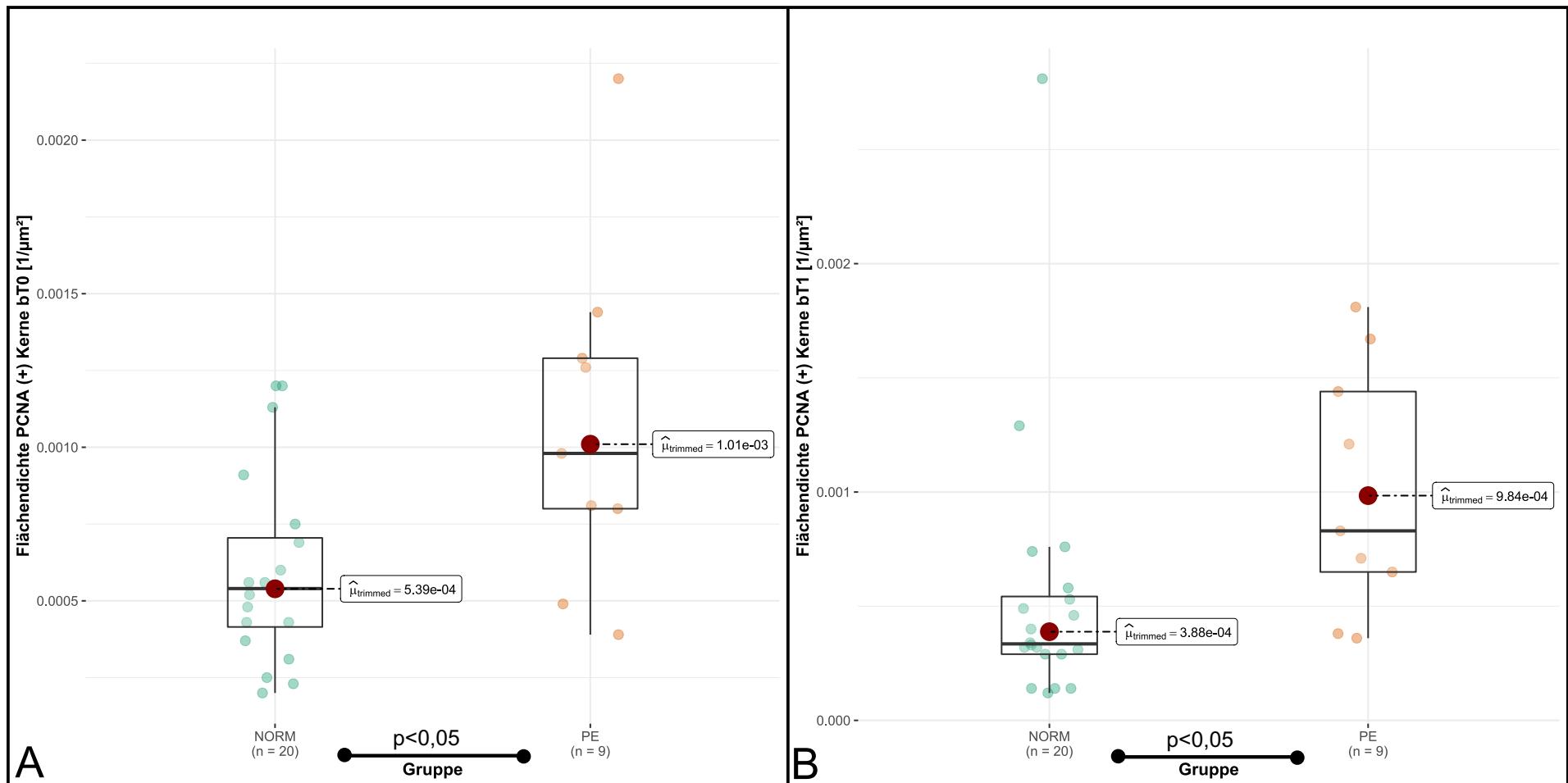


Abbildung 3: Flächendichte PCNA (+) Kerne. Die Dichte der PCNA positiven (PCNA (+)) Zellkerne des villösen Trophoblasten an der Zottenoberfläche terminaler Zotten (bT0; A) und präterminaler Zotten (bT1; B) wird als Flächendichte (FD, $1/\mu\text{m}^2$) bezeichnet und jeweils nach Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die FD-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=9) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

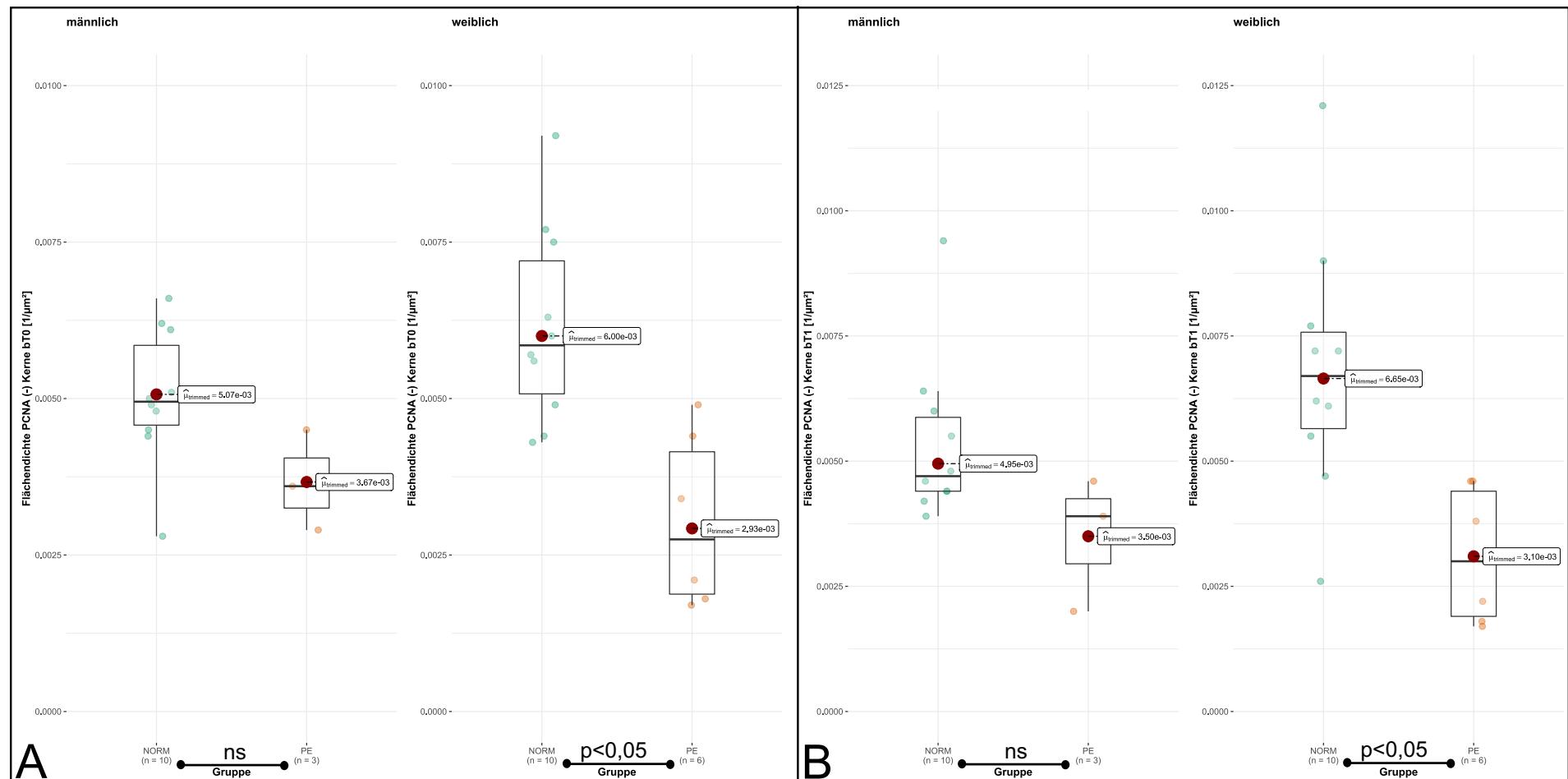


Abbildung 4: Flächendichte PCNA (-) Kerne ♂ und ♀. Die Dichte der PCNA negativen (PCNA (-)) Zellkerne des villösen Trophoblasten an der Zottenoberfläche terminaler Zotten (bT0; A) und präterminaler Zotten (bT1; B) wird als Flächendichte (FD, $1/\mu\text{m}^2$) bezeichnet und jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die FD-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, männlich n=3, weiblich n=6) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für männliche Plazenten nicht statistisch signifikant (ns). Die p-Werte der weiblichen Plazenten sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

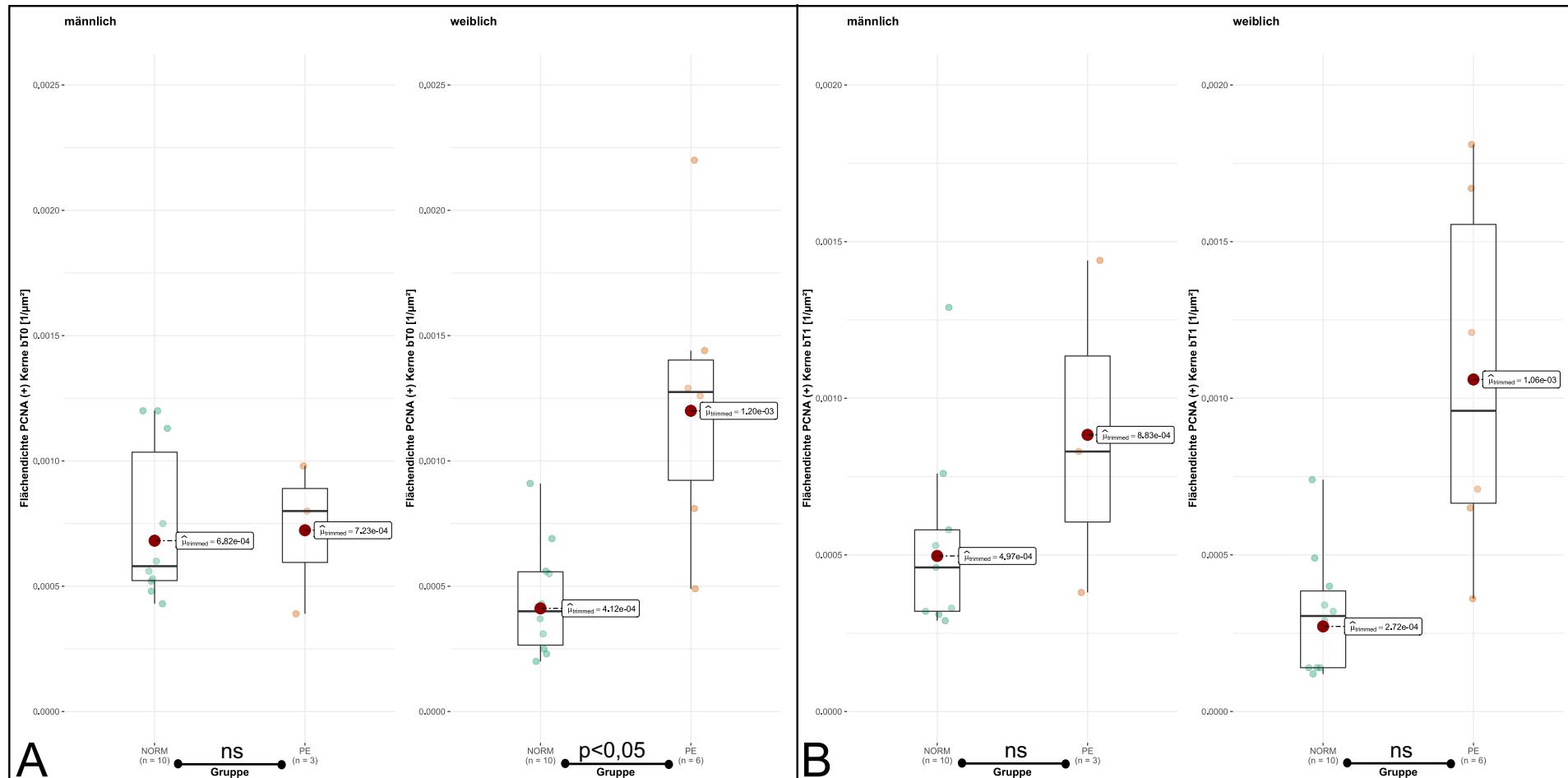


Abbildung 5: Flächendichte PCNA (+) Kerne ♂ und ♀. Die Dichte der PCNA positiven (PCNA (+)) Zellkerne des villösen Trophoblasten an der Zottenoberfläche terminaler Zotten (bT0; A) und präterminaler Zotten (bT1; B) wird als Flächendichte (FD, $1/\mu\text{m}^2$) bezeichnet und jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die FD-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, männlich n=3, weiblich n=6) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Werte sind für die FD der PCNA (+) Zellkerne von terminalen Zotten (bT0) bei weiblichen Plazenten signifikant unterschiedlich (A); p-Wert zwischen den Gruppen indiziert, sonst nicht signifikant unterschiedlich (ns).

Ergebnisse

Für die mittleren Distanzen zum nächsten Nachbarn (Nearest Neighbor Distance, NND) der PCNA negativen Zellkerne zeigen sich weder bei der geschlechtsunabhängigen Analyse der Gruppen noch für die männlichen und weiblichen Untergruppen signifikante Unterschiede zwischen NORM und PE Zotten (Abbildung 6A, Abbildung 7A). Die NND der PCNA positiven Zellkerne zeigt geschlechtsunabhängig keine Signifikanz (Abbildung 6B).

In peripheren Zotten weiblicher PE Plazenten ist die NND PCNA positiver Zellkerne signifikant kürzer ($p<0,01$) als in peripheren Zotten weiblicher NORM Plazenten (Abbildung 7B). Die NND von PCNA positiven Zellkernen ist bei peripheren Zotten aus männlichen PE und NORM Plazenten nicht signifikant unterschiedlich (Abbildung 7B).

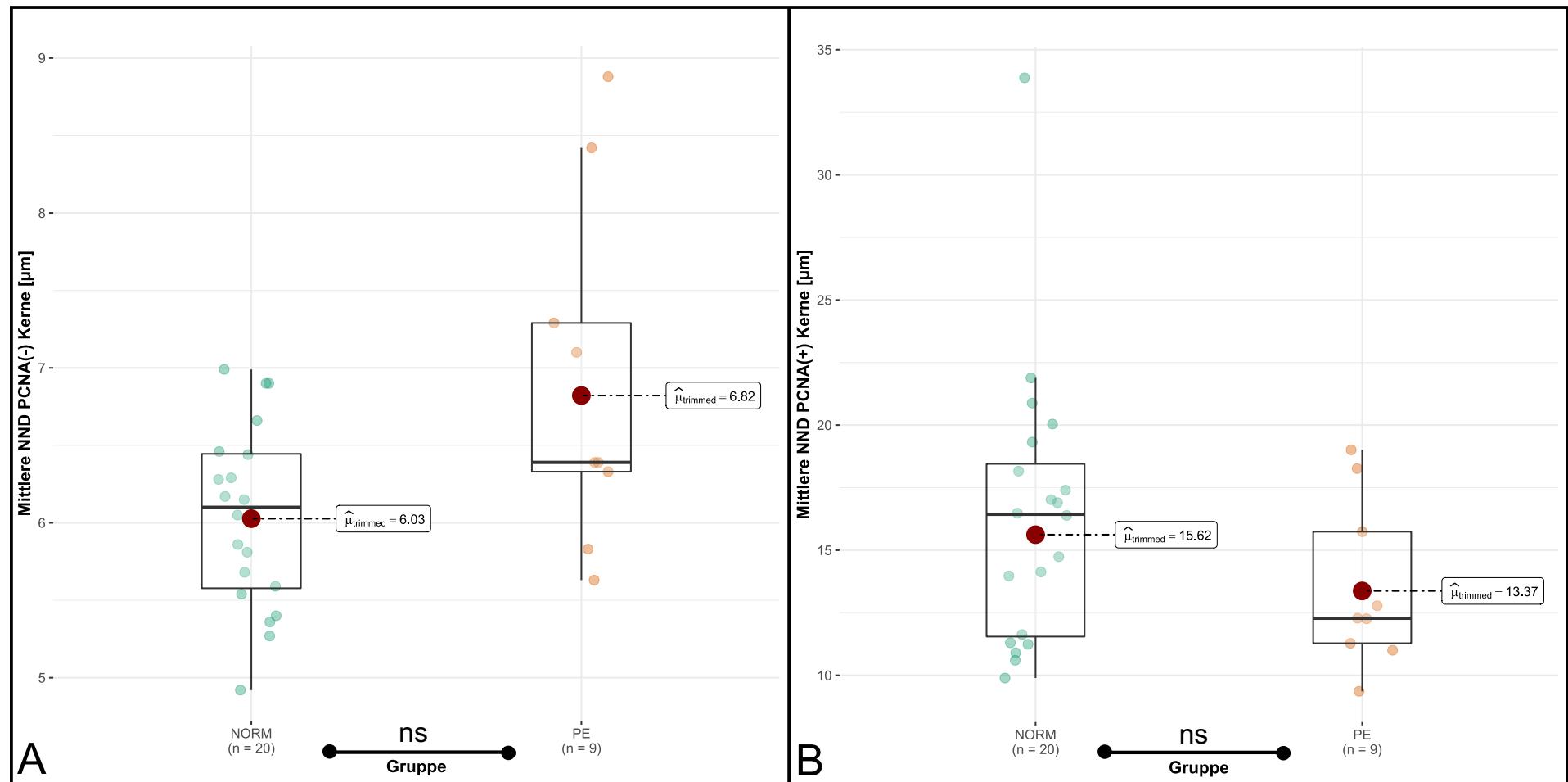


Abbildung 6: Nearest Neighbor Distance. Die mittlere Distanz zum nächst-benachbarten Zellkern (Nearest Neighbor Distance, NND) der PCNA negativen (PCNA (-); A) und der PCNA positiven (PCNA (+); B) Zellkerne des villösen Trophoblasten an der Zottenoberfläche wird pro Gruppe (NORM und PE) dargestellt. Tukey plots (A, B) bilden die NND Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=9) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Werte sind nicht signifikant unterschiedlich (ns).

Ergebnisse

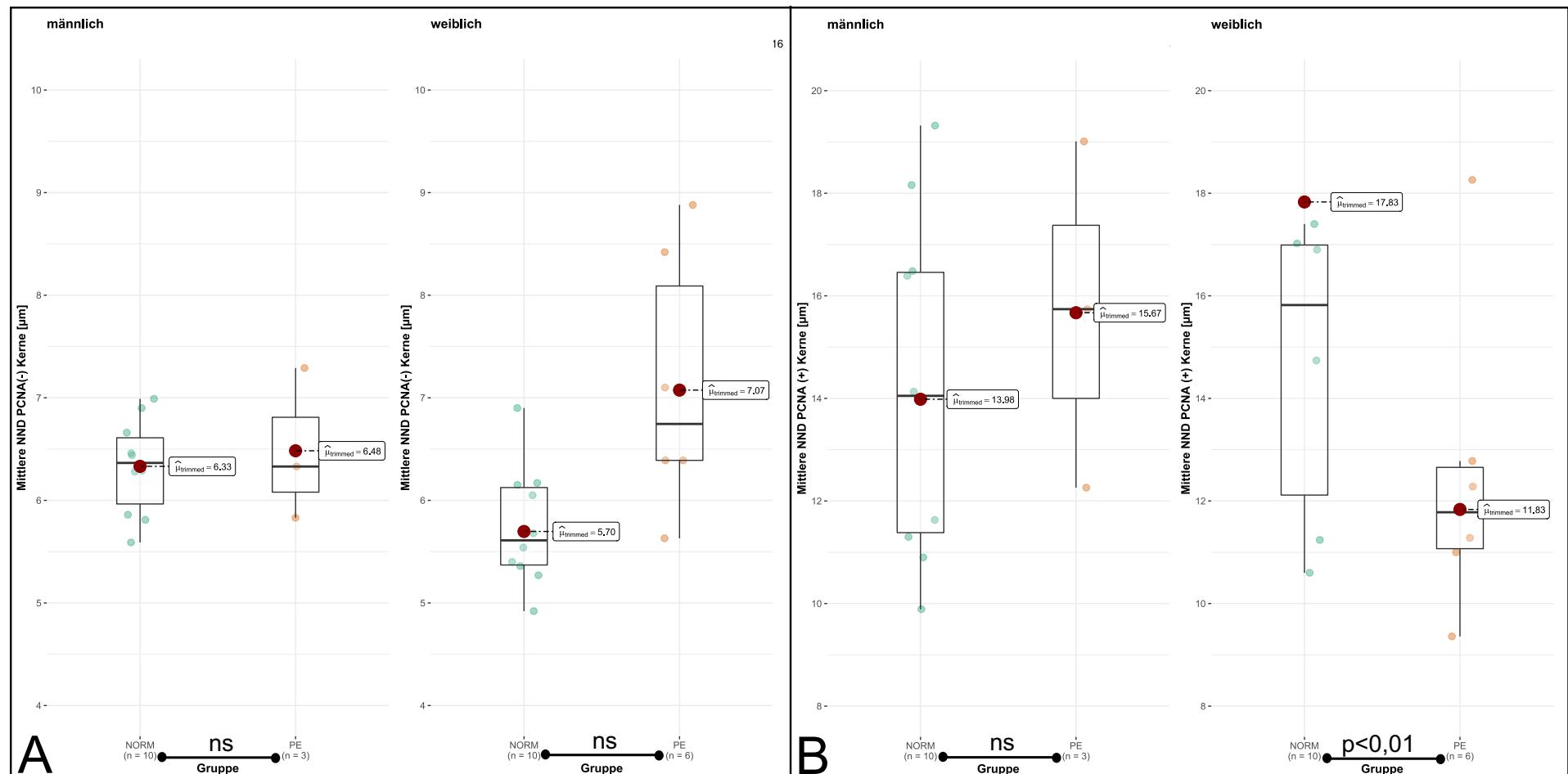


Abbildung 7: Nearest Neighbor Distance ♂ und ♀. Die mittlere Distanz zum nächst-benachbarten Zellkern (Nearest Neighbor Distance, NND) der PCNA negativen (PCNA (-); A) und der der PCNA positiven (PCNA (+); B) Zellkerne des villösen Trophoblasten an der Zottenoberfläche wird pro Gruppe (NORM und PE) und jeweils nach Geschlecht getrennt (männlich, weiblich) dargestellt. Tukey plots (A, B) bilden die NND-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, männlich n=3, weiblich n=6) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Werte sind für PCNA positive Zellkerne bei weiblichen Plazenten signifikant unterschiedlich (B); p-Wert zwischen den Gruppen indiziert, sonst nicht signifikant unterschiedlich (ns).

3.1.2 Verzweigungsstruktur der Plazentazotten

Die mittleren flachen Abgangswinkel an allen Abzweigungen der Zottenzweige und an den Abzweigungen der bT0 und bT1 Zweige sind nicht signifikant unterschiedlich zwischen den männlichen und weiblichen NORM und PE Plazentazotten (Tabelle 3). Auch die Tortuosität der untersuchten peripheren Plazentazotten unterscheidet sich im Durchschnitt nicht signifikant innerhalb der männlichen und weiblichen NORM und PE Gruppe (Tabelle 3). Geschlechtsunabhängig zeigen sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 3).

Topo	PCNA	Männlich ♂	Weiblich ♀	♂ = ♀
bT0/bT1	Reaktivität	NORM/PE	NORM/PE	NORM/PE
<i>Flächendichte der Zellkerne des villösen Trophoblasten (FD) (1/µm²)</i>				
bT0	PCNA -	p = 0,069 (ns)	p = 0,021 (*)	p = 3 x10 ⁻³ (**)
bT1	PCNA -	p = 0,192 (ns)	p = 0,017 (*)	p = 4 x10 ⁻³ (**)
bT0	PCNA +	p = 0,864 (ns)	p = 0,018 (*)	p = 0,029 (*)
bT1	PCNA +	p = 0,335 (ns)	p = 0,087 (ns)	p = 0,038 (*)
<i>Mittlere Distanz der Zellkerne des villösen Trophoblasten zum nächsten Nachbarn (NND) (µm)</i>				
gesamt	PCNA -	p = 0,768 (ns)	p = 0,118 (ns)	p = 0,125 (ns)
gesamt	PCNA +	p = 0,513 (ns)	p = 8 x10 ⁻³ (**)	p = 0,227 (ns)
<i>Mittlerer ebener Winkel (°)</i>				
gesamt		p = 0,877 (ns)	p = 0,147 (ns)	p = 0,417 (ns)
bT0		p = 0,519 (ns)	p = 0,103 (ns)	p = 0,443 (ns)
bT1		p = 0,498 (ns)	p = 0,099 (ns)	p = 0,210 (ns)
<i>Tortuosität</i>				
gesamt		p = 0,942 (ns)	p = 0,917 (ns)	p = 0,943 (ns)

Tabelle 3: p-Werte und Signifikanzen 3D-Mikroskopie. Verglichen wurden männliche periphere Plazentazotten aus PE Schwangerschaften mit männlichen peripheren Plazentazotten aus NORM Schwangerschaften sowie weibliche periphere Plazentazotten aus PE Schwangerschaften mit weiblichen peripheren Plazentazotten aus NORM Schwangerschaften. Außerdem wurden periphere Plazentazotten aus PE Schwangerschaften mit peripheren Plazentazotten aus NORM Schwangerschaften ohne Geschlechtsdivergenz verglichen. Erläuterungen: Die erste Zeile zeigt die Gruppenaufteilung an. Die zweite Zeile führt für jede Spalte auf, welche Variablen miteinander verglichen wurden (Topo steht für Topografie, Vergleich ist angegeben mit einem Schrägstrich /). Signifikanz hinter dem jeweiligen p-Wert in (). p > 0,05 (ns, nicht signifikant), p < 0,05 (*) und p < 0,01 (**).

3.2 Stereologie

Geschlechtsunabhängig ist das totale Zottenvolumen und das absolute Volumen des intervillösen Raums bei PE Plazenten signifikant kleiner ($p<0,01$) als bei NORM Plazenten (Abbildung 8). Die absoluten Zottenvolumina der C- und NC-Villi und das absolute Volumen der Kapillaren der NC-Villi sind bei PE Plazenten signifikant kleiner ($p<0,01$) als bei NORM Plazenten (Abbildung 9, Abbildung 10B). Das absolute Volumen der Kapillaren von C-Villi ist nicht signifikant unterschiedlich (Abbildung 10A).

Die Bestimmung des relativen Anteils konkaver Zottenoberflächen im histologischen Schnitt wird hier als Indikator für die Verzweigungsdichte des Zottenbaums verwendet und ist deswegen als durchschnittlicher Verzweigungsindex (dimensionsloser Konkavitätsindex) bezeichnet worden. Der Verzweigungsindex der C- und NC-Villi bei PE Plazenten ist signifikant kleiner ($p<0,01$) als bei NORM Plazenten (Abbildung 11). Der Verzweigungsindex der Gefäße von C- und NC-villi zeigt keinen signifikanten Unterschied (Tabelle 4). Das Verhältnis von C-Villi zu NC-Villi ist bei PE Plazenten signifikant größer ($p<0,05$) als bei NORM Plazenten (Abbildung 12).

Ergebnisse

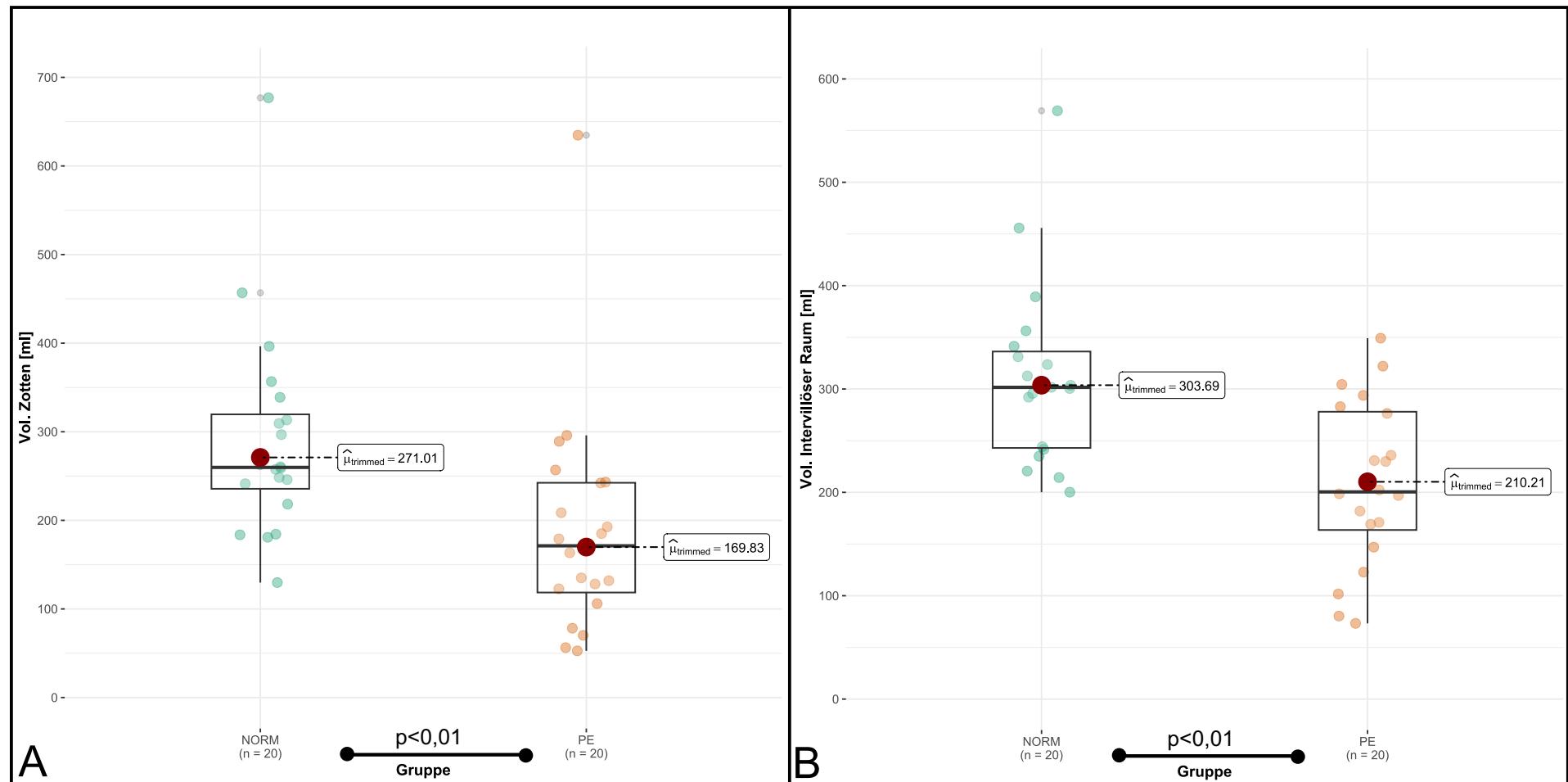


Abbildung 8: Volumina Zotten und intervillöser Raum. Das totale Zottenvolumen (A) und das absolute Volumen des intervillösen Raums (B) sind jeweils nach Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Volumendaten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=20) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

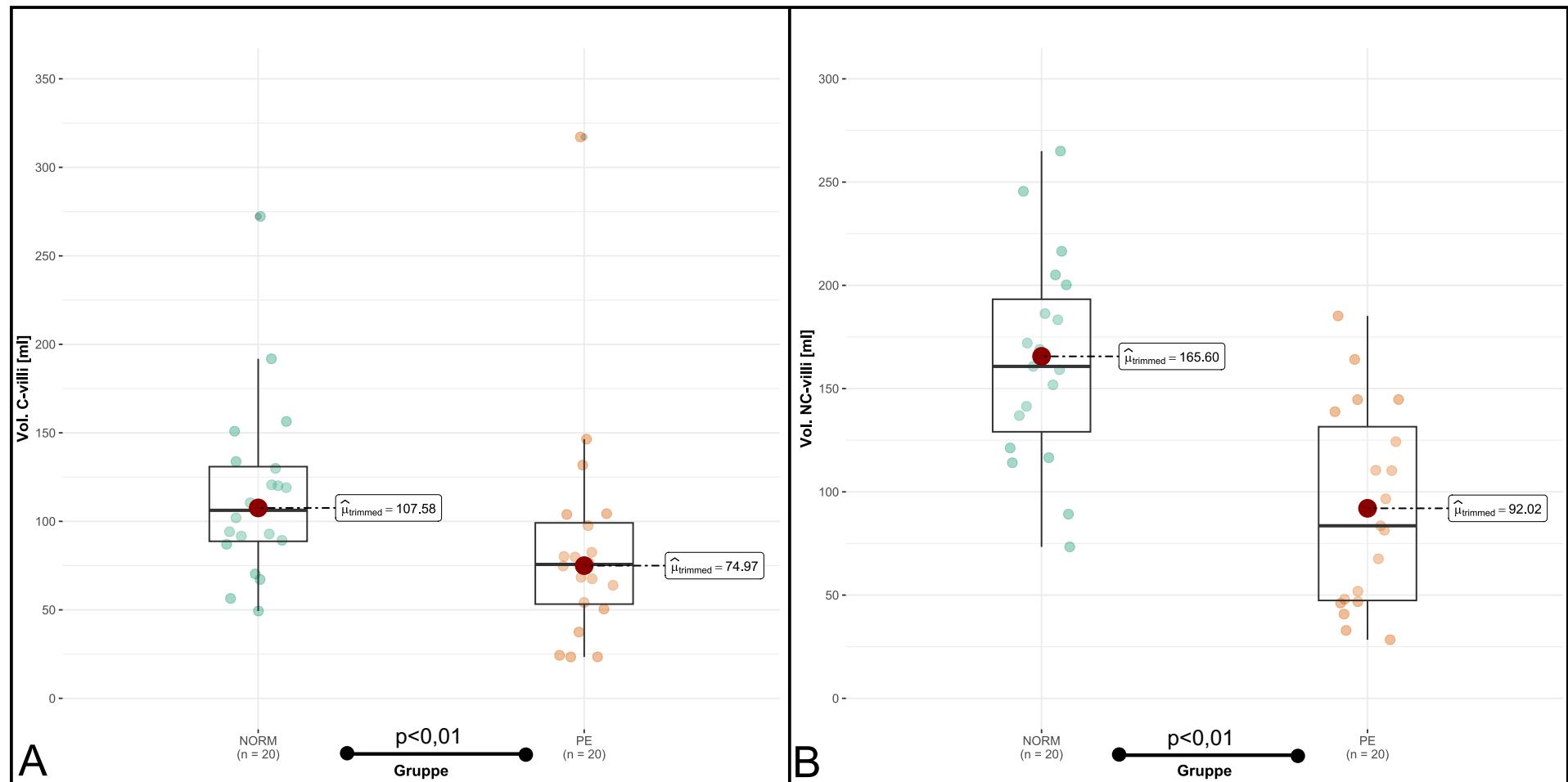


Abbildung 9: Zottenvolumina C-villi und NC-villi. Die absoluten Zottenvolumina von C-Villi (A) und NC-Villi (B) sind jeweils nach Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Volumendaten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=20) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

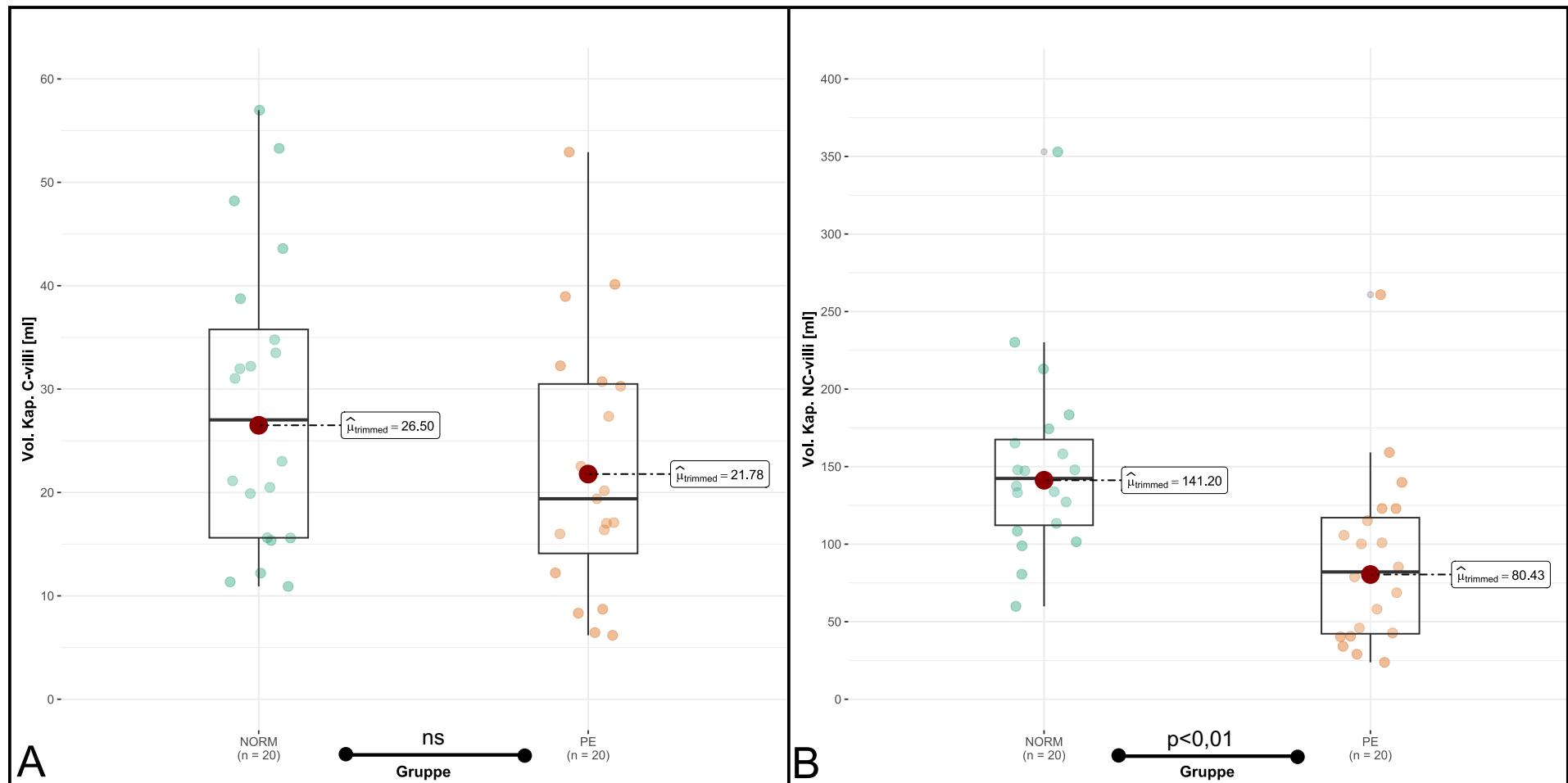


Abbildung 10: Volumina der Kapillaren C-villi und NC-villi. Die Volumina der Kapillaren (Gefäßvolumina) von C-Villi (A) und NC-Villi (B) sind jeweils nach Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Volumendaten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=20) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant. Die Unterschiede sind für C-Villi nicht statistisch signifikant (ns). Die p-Werte der NC-Villi sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

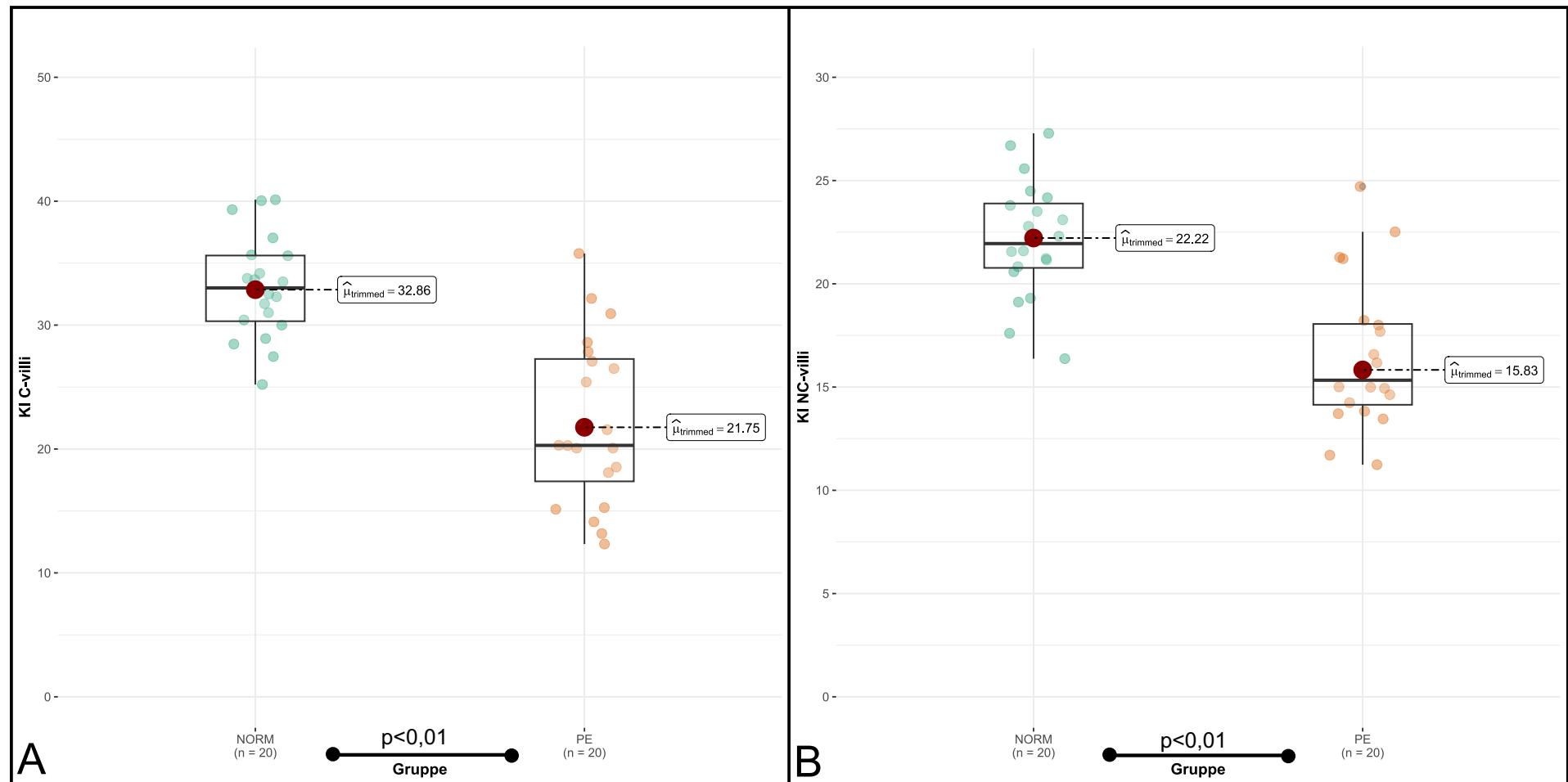


Abbildung 11: Verzweigungsindex C-villi und NC-villi. Der Verzweigungsindex (Konkavitätsindex, KI) der C-Villi (A) und NC-Villi (B) ist jeweils nach Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Daten der KI der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=20) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

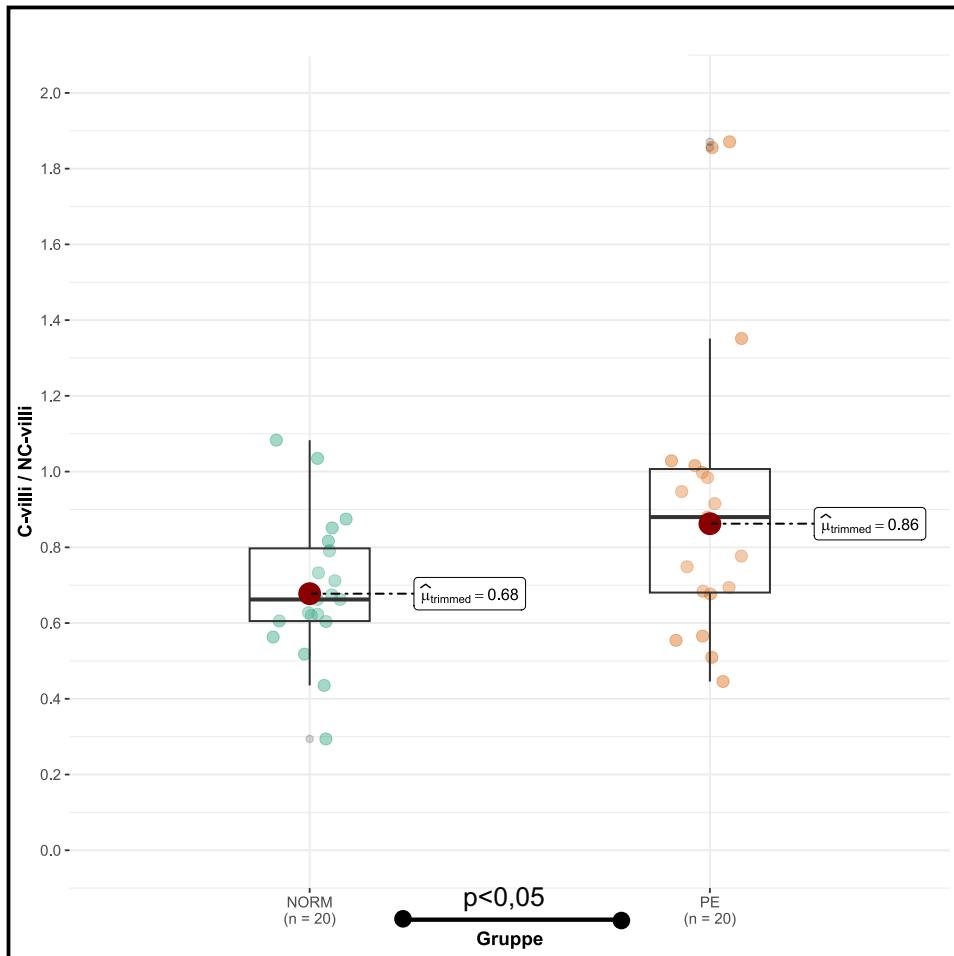


Abbildung 12: Verhältnis C-villi zu NC-villi. Das Verhältnis der C-Villi zu NC-Villi ist nach Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots bilden die Verhältnisdaten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=20) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Der Unterschied ist für die Paarung statistisch signifikant. Der p-Wert ist zwischen der Gruppenbezeichnung angezeigt.

Ergebnisse

Das totale Zottenvolumen in männlichen PE Plazenten ist signifikant kleiner ($p<0,01$) als das totale Zottenvolumen in männlichen NORM Plazenten (Abbildung 13A). Das Volumen des intervillösen Raums ist in weiblichen PE Plazenten signifikant niedriger ($p<0,05$) als in weiblichen NORM Plazenten (Abbildung 13B). Das totale Zottenvolumen in weiblichen PE und NORM Plazenten und das Volumen des intervillösen Raums in männlichen PE und NORM Plazenten zeigt keine Signifikanz (Abbildung 13).

Das absolute Zottenvolumen der C-villi in männlichen PE Plazenten ist signifikant kleiner ($p<0,05$) als in männlichen NORM Plazenten. In weiblichen PE und NORM Plazenten unterscheidet sich das absolute Zottenvolumen der C-villi nicht signifikant (Abbildung 14A). In männlichen und weiblichen PE Plazenten ist das absolute Zottenvolumen der NC-villi signifikant niedriger ($\text{♂: } p<0,05; \text{ ♀: } p<0,05$) als in der jeweiligen Kontrollgruppe (Abbildung 14B).

Das absolute Volumen der Kapillaren von C-villi ist weder für männliche noch für weibliche PE Plazenten im Vergleich zur NORM Gruppe signifikant unterschiedlich (Abbildung 15A). Für beide Geschlechter ist das absolute Volumen der Kapillaren von NC-villi in PE Plazenten signifikant kleiner als in NORM Plazenten ($\text{♂: } p<0,05; \text{ ♀: } p<0,05$) (Abbildung 15B).

Sowohl in den Abschnitten des Zottenbaums mit perivaskulären stromalen Myofibroblasten (C-villi $\text{♂: } p<0,01$; C-villi $\text{♀: } p<0,01$, Abbildung 16A) als auch in den Abschnitten des Zottenbaums ohne perivaskuläre stromale Myofibroblasten (NC-villi $\text{♂: } p<0,05$; NC-villi $\text{♀: } p<0,01$, Abbildung 16B) ist der Verzweigungsindex in weiblichen und männlichen PE Plazenten signifikant niedriger als in weiblichen und männlichen NORM Plazenten.

Der Verzweigungsindex der C-villi in Kapillaren von PE Plazenten im Vergleich zu NORM Plazenten beider Geschlechter zeigt keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 17A). Der Verzweigungsindex der NC-villi in Kapillaren von weiblichen PE Plazenten ist signifikant niedriger ($p<0,05$) als in weiblichen NORM Plazenten. Der Verzweigungsindex der NC-villi in Kapillaren von männlichen Plazenten ist nicht signifikant unterschiedlich (Abbildung 17B).

Ergebnisse

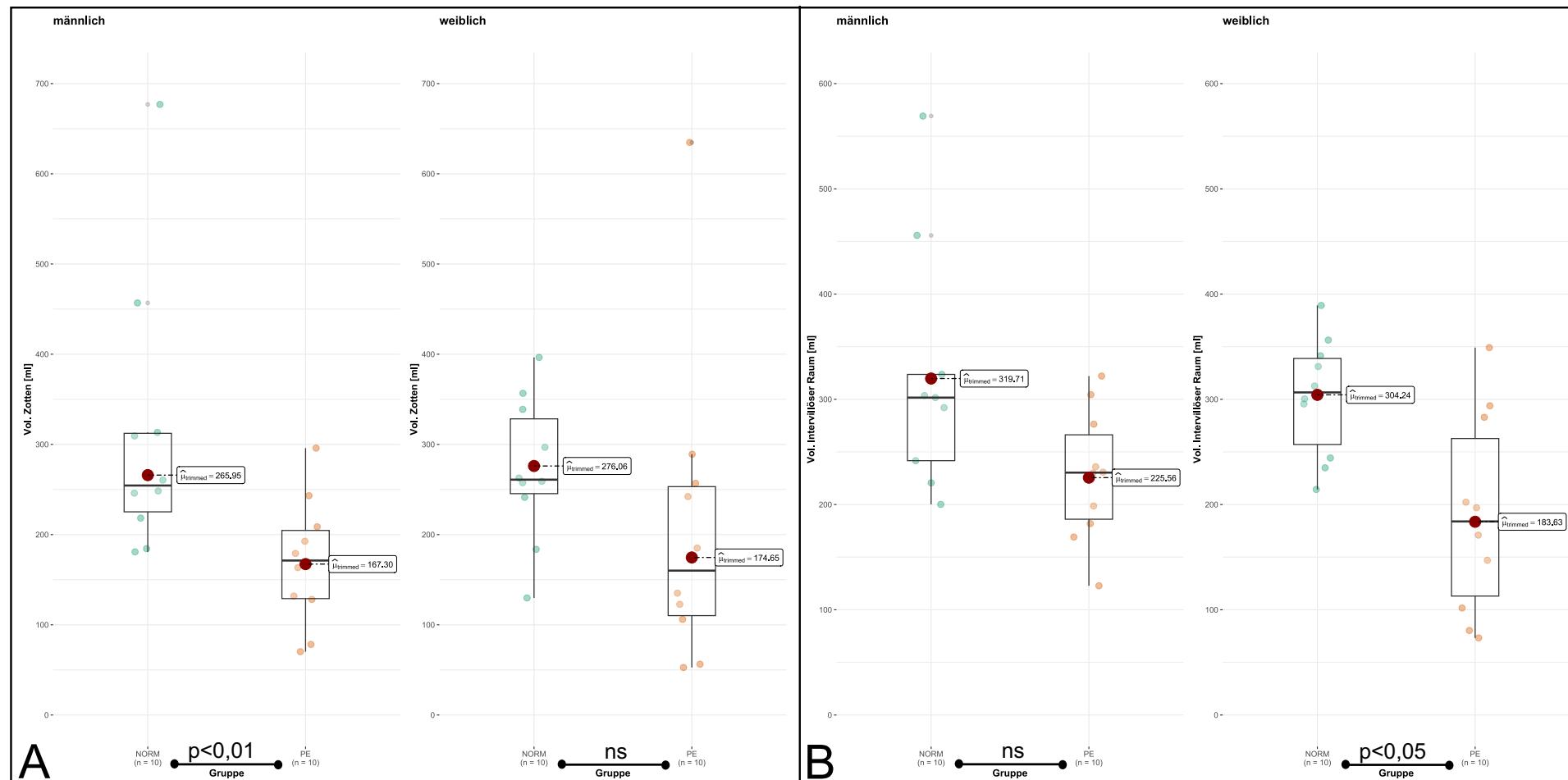


Abbildung 13: Volumina Zotten und intervillöser Raum ♂ und ♀. Das totale Zottenvolumen (A) und das absolute Volumen des intervillösen Raums (B) wird jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Volumendaten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Unterschiede für das totale Zottenvolumen für weibliche Plazenten nicht statistisch signifikant (ns) und für männliche Plazenten ist der p-Wert zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt (A). Unterschiede für das absolute Volumen des intervillösen Raums für männliche Plazenten nicht statistisch signifikant (ns) und für weibliche Plazenten ist der p-Wert zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt (B).

Ergebnisse

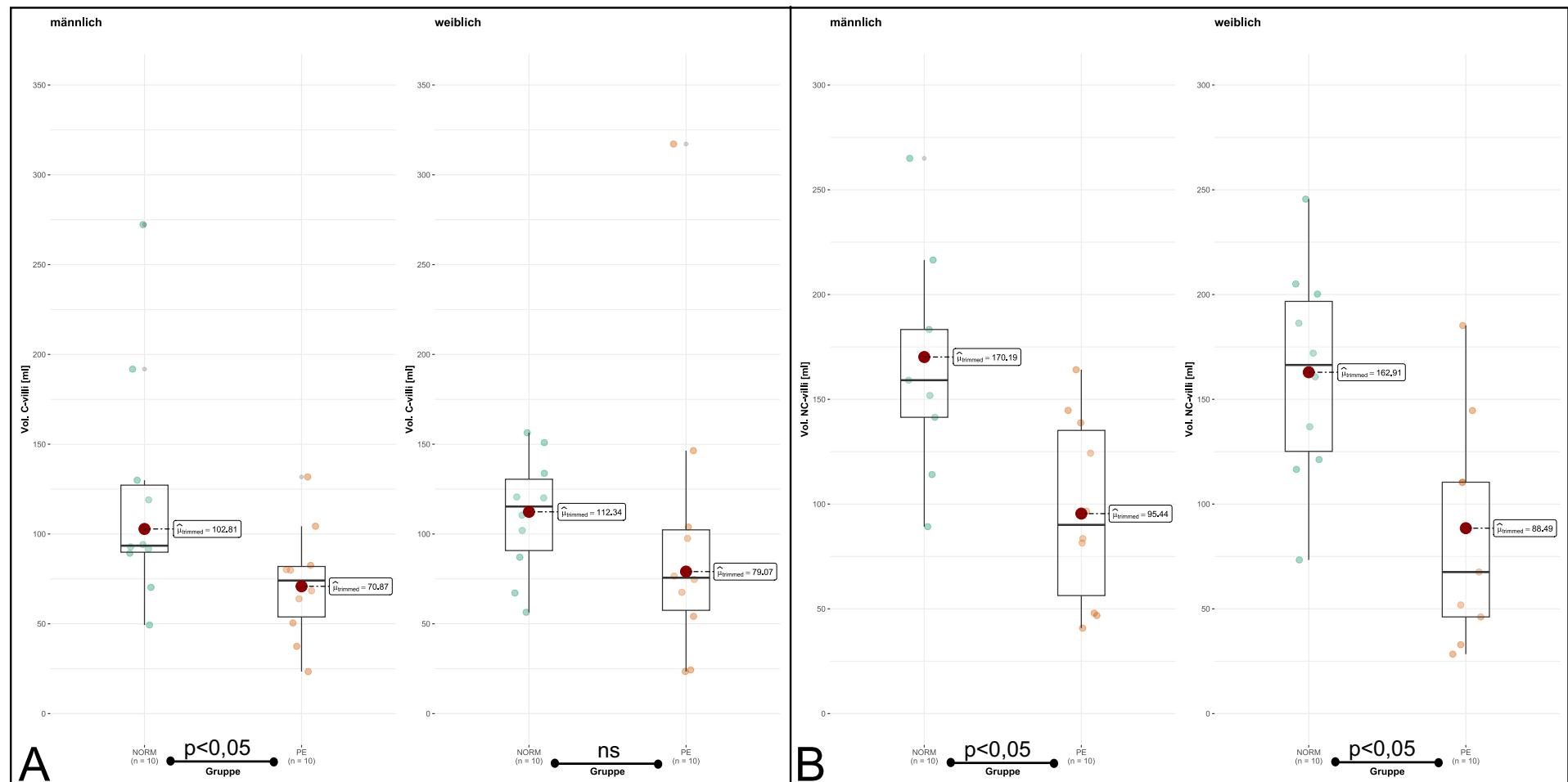


Abbildung 14: Zottenvolumina C-villi und NC-villi ♂ und ♀. Die absoluten Zottenvolumina von C-Villi (A) und NC-Villi (B) werden jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Volumendaten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Unterschiede der C-Villi für weibliche Plazenten nicht statistisch signifikant (ns) (A). Die Unterschiede der anderen Paarungen sind statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt (B).

Ergebnisse

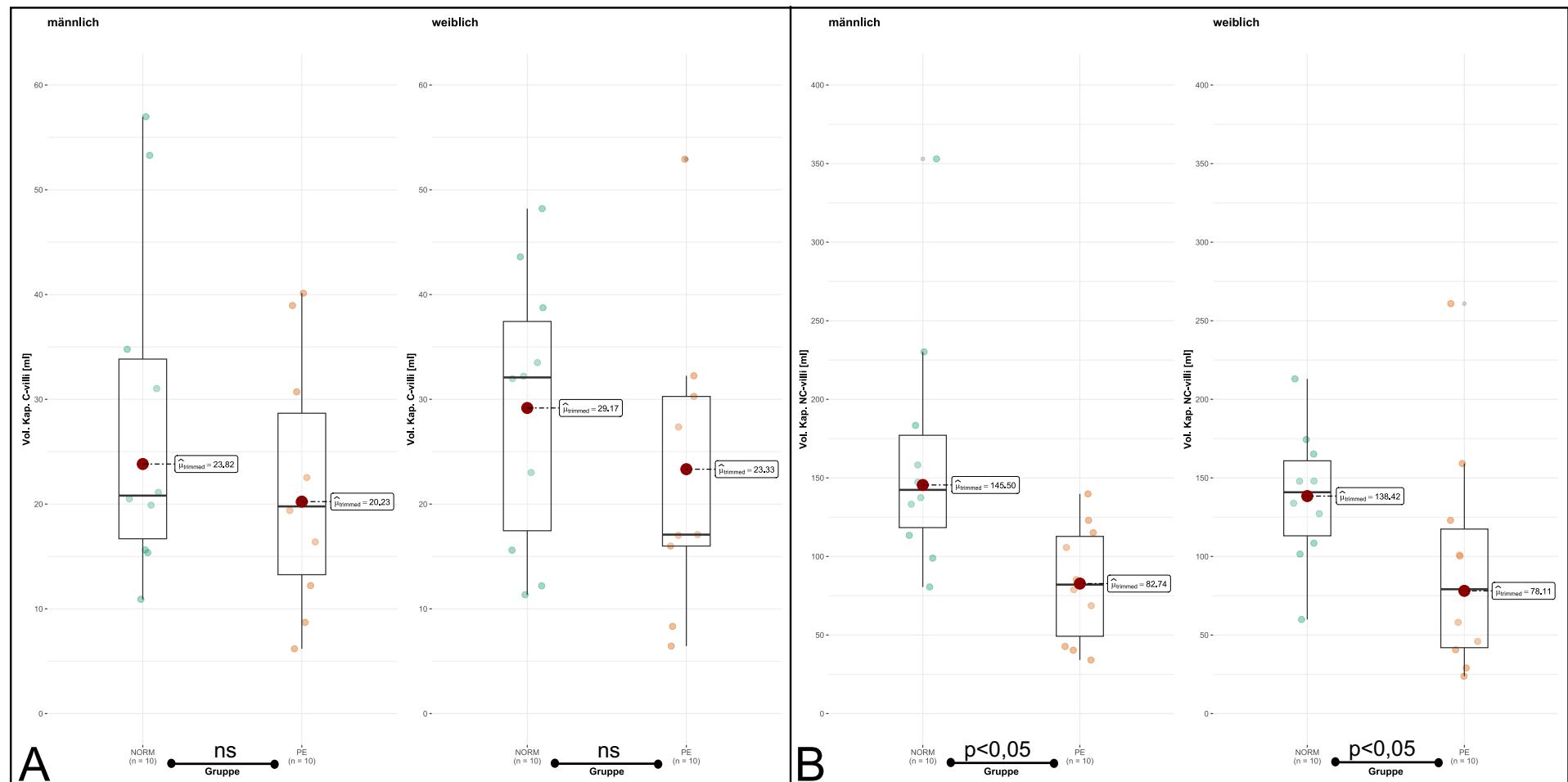


Abbildung 15: Volumina der Kapillaren C-villi und NC-villi ♂ und ♀. Die absoluten Volumina der Kapillaren von C-Villi (A) und NC-Villi (B) werden jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Volumendaten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Unterschiede der C-Villi für beide Paarungen nicht statistisch signifikant (ns) (A). Die Unterschiede der NC-Villi sind für beide Paarungen statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt (B).

Ergebnisse

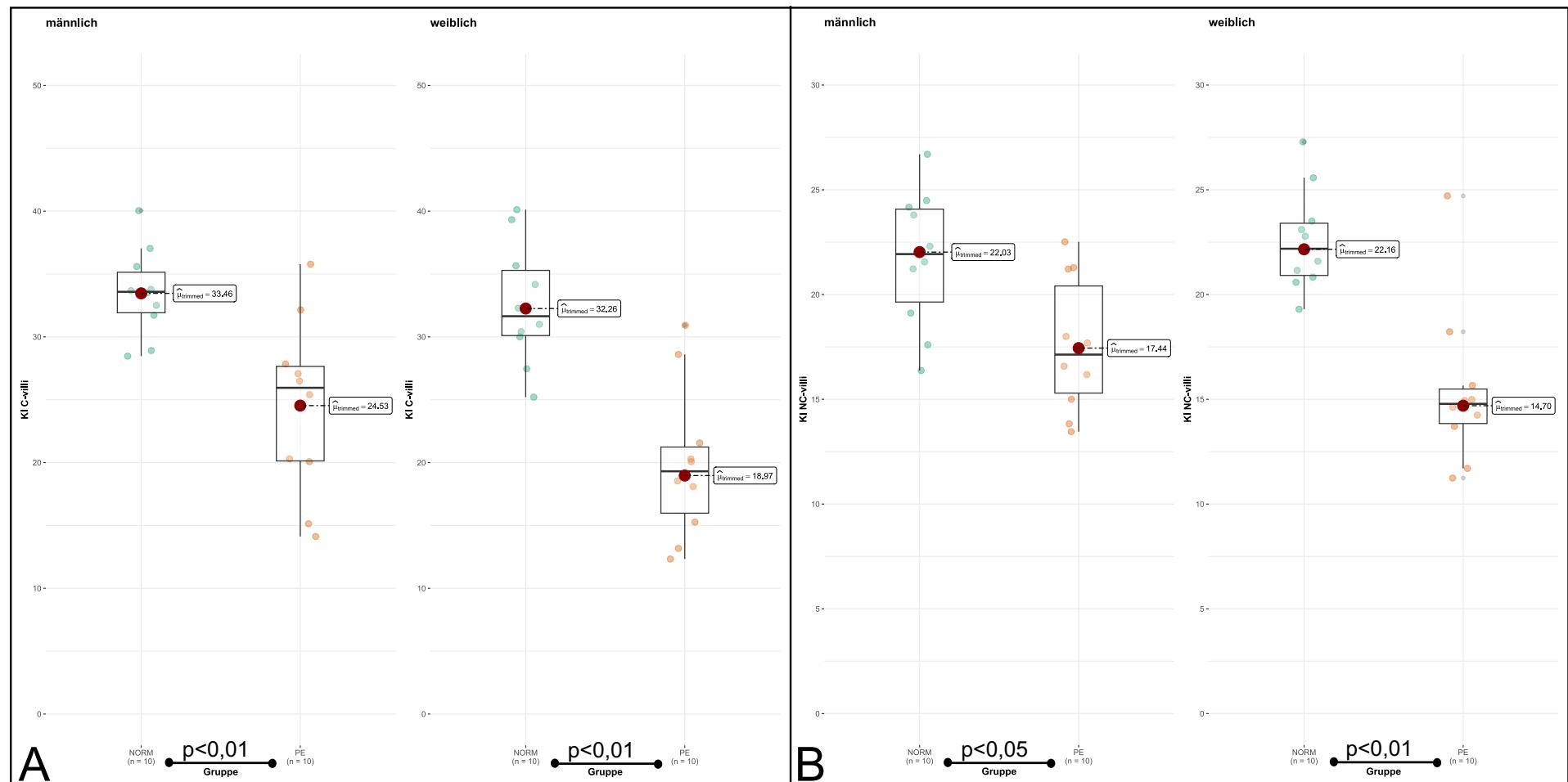


Abbildung 16: Verzweigungsindex C-villi und NC-villi ♂ und ♀. Der Verzweigungsindex (Konkavitätsindex) von C-Villi (A) und NC-Villi (B) wird jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Daten der Verzweigungsindices der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant. Die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

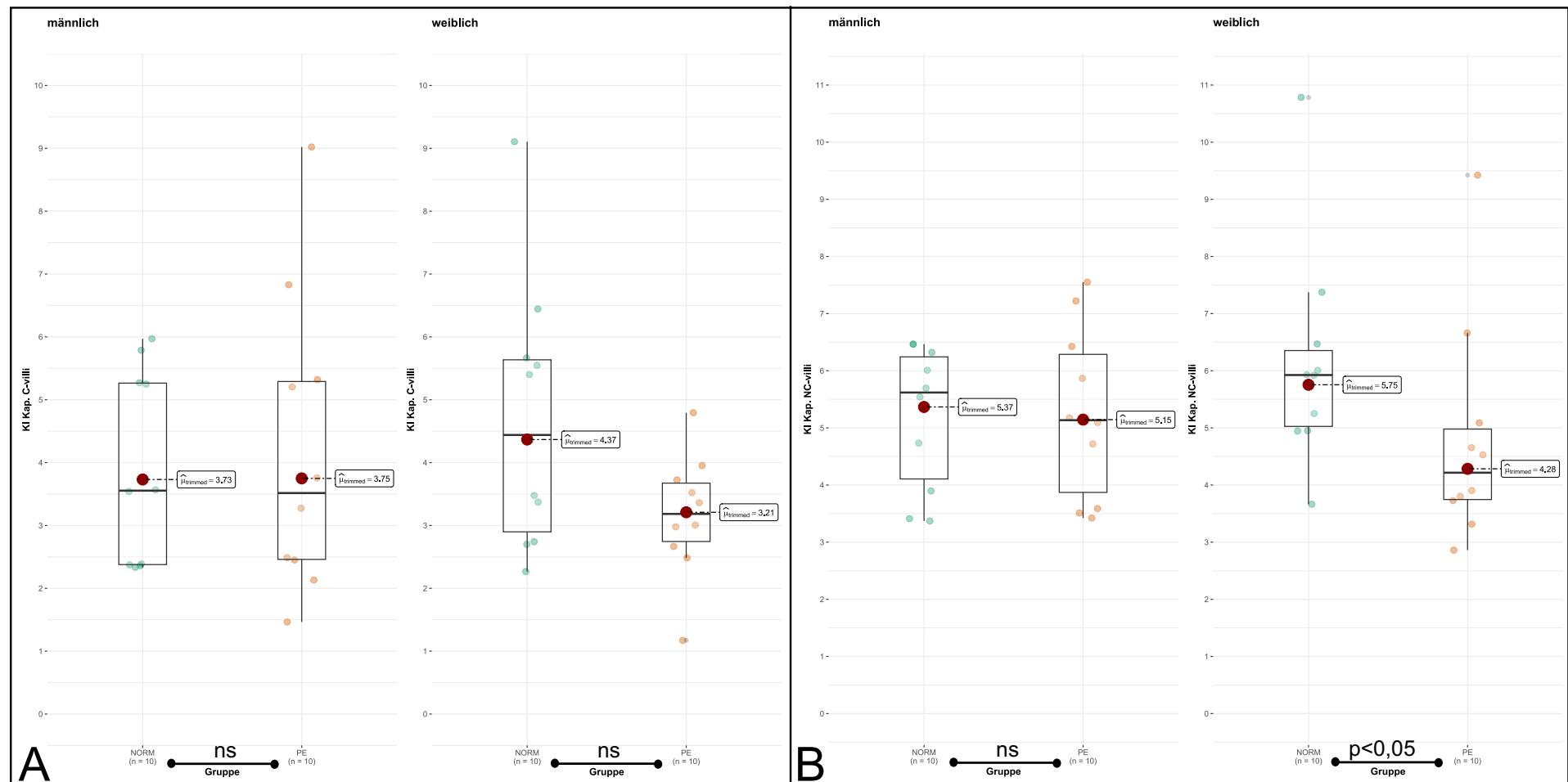


Abbildung 17: Verzweigungsindex Kapillaren C-Villi und NC-Villi ♂ und ♀. Der Konkavitätsindex (Verzweigungsindex) der Gefäße von C-Villi (A) und NC-Villi (B) wird jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die Daten der Verzweigungsindices der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, männlich n=10, weiblich n=10) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Werte sind für den Verzweigungsindex der Gefäße von NC-Villi bei weiblichen Plazenten signifikant unterschiedlich (A); p-Wert zwischen den Gruppen indiziert, sonst nicht signifikant unterschiedlich (ns).

Ergebnisse

Die Diffusionsdistanzen und die Standardabweichung der Diffusionsdistanzen der C- und NC-villi der männlichen und weiblichen PE Gruppe unterscheidet sich nicht signifikant zur jeweiligen Kontrollgruppe (Tabelle 4).

Das Verhältnis von C-villi zu NC-villi (C-villi/NC-villi) zeigt weder in männlichen noch in weiblichen PE und NORM Plazenten eine Signifikanz (Tabelle 4).

Gruppe	Männlich ♂	Weiblich ♀	$\text{♂} = \text{♀}$
Vergleiche	NORM/PE	NORM/PE	NORM/PE
Parameter/Kontraktilität			
<i>Totales Zottenvolumen (ml)</i>			
	$p = 9,23 \times 10^{-3}$ (**)	$p = 0,05$ (ns)	$p = 1,67 \times 10^{-3}$ (**)
<i>Absolutes Volumen intervillöser Raum (ml)</i>			
	$p = 0,13$ (ns)	$p = 0,04$ (*)	$p = 2,27 \times 10^{-3}$ (**)
<i>Absolute Zottenvolumina (ml)</i>			
C-Villi	$p = 0,04$ (*)	$p = 0,07$ (ns)	$p = 7,13 \times 10^{-3}$ (**)
NC-Villi	$p = 0,02$ (*)	$p = 0,04$ (*)	$p = 1,47 \times 10^{-3}$ (**)
<i>Absolute Gefäßvolumina (ml)</i>			
C-Villi	$p = 0,58$ (ns)	$p = 0,42$ (ns)	$p = 0,34$ (ns)
NC-Villi	$p = 0,02$ (*)	$p = 0,04$ (*)	$p = 1,41 \times 10^{-3}$ (**)
<i>Verzweigungsindex der Zotten</i>			
C-Villi	$p = 4,92 \times 10^{-3}$ (**)	$p = 6,41 \times 10^{-5}$ (**)	$p = 9,42 \times 10^{-5}$ (**)
NC-Villi	$p = 0,04$ (*)	$p = 7,91 \times 10^{-6}$ (**)	$p = 4,79 \times 10^{-7}$ (**)
<i>Verzweigungsindex der Gefäße</i>			
C-Villi	$p = 0,99$ (ns)	$p = 0,20$ (ns)	$p = 0,26$ (ns)
NC-Villi	$p = 0,81$ (ns)	$p = 0,01$ (*)	$p = 0,08$ (ns)
<i>Diffusionsdistanz (μm)</i>			
C-Villi	$p = 0,12$ (ns)	$p = 0,80$ (ns)	$p = 0,30$ (ns)
NC-Villi	$p = 0,20$ (ns)	$p = 0,34$ (ns)	$p = 0,80$ (ns)

Ergebnisse

SD der Diffusionsdistanz (μm)

C-Villi	p = 0,26 (ns)	p = 0,68 (ns)	p = 0,37 (ns)
NC-Villi	p = 0,21 (ns)	p = 0,57 (ns)	p = 0,57 (ns)

Verhältnis C-Villi/NC-Villi

p = 0,21 (ns)	p = 0,17 (ns)	p = 0,01 (*)
---------------	---------------	--------------

Tabelle 4: p-Werte und Signifikanzen Stereologie. Verglichen wurden männliche Plazenten aus PE Schwangerschaften mit männlichen Plazenten aus NORM Schwangerschaften sowie weibliche Plazenten aus PE Schwangerschaften mit weiblichen Plazenten aus NORM Schwangerschaften. Außerdem wurden Plazenten aus PE Schwangerschaften mit Plazenten aus NORM Schwangerschaften ohne Geschlechtsdivergenz verglichen. Erläuterungen: Die erste Zeile zeigt die Gruppenaufteilung an. Die zweite Zeile führt für jede Spalte auf, welche Variablen miteinander verglichen wurden (Vergleich ist angegeben mit einem Schrägstrich /). Signifikanz hinter dem jeweiligen p-Wert in (). p > 0,05 (ns, nicht signifikant), p < 0,05 (*) und p < 0,01 (**).

3.3 Klinische und makroskopische Parameter

Unabhängig von dem Geschlecht ist das Gestationsalter (GA), das Geburtsgewicht (GG), das Plazentagewicht (PG) sowie die Oberfläche (OF), der kleinste Durchmesser (KD) und der längste Durchmesser (LD) der Plazenten von Neugeborenen aus PE Schwangerschaften signifikant kleiner (GA: p<0,01, GG: p<0,01; PG: p<0,01; OF: p<0,01; KD: p<0,01; LD: p<0,05) als bei Neugeborenen aus NORM Schwangerschaften (Abbildung 18, Abbildung 19, Abbildung 20).

Das Gestationsalter, Geburtsgewicht, Plazentagewicht sowie die Oberfläche und der kleinste Durchmesser der Plazenten von männlichen Neugeborenen aus PE Schwangerschaften ist signifikant kleiner (GA ♂: p<0,01; GG ♂: p<0,01; PG ♂: p<0,05; OF ♂: p<0,05; KD ♂: p<0,01) im Vergleich zu dem GA, GG, PG, OF und KD von männlichen Neugeborenen aus NORM Schwangerschaften (Abbildung 21, Abbildung 22, Abbildung 23A). Der längste Durchmesser unterscheidet sich bei männlichen Plazenten aus NORM und PE Schwangerschaften nicht signifikant (Abbildung 23B). Die Streuung des GA und GG bei Mädchen ist ausgeprägter als bei Jungen (Abbildung 21).

Bei weiblichen Neugeborenen/Plazenten gibt es bei keinem Parameter signifikante Unterschiede zwischen der PE und NORM Gruppe (Abbildung 21, Abbildung 22, Abbildung 23).

Ergebnisse

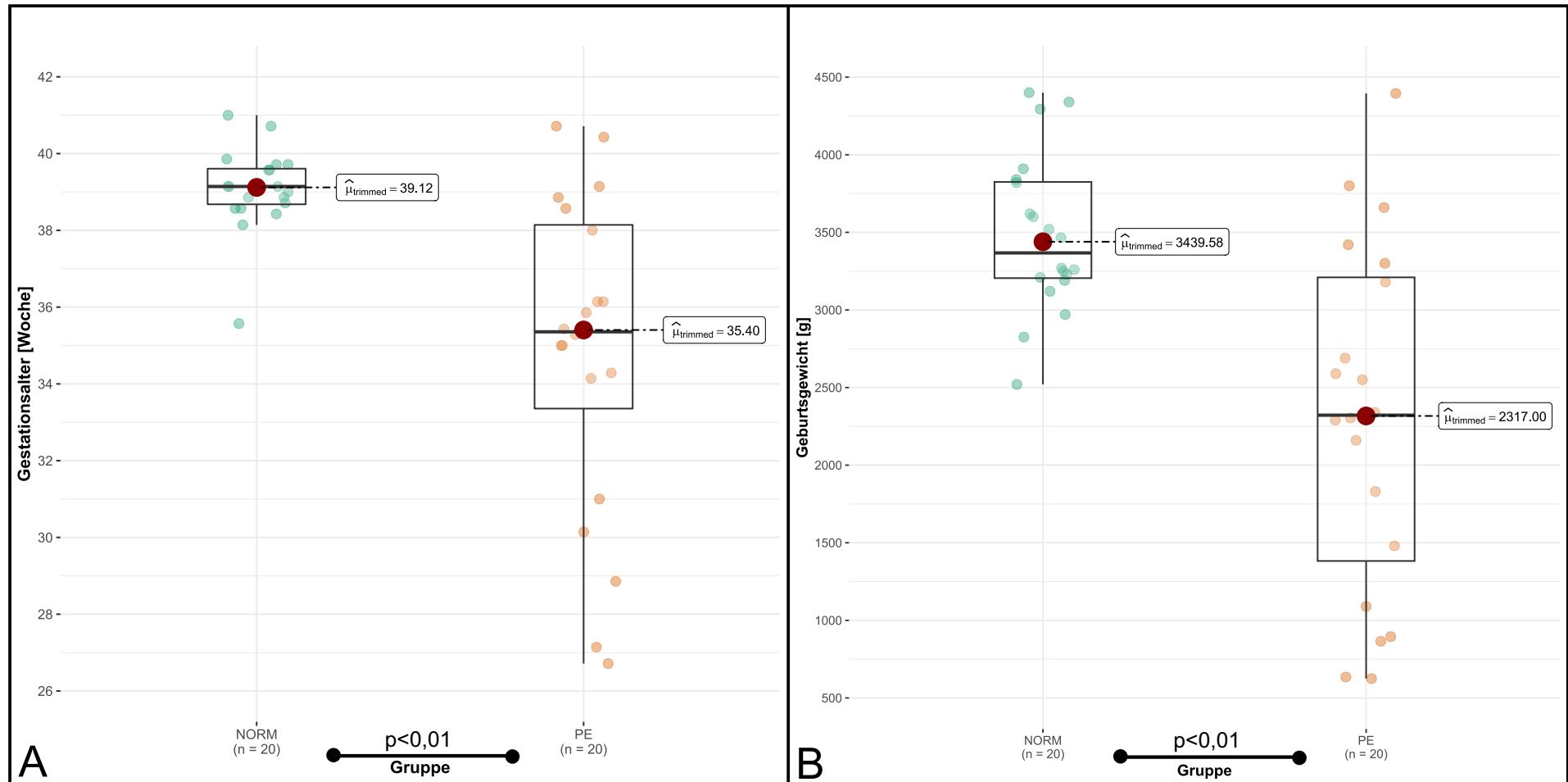


Abbildung 18: Gestationsalter und Geburtsgewicht. Das Gestationsalter (GA (A)) und Geburtsgewicht (GG (B)) der Neugeborenen werden pro Gruppe (NORM, PE) dargestellt. Tukey plots (A, B) bilden die GA- und GG-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=20) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant, die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

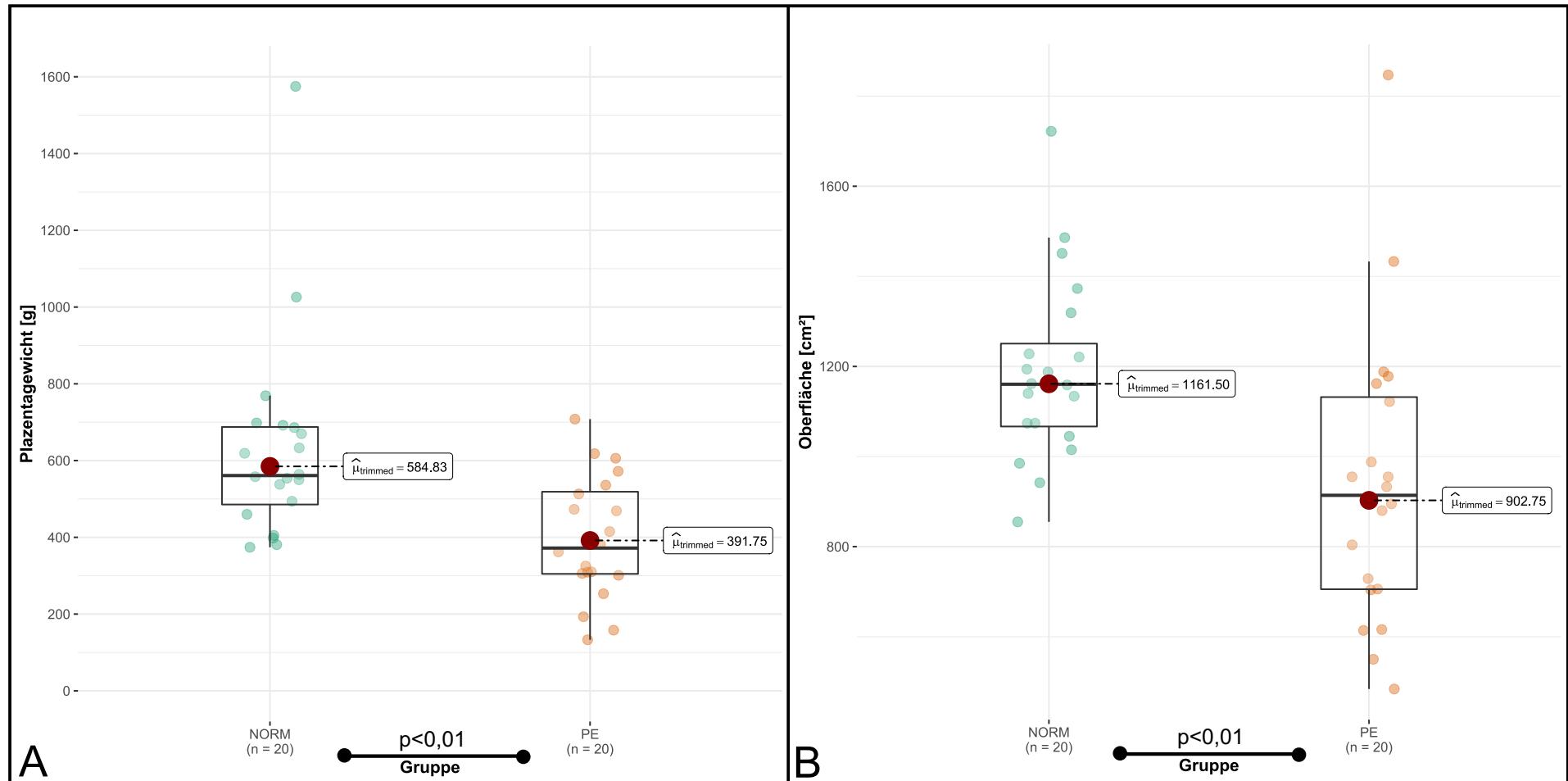
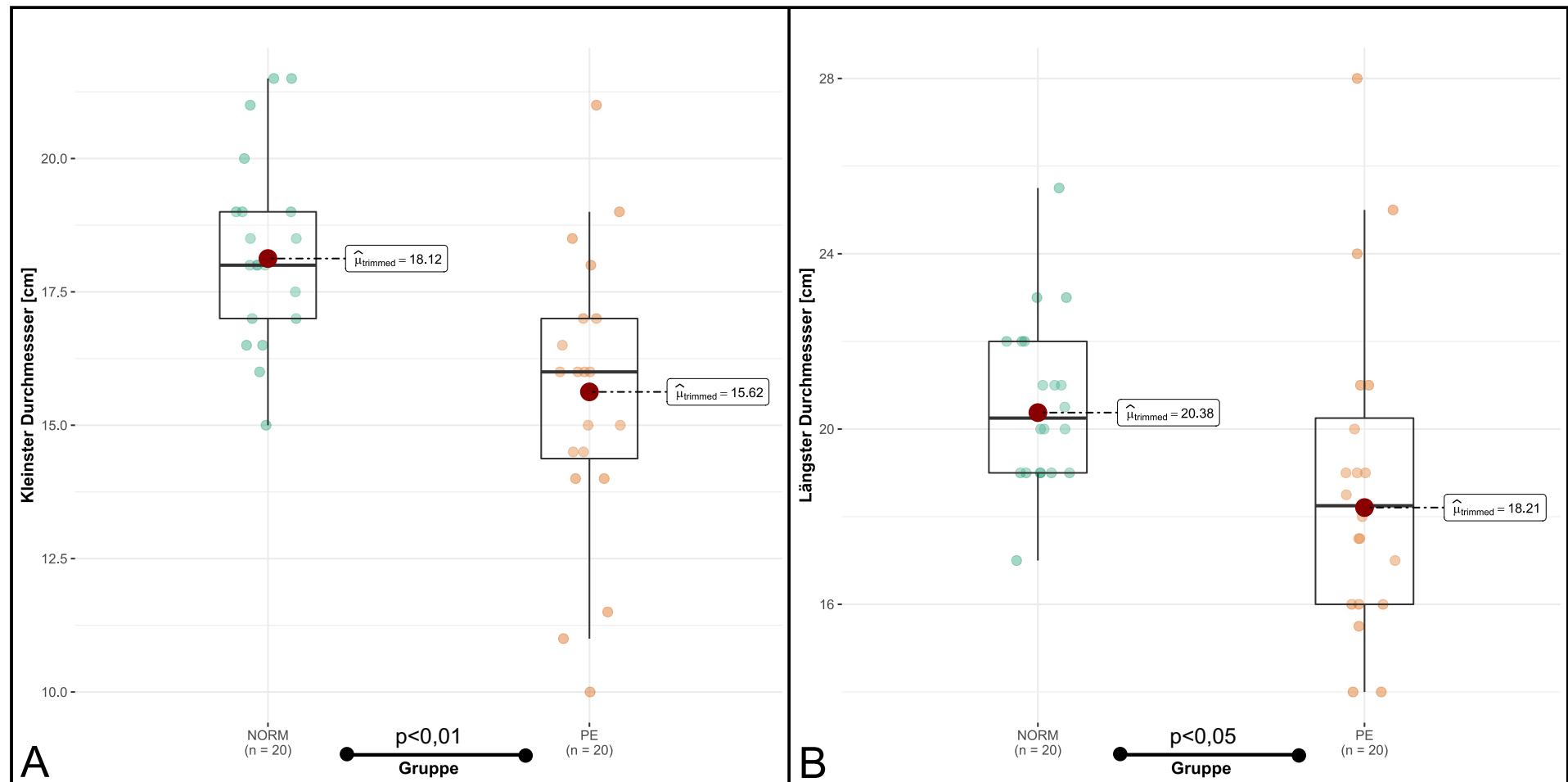


Abbildung 19: Plazentagewicht und Oberfläche. Das Plazentagewicht (PG (A)) und die Oberfläche (OF (B)) der Plazenten werden pro Gruppe (NORM, PE) dargestellt. Tukey plots (A, B) bilden die PG- und OF-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte als grüne Punkte überlagert, n=20) und PE Gruppe (Einzelwerte als gelbe Punkte überlagert, n=20) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für alle Paarungen statistisch signifikant, die p-Werte sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse



Ergebnisse

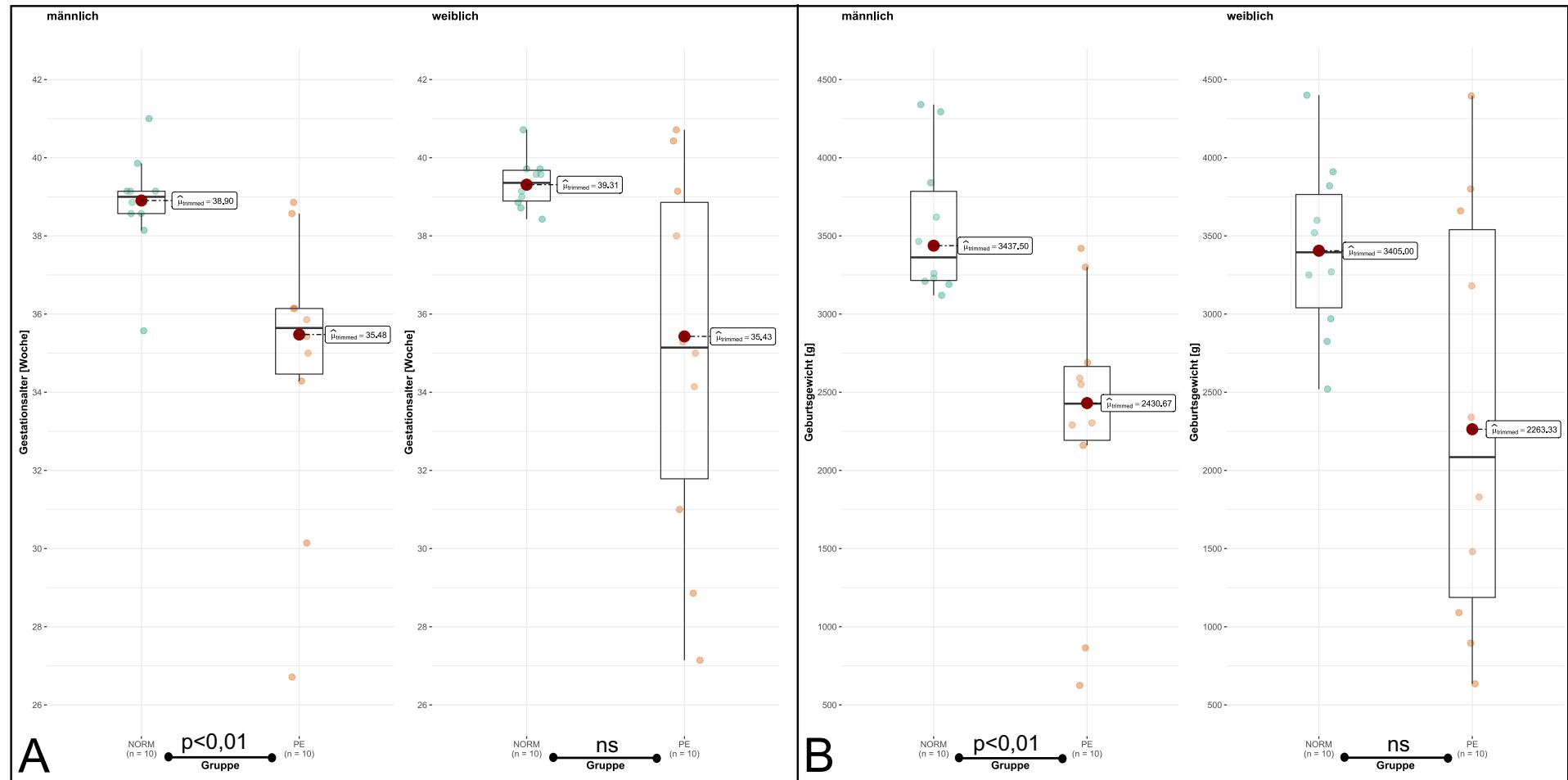


Abbildung 21: Gestationsalter und Geburtsgewicht ♂ und ♀. Das Gestationsalter (GA (A)) und das Geburtsgewicht (GG (B)) der Neugeborenen werden jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM, PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die GA- und GG-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, n=10) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für weibliche Plazenten nicht statistisch signifikant (ns), die p-Werte der männlichen Plazenten sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

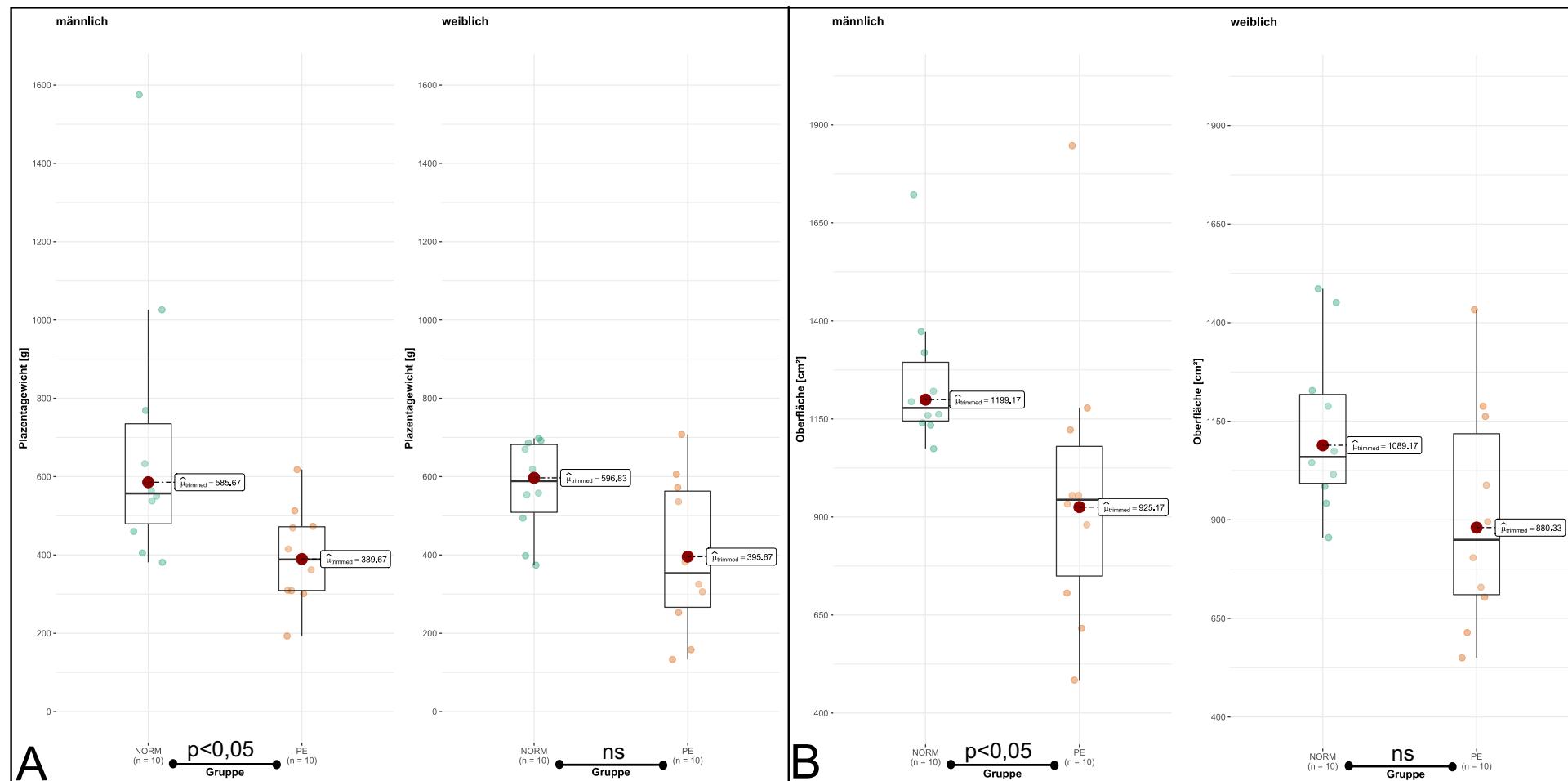


Abbildung 22: Plazentagewicht und Oberfläche ♂ und ♀. Das Plazentagewicht (PG (A)) und die Oberfläche (OF (B)) der Plazenten werden jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die GA- und GG-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, $n=10$) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, $n=10$) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für weibliche Plazenten nicht statistisch signifikant (ns), die p -Werte der männlichen Plazenten sind zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

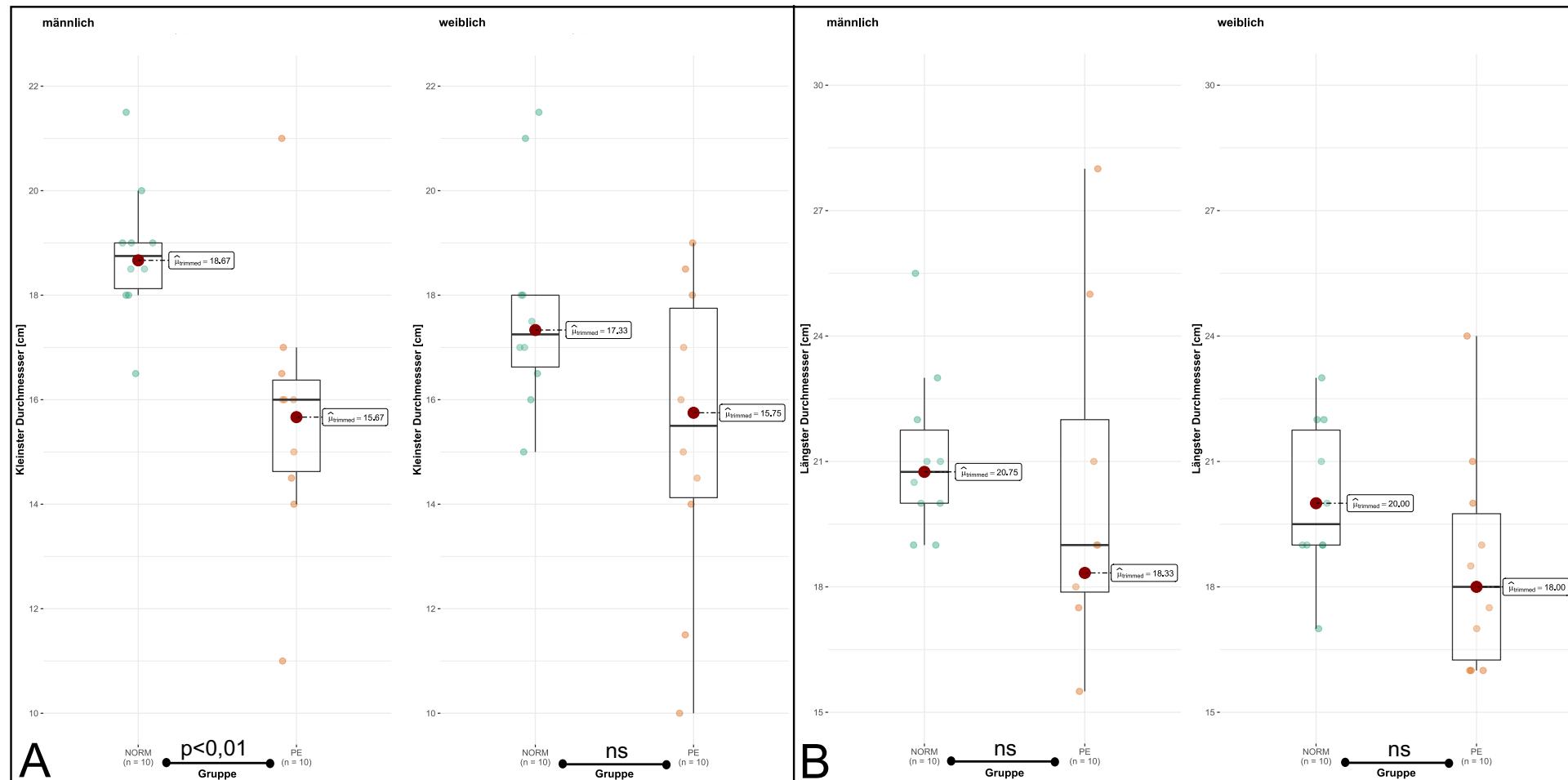


Abbildung 23: Kleinster und längster Durchmesser ♂ und ♀. Der kleinste Durchmesser (KD (A)) und der längste Durchmesser (LD (B)) werden jeweils nach Geschlecht (männlich, weiblich) und den Gruppen (NORM und PE) aufgeteilt. Tukey plots (A, B) bilden die GA- und GG-Daten der NORM Gruppe (Einzelwerte jeweils als grüne Punkte überlagert, n=10) und PE Gruppe (Einzelwerte jeweils als gelbe Punkte überlagert, n=10) ab. Mittelwerte sind durch große rote Dots unter Angabe des Wertes dargestellt. Die Unterschiede sind für weibliche Plazenten und den LD für männliche Plazenten nicht statistisch signifikant (ns), die p-Werte des KD von männlichen Plazenten ist zwischen den Gruppenbezeichnungen angezeigt.

Ergebnisse

Die Dicke der Plazenten und die Rundung der Plazenten zeigt bei der geschlechtsunabhängigen Auswertung als auch bei der Auswertung nach männlichem und weiblichem Geschlecht von NORM und PE Plazenten keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 5).

Gruppe	Männlich ♂	Weiblich ♀	♂ = ♀
Vergleiche	NORM/PE	NORM/PE	NORM/PE
Parameter			
GA (Wochen)	$p = 3,57 \times 10^{-4}$ (**)	$p = 0,097$ (ns)	$p = 6 \times 10^{-3}$ (**)
GG (g)	$p = 1 \times 10^{-3}$ (**)	$p = 0,131$ (ns)	$p = 6 \times 10^{-3}$ (**)
PG (g)	$p = 0,046$ (*)	$p = 0,059$ (ns)	$p = 1 \times 10^{-3}$ (**)
Oberfläche (cm ²)	$p = 0,033$ (*)	$p = 0,137$ (ns)	$p = 6 \times 10^{-3}$ (**)
KD (cm)	$p = 1 \times 10^{-3}$ (**)	$p = 0,174$ (ns)	$p = 2,99 \times 10^{-4}$ (**)
LD (cm)	$p = 0,119$ (ns)	$p = 0,131$ (ns)	$p = 0,026$ (*)
Dicke (cm)	$p = 0,088$ (ns)	$p = 0,541$ (ns)	$p = 0,132$ (ns)
Rundung	$p = 0,256$ (ns)	$p = 0,269$ (ns)	$p = 0,097$ (ns)

Tabelle 5: p-Werte und Signifikanzen klinische und makroskopische Parameter. Verglichen wurden männliche Plazenten aus PE Schwangerschaften mit männlichen Plazenten aus NORM Schwangerschaften sowie weibliche Plazenten aus PE Schwangerschaften mit weiblichen Plazenten aus NORM Schwangerschaften. Außerdem wurden Plazenten aus PE Schwangerschaften mit Plazenten aus NORM Schwangerschaften ohne Geschlechtsdivergenz verglichen. Erläuterungen: Die erste Zeile zeigt die Gruppenaufteilung an. Die zweite Zeile führt für jede Spalte auf, welche Variablen miteinander verglichen wurden (Vergleich ist angegeben mit einem Schrägstrich /). Signifikanz hinter dem jeweiligen p-Wert in (). $p > 0,05$ (ns, nicht signifikant), $p < 0,05$ (*) und $p < 0,01$ (**).

4 Diskussion

Mit Hilfe der 3D-Mikroskopie kann die vorliegende Arbeit erstmalig detaillierte Informationen über innere Organisation des villösen Trophoblasten im Rahmen der Präeklampsie (PE) liefern. Weil die statistische Auswertung der Flächendichte dabei auf Daten zu jedem einzelnen Zellkern der trophoblastären Oberfläche der ausgewerteten Zotten beruht, wird die statistische Power der Analyse weit über die Fallzahl der jeweiligen Gruppe erhöht (47) (vgl. 2.8, Tabelle 2).

Der villöse Trophoblast stellt in der Plazenta die epitheliale Basis der feto-maternalen Barriere dar. Seine Morphologie und Funktion sind essenziell für die in der Plazenta ablaufenden Transportvorgänge und jeden feto-maternalen Stofftransfer (33).

Der Proliferationsmarker PCNA bietet eine Möglichkeit, zwischen Zellkernen des Zytotrophoblasten (Stammzellkompartiment) und Synzytiotrophoblasten (epitheliale Barriere, Funktionskompartiment) zu unterscheiden (46) und erlaubt damit einen Einblick in die proliferative Dynamik des Trophoblasten. Es gilt die Regel, dass die Zellkerne des Zytotrophoblasten proliferierend, also PCNA positiv, und die Zellkerne des Synzytiotrophoblasten post-proliferativ, sprich PCNA negativ, sind (46, 73, 74). Über die Proliferationsanalyse kann daher ein indirekter Zugang zum inneren Organisationszustand des villösen Trophoblasten gesucht werden.

Seine Lage am Rand der mütterlichen Bluträume der Plazenta gibt dem villösen Trophoblasten – vor allem dem Synzytiotrophoblasten – die Möglichkeit, über den Blutweg direkt auf die Mutter einzuwirken (15), in deren Gefäßbett sich ein Schwerpunkt der klinischen Symptomentwicklung in der PE findet.

4.1 Veränderungen des villösen Trophoblasten bei PE

Bei der intrauterinen Wachstumsretardierung (IUGR) konnte bereits gezeigt werden, dass Störungen der Plazentafunktion mit Veränderungen der Flächendichte trophoblastärer Zellkerne des villösen Trophoblasten einhergehen (53). In der vorliegenden Arbeit werden nun auch Zusammenhänge der PE mit der trophoblastären Grundstruktur an der Zottenoberfläche sichtbar allerdings andere als bei der IUGR.

In den terminalen (hier als bT0 bezeichneten) und präterminalen (hier als bT1 bezeichneten) Verzweigungen des Zottenbaumes ist die Dichte PCNA negativer Zellkerne im Trophoblasten bei den PE Plazenten erniedrigt. Dieser Befund ist

gegenläufig zu den bei der IUGR beschriebenen Veränderungen (53). Für die IUGR wurde beschrieben, dass die Flächendichte PCNA negativer Zellkerne erhöht ist, nicht aber erniedrigt. Die PCNA negativen Zellkerne sind in der Regel vollständig in das Synzytium integriert und funktioneller Bestandteil der feto-maternalen Barriere. Anders ist dies für die PCNA positiven Zellkerne des villösen Trophoblasten. Diese gehören im Regelfall zum Zytotrophoblasten, der in zweiter Reihe unter dem Synzytium liegt und vor allem als Stammzellreserve des Synzytiums dient. Auch in diesem Kompartiment des villösen Trophoblasten gibt es Veränderungen bei der Präeklampsie. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Flächendichte PCNA positiver Zellkerne des Trophoblasten der terminalen und präterminalen Zottenverzweigungen höher ist als in unauffälligen Schwangerschaften. Bei der IUGR gibt es keine Änderung der Flächendichte PCNA positiver Zellkerne (47).

Die soeben für die Gesamtkohorte der vorliegenden Studie beschriebenen statistisch signifikanten Befunde stellen sich noch weiter akzentuiert dar, wenn auf die Geschlechter der Plazenten eingegangen wird. Nur in weiblichen Plazenten finden sich die jeweils für die gesamte Gruppe statistisch signifikanten Unterschiede wieder, nicht aber bei männlichen Plazenten. Bei Letzteren ist bestenfalls ein Trend zu beobachten, der aber vielfach deutlich unter dem Signifikanzlevel bleibt. Die Ausprägung dieser Befunde – sowohl bei den PCNA negativen wie bei den PCNA positiven Zellkernen – ist in der vorliegenden Arbeit daher sexuell dimorph. Für die Gesamtgruppe der PE Plazenten sind es die weiblichen Plazenten, die die Signifikanz in der Gruppe treiben. Diese Daten der vorliegenden Arbeit zu einem sexuell dimorphen Geschehen im villösen Trophoblasten sind auch mit Erkenntnissen epidemiologischer Studien vereinbar, die gezeigt haben, dass die mit PE assoziierte Frühgeburtlichkeit (Geburt vor der 38. Schwangerschaftswoche) mehr weibliche als männliche Neugeborene betrifft (55). Weil die Schwere der maternalen Symptomatik bei PE der wesentliche Faktor für eine vorzeitige Entbindung ist, weist diese klinisch-epidemiologische Beobachtung darauf hin, dass die Veränderungen an der Zottenoberfläche für die Schwere der maternalen Symptomatik von Bedeutung sein könnten (26).

Die Ergebnisse der Flächendichte und der mittleren Distanz zum nächsten Nachbarn von PCNA negativen und PCNA positiven Zellkernen an der Zottenoberfläche weisen in weiblichen PE Plazenten Unterschiede im Vergleich zu weiblichen NORM Plazenten auf, die in männlichen PE Plazenten nicht existent sind. So ist in weiblichen PE

Plazenten die Dichte von PCNA negativen Zellkernen an der Oberfläche von terminalen und präterminalen Zotten erniedrigt und die Dichte von PCNA positiven Zellkernen an der Oberfläche von terminalen Zotten erhöht. Letzteres ist passend zu der verkürzten Distanz zum nächsten Nachbarn von PCNA positiven Zellkernen in weiblichen PE Plazenten. Somit befinden sich in den peripheren Zottenabschnitten weiblicher PE Plazenten mehr proliferierende und weniger nicht-proliferierende Zellen (vgl. Abbildung 4, Abbildung 5). Die Daten zur *nearest neighbor distance* zeigen daher vergleichbare Ergebnisse auf, wie die Daten zur Flächendichte und unterstützen die dort erhobenen Befunde.

Der villöse Trophoblast mit seinen Subkomponenten Zytotrophoblast und Synzytiotrophoblast muss im Konzept der vorliegenden Arbeit als epitheliales Gesamtsystem diskutiert werden (47, 75). Dieses System hat ein proliferativ auf Regeneration gerichtetes Kompartiment (hier sind die PCNA positiven Zellkerne zu verorten) und ein ins Synzytium voll integriertes funktionales Kompartiment (hier sind die PCNA negativen Zellkerne zu verorten). Beides bildet gemeinschaftlich das funktionelle Gesamtsystem des villösen Trophoblasten. Seine Stabilität und Funktion wird durch Proliferation mit nachfolgender zyto-synzytialer Fusion (Input) und Abschilferung trophoblastären Materials ins maternale Blut (Output) in einem Fließgleichgewicht (steady state) gehalten (6). Im Fließgleichgewicht entsprechen die aus dem proliferativen Kompartiment nachkommenden Bestandteile quantitativ dem aus dem Synzytium abgeschilferten Material (vgl. Abbildung 24). Dieses Gleichgewicht sichert eine langfristige, wochen- bis monatelang anhaltende Stabilität des Gesamtsystems (47, 75).

Der in der vorliegenden Arbeit dokumentierte Anstieg der Flächendichte der PCNA positiven Zellkerne bei verringriger Flächendichte der PCNA negativen Zellkerne im Gesamtsystem des Trophoblasten kann wie folgt interpretiert werden und zeigt

- einen erhöhten Input von Material aus dem bei PE aktivierten proliferativen (PCNA positiven) Kompartiment an. Dieser Input muss im Fließgleichgewicht quantitativ der Menge des Materials entsprechen, das von der Oberfläche ins maternale Blut abschilfert.
- gleichzeitig eine reduzierte Flächendichte der PCNA negativen Zellkerne (entsprechend auch eine verlängerte *nearest neighbor distance* dieser Zellkerne). Unter der Annahme eines Fließgleichgewichtes an der

Zottenoberfläche ist dies gut mit einem beschleunigten Durchsatz des tropoblastären Materials durch das Gesamtsystem erklärbar.

- Die Daten der vorliegenden Studie weisen darauf hin,
 - dass bei PE quantitativ mehr Material aus dem Trophoblasten in die mütterliche Zirkulation abgegeben wird.
 - dass die Zeit für die adäquate Vorbereitung (Passivierung) der Abgabe während der Passage durch das Gesamtsystem verkürzt ist, was auch zur Abgabe nicht vollständig passivierten Trophoblastmaterials in die mütterliche Zirkulation führen könnte.
 - dass beide Faktoren zusammen eine möglicherweise kräftig erhöhte Belastung des maternalen Kreislaufs mit nicht ausreichend inaktiviertem kindlichen Trophoblastmaterial anzeigen.

Im Gegensatz dazu werden die Veränderungen des villösen Trophoblasten bei der IUGR als verzögerter Durchsatz interpretiert (47). Bei der IUGR stehen dabei auch kindliche Symptome im Mittelpunkt des Syndroms, das insgesamt ein Versagen der plazentaren Funktion anzeigt (76). Zu diesem Versagen könnten die Veränderungen im villösen Trophoblasten bei der IUGR erheblich beitragen. Jedoch fehlen bei der IUGR die maternalen Symptome, die bei der PE charakteristisch für das klinische Bild sind (44). Die folgende Abbildung (vgl. Abbildung 24) soll den beschriebenen Vorschlag zur Interpretation der Befunde darstellen.

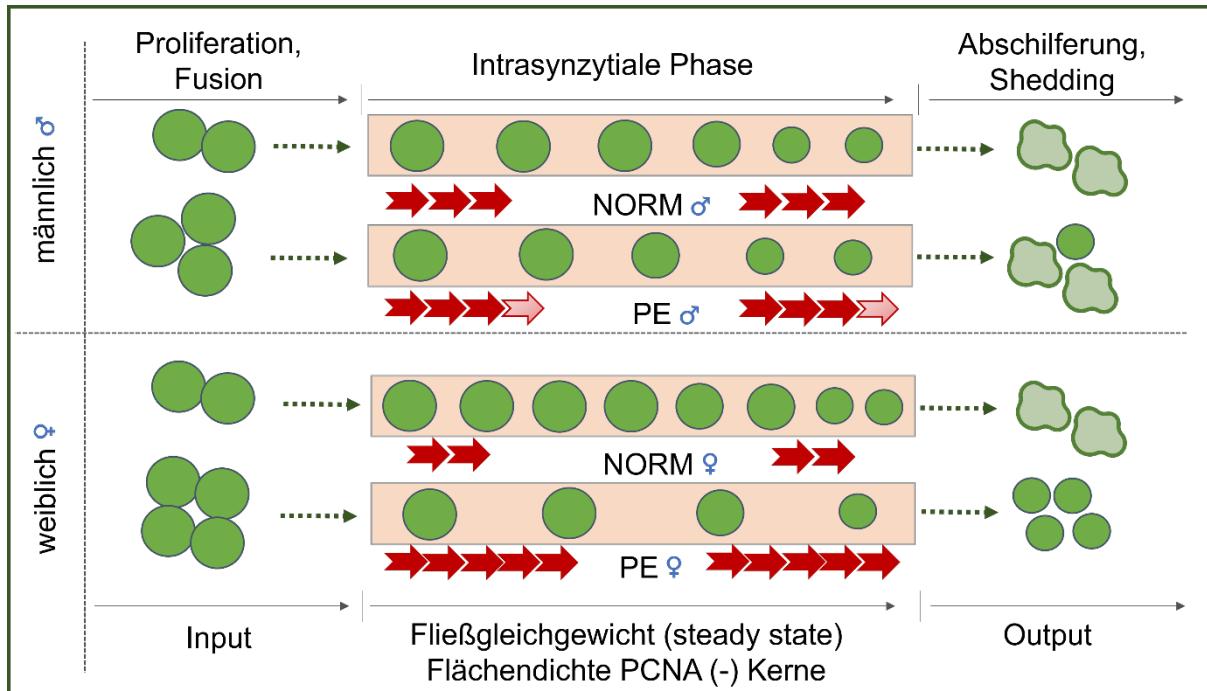


Abbildung 24: Konzept der Kontrolle nach Fusion im Synzytiotrophoblasten modifiziert nach (47, 75). Die Abbildung veranschaulicht die Grundidee des Konzepts der Postfusionskontrolle des Synzytiotrophoblasten mit seiner Struktur und Funktion, welches in (47, 75) vorgeschlagen wurde und auch in dieser Studie zur Interpretation der Befunde genutzt wird. Innerhalb der jeweiligen Gruppe (männlich und weiblich) wird zwischen NORM und PE Plazenten unterschieden. Die linke Seite stellt den Input von Zellelementen (grüne Kreise symbolisieren Kerne und alle Organellen, die ebenfalls importiert werden) durch zyto-synzytäre Fusion auf der Grundlage konstanter Proliferation dar. Die rechte Seite veranschaulicht den Austritt adäquat passivierter (hellgrüne Flecken) und unreifer (grüne kleine Kreise) Zellkerne und Organellen durch Abschilferung in den mütterlichen Kreislauf. In- und Output stehen im kinetischen Gleichgewicht und sind quantitativ gleich hoch. Die vier rosa farbenen Rechtecke symbolisieren den Synzytiotrophoblasten und die roten Pfeile darunter die Fließgeschwindigkeit bzw. die Progressionsrate (symbolisiert durch Anzahl und Farbintensität) durch die intrazytiale Phase. Die grünen Kreise in den rosa farbenen Rechtecken symbolisieren die Flächendichte der Zellkerne (die gezeigten Kreise sind beispielhaft für alle intrazytären Organellen). Die Größe der Kreise im Synzytiotrophoblasten symbolisiert die Alterung, wobei kleinere Kreise für schon gealterte Zellkerne stehen. Der Vorschlag zur Interpretation der Befunde basiert auf aktuellen Konzepten (73, 77) über den Umsatz (turnover) und den stabilen Zustand des villösen Trophoblasten in menschlichen Plazentazotten. Es verfügt über den Aspekt der Zeit, die für die Passage des Zytotrophoblastenmaterials (hier: Kerne) durch das Synzytium aufgewendet wird, und interpretiert dadurch die Veränderungen der Flächendichte der Zellkerne als Folge der Variabilität der Passagezeit (kinetische Bestimmung der scheinbaren Eigenschaften des Fließgleichgewichts). Die Unterschiede der Flächendichte von PCNA negativen Zellkernen beim Vergleich von weiblichen NORM und PE Plazenten sind signifikant. Beim Vergleich von männlichen NORM und PE Plazenten sind die Unterschiede nicht statistisch signifikant (ns).

In der vorliegenden Studie muss unklar bleiben, ob bei der PE die höhere Flächendichte der PCNA positiven Zellkerne den erhöhten Durchsatz primär ursächlich antreibt oder ob sie als sekundär-kompensatorische Reaktion auf einen erhöhten Materialverlust aus dem Trophoblasten in die mütterliche Zirkulation zu interpretieren ist. Ein beschleunigter Durchsatz trophoblastären Materials bei gesteigerter Proliferation muss dabei zwangsläufig zu einer vermehrten Abschilferung trophoblastärer Fragmente in die mütterliche Zirkulation pro Flächeneinheit der Zottenoberfläche führen. Da das Plazentagewicht im Rahmen der PE – anders als bei der IUGR – nicht massiv erniedrigt ist (78), können hier von einer altersentsprechend etwa normal großen trophoblastären Oberfläche des Zottenbaums in Summe pro

Zeiteinheit höhere Mengen Trophoblast als bei der IUGR oder auch bei normalen Plazenten abschilfeln. Die von der Trophoblastoberfläche abschwimmenden Elemente befinden sich unmittelbar im mütterlichen Blut und gelangen über die Venen des Uterus in das nächste maternale Kapillarbett - das Kapillarnetz der mütterlichen Lunge (34, 79). Es ist nicht auszuschließen, dass es infolgedessen zu einer Überlastung des mütterlichen Organismus bei der Verarbeitung und Entsorgung dieses Materials kommt, welches ursächlich zu dem erhöhten inflammatorischen Status bei der PE und den Endothelschäden im maternalen Organismus im Rahmen der Pathogenese der PE beitragen könnte (80–82). Beobachtet wurde plazentares Material in Form von großen mehrkernigen synzytialen Fragmenten – den „Plazentarzellen“ – in der mütterlichen Lunge zum ersten Mal 1893 von dem deutschen Pathologen Georg Schmorl. Er beschrieb das Vorkommen von „Plazentarzellen“ (83) in den Lungen von Müttern mit normalen Schwangerschaften und wies eine vermehrte Anzahl dieser Zellen bei schwangeren Frauen, welche an einer Eklampsie gestorben waren, nach (83, 84). Ein großes klinisches Interesse besteht heutzutage darin, abgeschilfertes trophoblastäres Material minimal-invasiv zu gewinnen, um vorgeburtlich fetale Gentests durchführen zu können (83). Zudem könnte der feto-maternale Austausch zum Verständnis der Toleranz des mütterlichen Immunsystems gegenüber dem semi-allogenen Fetus für die Zeit der Schwangerschaft beitragen und so neue Erkenntnisse für die Krebsforschung und Gewebetransplantation mit sich bringen (83, 85, 86). Neben den rein quantitativen Aspekten der Ausschleusung pathologisch großer Mengen trophoblastären Materials, kann es auch zu qualitativen Veränderungen bei der Zusammensetzung des abschilfernden Materials kommen. Die Vorgänge nach der zyto-synzytiale Fusion weisen phänotypisch weitgehende Parallelen mit der Apoptose von Epithelzellen auf (87, 88). Apoptotisch zugrunde gehende Zellen führen mit ihren entstandenen Fragmenten jedoch lokal nicht direkt zu einer massiven Aktivierung des angeborenen Immunsystems und zu verstärkten inflammatorischen Reaktionen (86). Anders ist dies bei nicht-apoptotischen (das heißt: nicht ausreichend passivierten) Zellfragmenten (35). Bei den hier dokumentierten Befunden an der Zottenoberfläche kann eine vermehrte Ausschleusung nicht adäquat vorbereiteten Trophoblastmaterials potenziell zu vermehrten inflammatorischen Reaktionen im maternalen Organismus führen. Es ist also denkbar, dass größere Mengen trophoblastären Materials, welche während der zeitlich verkürzten synzytialen

Passage nicht ausreichend passiviert werden konnten, inflammatorische Effekte im mütterlichen Organismus verschärfen.

4.2 Veränderungen des Zottenbaums bei PE

Bei den hier untersuchten Plazenten handelte es sich überwiegend um relativ spät in der Schwangerschaft aufgetretene und milde Manifestationen des PE Syndroms im Sinne einer LOPE, nicht aber um die seltener, für Mutter und Kind besonders kritische EOPE (vgl. 1.2). Es ist umstritten, ob die bei PE häufig aus maternaler Indikation erfolgende frühe Entbindung der wesentliche Parameter für die Gewichtsreduktion bei PE Kindern und Plazenten ist. Auch in der hier vorliegenden Studie war das Gestationsalter bei PE erniedrigt und Plazentagewichte sowie andere Größenparameter der Plazenten vermindert. Analog dazu lässt sich auch für die Parameter im Zottenbaum diskutieren, ob sie eher auf die PE selbst oder auf den etwas früheren Entbindungszeitpunkt zurückzuführen sind. Grob sind bei den stereologischen Messungen die zentralen Zottenabschnitte den C-villi und die peripheren Zottenabschnitte den NC-villi zu zuordnen.

In der vorliegenden Arbeit zur PE werden auffällige Zusammenhänge mit der Struktur des Zottenbaums sichtbar allerdings andere als bei der IUGR. Für die Volumenanteile der C-villi und NC-villi des Zottenbaums präsentieren sich Unterschiede zwischen der PE und IUGR bei männlichen Plazenten. So haben die PE Plazenten männlichen Geschlechts einen verringerten Volumenanteil von NC-villi und C-villi und die IUGR Plazenten männlichen Geschlechts nur einen verringerten Volumenanteil von C-villi (48). Der verringerte Volumenanteil der C-villi bei männlichen IUGR Plazenten korrelierte mit dem Plazentagewicht (48). Bei NORM Plazenten korrelierten das Plazentagewicht und die Plazentadicke mit den Volumina der C-villi (49). Plazentagewicht und Plazentadicke sind wichtige Endpunkte in vielen Studien zum prenatal programming (56, 89, 90). Die Daten von GG, PG und GA bei PE Schwangerschaften geben im Gegensatz zur IUGR kein einheitliches Bild ab (29, 91). Ob der verringerte Volumenanteil von NC-villi und C-villi bei männlichen PE Plazenten mit makroskopischen Parametern korreliert, wurde in der vorliegenden Studie nicht untersucht.

Die Verzweigungswinkel sowie Länge, Durchmesser und Volumen der peripheren Zotten, welche mittels 3D-Mikroskopie untersucht wurden, spielen bei Veränderungen des Zottenbaums bei PE keine Rolle.

4.3 Plazentarer Sexualdimorphismus bei PE

In den hier untersuchten Plazenten wurden erstmalig morphologisch fassbare sexuell dimorphe Veränderungen im villösen Trophoblasten bei PE nachgewiesen (75). Der villöse Trophoblast ist dabei mit vielen Gesichtspunkten der Plazentafunktion korreliert, bei PE auch mit sexuell dimorphen Funktionen. Normale und pathologische Plazentafunktion finden in der hier beschriebenen Morphologie bei PE ggf. ihr strukturelles Korrelat.

4.3.1 Gestationsalter

Weibliche Neugeborene mit PE sind im Vergleich zu männlichen Neugeborenen mit PE häufiger von Frühgeburtlichkeit ($\leq 37+0$) und früher Frühgeburtlichkeit ($\leq 34+0$) betroffen (55, 92–96). Verburg et al. vermutet, dass die weibliche fetale-plazentare Einheit, zu welcher der villöse Trophoblast gehört, den erhöhten Blutdruck der Mutter induziert, um die Durchblutung der Plazenta zu verbessern, da mehr Frauen mit einem weiblichen Fetus an einer schweren schwangerschaftsinduzierten Hypertonie leiden als Frauen mit männlichem Fetus. Verburg et al. erklärt damit auch den erhöhten Anteil von ärztlich eingeleiteten Geburten von Müttern mit einem hypertonie-induzierten Geschehen, die zu Frühgeburten von weiblichen Kindern führen (94).

4.3.2 Fetales Wachstum

Laut Stark et al. weisen männliche Feten von Müttern mit PE eine normale Wachstumsentwicklung und weibliche Feten ein asymmetrisches Wachstum mit einem kleineren Geburtsgewicht auf (54, 54, 97). Diese Beobachtungen werden mit geschlechtsspezifischen Veränderungen der peripheren mütterlichen mikrovaskulären Funktion in Zusammenhang gebracht (98). Bei männlichen Feten konnte eine vermehrte Vasokonstriktion auf Ebene der mütterlichen mikrovaskulären Zirkulation von Schwangeren mit PE assoziiert werden. Bei Frauen mit weiblichen Feten gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen normotensiven und hypertensiven Frauen für die mütterliche mikrovaskuläre Funktion (54). Diese Ergebnisse zeigen, dass weibliche und männliche Feten unterschiedliche Bewältigungsstrategien in Bezug auf die PE haben. Während weibliche Feten ihr Wachstum reduzieren, behalten männliche Feten ihr normales Wachstum bei (54). Diese Daten beziehen sich auf Schwangerschaften mit milder PE und termin-naher Geburt des Kindes. Bei schweren Formen von PE mögen die Anpassungsmechanismen komplexer sein, auch weil starke kompensatorische

Reaktionen zur Stabilisierung der Situation ebenfalls zu Veränderungen der Plazenta führen können (98). Die Geschlechtsunterschiede, die bei Schwangerschaften mit männlichen und weiblichen Feten in dieser Studie und in anderen Studien, welche in (54) aufgeführt werden, zutage treten, führt Clifton et al. auf die Plazenta und die „geschlechtsspezifische Regulation und Expression von plazentaren Genen, Proteinen, Steroiden und Struktur“ zurück (54).

4.3.3 Genexpression

Ebenfalls konnte ein plazentarer Sexualdimorphismus bei der Genexpression bei Müttern mit PE beobachtet werden (93, 99). Ob es eine direkte Korrelation der Genexpression mit den Befunden der vorliegenden Arbeit gibt, kann hier nicht belegt werden. Jedoch macht es deutlich, dass der sexuelle Dimorphismus bei PE ein breit gefächertes Phänomen pathogenetischen Ursprungs ist.

4.3.4 Trophoblast und endokrine Funktion der Plazenta

Sathishkumar et al. fragt sich, inwiefern die Plazenta und die je nach Geschlecht unterschiedlichen Steroidhormonprofile bei PE zusammenhängen. „Beeinflusst die Plazenta bei Schwangeren mit PE direkt die Hormone je nach fetalem Geschlecht oder führt die PE in Bezug auf das fetale Geschlecht zu unterschiedlichen plazentaren endokrinen Signalwegen?“ (100). Die Forschungsgruppe hat für die Geschlechtshormone und Rezeptoren, welche aus Plazentagewebe von PE Schwangerschaften und gesunden Schwangerschaften mittels Immunfluoreszenz, Western Blot und quantitativer PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) bestimmt wurden, ein sexuell dimorphes Geschehen beobachtet. Die AR (Androgen Rezeptor) Expression war unabhängig vom fetalen Geschlecht im Vergleich zu den gesunden Plazenten bei PE Plazenten erhöht. Die plazentare Aromatase war bei weiblichen PE Schwangerschaften erhöht und bei männlichen PE Schwangerschaften erniedrigt. Das erhöhte zirkulierende Testosteron bei männlichen Feten, welches bei weiblichen Feten erniedrigt war (100, 101), wurde teilweise mit den geschlechtsspezifischen Leveln der Aromatase assoziiert (100). Androgene sind Hormone, die unterschiedliche Wirkungen auf verschiedene Zielstrukturen hervorrufen und genetische und nicht-genetische Funktionen erfüllen. Sie werden häufig als „männliche Sexualsterioide“ definiert und sind ausschlaggebend für die Entwicklung männlicher Merkmale bei männlichen Feten von normalen Schwangerschaften (102). In vielen Studien wurde ihre Beteiligung bei der intrauterinen Entwicklung von

weiblichen Feten bei normalen Schwangerschaften untersucht und es konnte gezeigt werden, dass Androgene auch für das weibliche Geschlecht eine Rolle spielen (102). Vermutet wird, dass die Zusammenhänge des gestörten Signalwegs der Androgene Auswirkungen auf die Plazentaentwicklung haben und die Häufigkeit von mütterlichen und fetal Komplikationen mit PE erhöhen könnten (vgl. 1.3 (100, 101)). Da der villöse Trophoblast ein zentraler Ort der endokrinen Funktionen der Plazenta ist, ist naheliegend, dass die in der vorliegenden Studie festgestellten sexuell dimorphen morphologischen Veränderungen bei PE als Äquivalent solcher funktioneller und endokriner Dimorphismen interpretiert werden können.

4.3.5 Trophoblastdeportation und maternale Symptomatik

Bei männlichen PE Plazenten von termingerechten Geburten war die Expression von inflammatorischen, hypoxischen und apoptotischen Markern höher und die Expression von pro-angiogenetischen Markern geringer als bei weiblichen PE Plazenten (55, 92, 93). Diese Auswertungen passen insofern zu denen dieser Arbeit, als dass bei den weiblichen PE Plazenten im Vergleich zu den männlichen PE Plazenten die Flächendichte der proliferierenden Zellkerne des villösen Trophoblasten erhöht und die Flächendichte der nicht-proliferierenden Zellkerne erniedrigt ist (vgl. Abbildung 4, Abbildung 5) und somit davon ausgegangen werden kann, dass beim weiblichen Geschlecht mehr unreifes, also nicht apoptotisches Zellmaterial entsteht als beim männlichen Geschlecht.

Die sekundäre Datenanalyse einer Fallkontrollstudie der „Collaborative Perinatal Project (CPP)“ untersuchte Zusammenhänge zwischen dem fetal Geschlecht, PE und dem Immunsystem der Mutter mit folgenden Ergebnissen (95)

1. Schwangere mit PE und weiblichem Fetus wiesen erniedrigte Werte für das proinflammatorische IL1 β des 2. Trimenons auf und normotensive Schwangere mit weiblichem Fetus höhere IL1 β Werte.
2. Schwangere mit PE und weiblichem Fetus hatten erhöhte Werte für das antiinflammatorisch wirkende Zytokin IL10 in der postpartalen Phase (95).

Da das Krankheitsbild der PE vor allen Dingen mit einer maternalen Symptomatik einhergeht, wobei es dem Kind intrauterin oft noch vergleichsweise gut geht, liegt nahe, dass das Immunsystem der Mutter eine wichtige Rolle in Bezug auf die Pathogenese der PE spielt. Inwiefern das fetale Geschlecht die Funktion des

mütterlichen Immunsystems stimuliert, ist fraglich. Auf Basis der Ergebnisse dieser Arbeit reagiert das maternale Immunsystem eventuell gezwungenermaßen sexuell dimorph, da der villöse Trophoblast eines weiblichen Fetus mit PE mehr unfertiges Zellmaterial in den mütterlichen Blutkreislauf abgibt als der villöse Trophoblast eines männlichen Fetus mit PE. Nicht-apoptotisches Material aktiviert das maternale Immunsystem anders als apoptotisches Material. Die Apoptose wird von den Zellen selbstständig eingeleitet und deshalb als „programmierter Zelltod“ bezeichnet. Im Gegensatz zu nekrotischen Zellen lösen apoptotische Zellen keine Entzündungsreaktion aus (103).

Die oben aufgeführten Ergebnisse zeigen, wie wichtig es ist, das sexuell dimorphe Geschehen insgesamt und insbesondere des villösen Trophoblasten bei der Erforschung der PE und anderen Plazentaerkrankungen zu berücksichtigen.

4.4 Vergleiche von PE und IUGR

Die bisher weitgehend akzeptierte Annahme ist, dass die PE und IUGR Erkrankungen der Plazenta sind, welche dieselbe Pathogenese haben und in der Frühschwangerschaft entstehen (40, 43, 44, 104). Weshalb sich die PE im weiteren Verlauf der Schwangerschaft primär mit einer klinischen Symptomatik der Mutter und die IUGR primär mit einem wachstumsretardierten Kind manifestiert, ist unklar. Die Ergebnisse dieser Studie und anderer Studien zur IUGR und PE können Erklärungsansätze auf morphologischer Ebene liefern (48, 105) und weisen darauf hin, dass der villöse Trophoblast eine Schlüsselrolle in der Entstehung und unterschiedlichen Klinik beider Erkrankungen spielt.

Die geschlechtsabhängigen Ergebnisse der Flächendichte der Zellkerne des villösen Trophoblasten der NORM Gruppe aus der Arbeit von Barapatre et al. (75) und der NORM Gruppe der IUGR Studie von Barapatre et al. (47) überschneiden sich. Die Flächendichte von PCNA negativen Zellkernen ist bei weiblichen NORM Plazenten höher im Vergleich zu männlichen NORM Plazenten. Bei der Flächendichte der PCNA positiven Zellkerne gibt es keine Unterschiede zwischen weiblichem und männlichem Geschlecht. Im Vergleich zu den NORM Plazenten ist die Flächendichte der PCNA negativen Zellkerne von IUGR Plazenten unabhängig vom Geschlecht deutlich erhöht (48). Bei der PE zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass die Flächendichte der PCNA negativen Zellkerne unabhängig vom Geschlecht erniedrigt ist (vgl. Abbildung 2). Insgesamt weisen die beschriebenen Befunde der NORM Gruppe aus den zitierten

Arbeiten darauf hin, dass plazentarer Sexualdimorphismus kein pathologisches Phänomen ist, sondern auch in Plazenten von klinisch unauffälligen Schwangerschaften existiert (vgl. 1.3). Histopathologisch wirken die beiden Krankheitsbilder (IUGR, PE) unterschiedlich auf diesen Dimorphismus ein und modifizieren ihn auch unterschiedlich. Dies zeigen auch Ergebnisse morphometrischer Messungen von IUGR und PE Plazenten, welche Mayhew et al. durchgeführt haben (105).

4.5 Methodische Besonderheiten dieser Arbeit

4.5.1 Vorbemerkungen

In dieser Studie wurden menschliche Plazenten mit Präeklampsie (PE) und klinisch unauffällige Plazenten (NORM) makroskopisch untersucht sowie 3D-mikroskopisch und stereologisch analysiert.

Die Methode der 3D-Mikroskopie ist nicht völlig untersucherunabhängig, weshalb jede periphere Plazentazotte der PE (n=9) und NORM (n=20) Gruppe vom selben Untersucher mikroskopiert wurde. Innerhalb der PE Gruppe war die Verteilung der Geschlechter nicht gleichmäßig, so dass die Gruppe aus sechs weiblichen und drei männlichen PE Plazentazotten bestand. Für die Analyse der Dichte von PCNA negativen und PCNA positiven Zellkernen an der Zottenoberfläche und die Distanz zum nächsten Nachbarn ist dies unerheblich (vgl. 2.8).

4.5.2 Stereologie und 3D-Mikroskopie ergänzen sich komplementär

Sowohl die Stereologie als auch die 3D-Mikroskopie sind Verfahren der 3D-Analyse, die allerdings unterschiedlich an das gestellte Problem herangehen und sich dabei sinnvoll ergänzen. Die Stereologie ist im Kern ein auf der Analyse histologischer Schnitte basierendes statistisches Verfahren, das die Generalisierung von Daten, die von 2D-Schnitten gewonnen wurden, auf eine dreidimensionale Grundgesamtheit – hier den Zottenbaum der Plazenta – erlaubt. Die statistische Basis der Stereologie erlaubt a priori eine Generalisierung der Aussage (106). Die Stereologie ist in ihrer statistischen Grundkonzeption jedoch unabhängig von konkreten Details der analysierten Struktur und kann zum Beispiel bei Volumenbestimmung nicht zwischen Baumstrukturen, Gittern oder anderen geometrischen Mustern unterscheiden. Es ist ihre Stärke, von diesen Grundgegebenheiten unabhängig zu sein (64, 106, 107). Nur die als „second order“ Stereologie bekannten Erweiterungen der basalen Stereologie

erlauben auch Rückschlüsse auf konkrete Strukturdifferenzen. In der vorliegenden Arbeit ist der Verzweigungsindex ein solches Verfahren der second order Stereologie (108). Um die Verzweigungsstruktur des Zottenbaums und Parameter wie die Flächendichte der Zellkerne im villösen Trophoblasten direkt und unmittelbar zu analysieren, wurde hier zusätzlich die 3D-Mikroskopie eingesetzt. Diese kann nur die peripheren Spitzen der Baumstruktur analysieren. Eine Generalisierung auf den Gesamtbaum auf Basis statistischer Grundlagen ist nur begrenzt möglich. Jedoch kann die 3D-Mikroskopie Verzweigungswinkel und die Kerndichte des villösen Trophoblasten direkt quantitativ erfassen (29), welches bei der Stereologie und generell der Mikroskopie von dünnen histologischen Schnitten nicht möglich ist. Die vorliegende Arbeit basiert sowohl auf statistisch-stereologischen Aussagen über Strukturen des Zottenbaumes als auch auf direkt dreidimensional ermittelten mikroskopischen Analysen.

4.6 Offene Fragen und Ausblick

Wünschenswert zur Vorhersage einer PE wäre ein nicht-invasiver Screeningtest, welcher für Mutter und Kind ungefährlich, dabei leicht anwendbar, schnell durchführbar und kostengünstig ist sowie eine hohe Sensitivität besitzt. Aktuell kommen in der Praxis zur Anwendung das prognostische Testverfahren für das 1. Trimenon (First-trimester Test) basierend auf dem Modell der „Fetal Medicine Foundation (FMF)“, welches sich aus den maternalen Anamnesedaten, dem mittleren arteriellen Blutdruck (MAD) der Mutter, dem mittleren Pulsationsindex der Aa. uterinae und den Serumwerten von PIGF oder PAPP-A zusammensetzt (20). Die Vorhersagekraft dieses Tests liegt bei 75% für die Detektion einer sehr frühen und frühen PE. Die Raten für eine frühe PE konnten mit der Anwendung dieses Tests und der Gabe von niedrigdosiertem Aspirin, nach positivem Testergebnis, um 62% gesenkt werden (109). Die Gabe von niedrigdosiertem Aspirin (≥ 100 mg) mit dem Beginn möglichst vor der 16. SSW, senkt das Risiko der Entstehung einer PE vor der 37. SSW (110, 111). Für die Anwendung des sFlt-1/PIGF Quotienten, der neben anderen Parametern ergänzend zur Risikoabschätzung einer PE im 2. und 3. Trimenon in der Geburtshilfe angewandt wird (vgl. 1.2), gibt es nach (112) drei Möglichkeiten der sinnvollen Anwendung: 1. Die Mutter hat ein hohes Risiko eine PE zu entwickeln 2. Die Mutter zeigt klinische Auffälligkeiten, die Hinweise auf eine PE geben (jedoch liegt noch keine PE Diagnose vor) 3. Zur Planung und Entscheidungsfindung von Müttern, bei denen bereits eine PE diagnostiziert wurde. Insgesamt sind die obengenannten

Testverfahren aufwendig, teilweise untersucherabhängig und benötigen eine Kombination aus vielen Parametern für die Risikoabschätzung einer PE (113).

Im Journal „Nature Medicine“ veröffentlichte Kaitu'u-Lino et al. (114) Informationen für einen neuen Methylom-Bluttest, der in Kombination mit klinischen Daten der Mutter eine Sensitivität von 57% aufweist (113, 114). Für den Methylom-Bluttest analysierte die Arbeitsgruppe von De Borre et al. (113) zellfreie DNA (cfDNA) aus dem Blut von Schwangeren, die im Verlauf eine PE entwickeln würden und es präsentierten sich mehr Signale, die mit Profilen von methylierter DNA (DNAme) der Plazenta übereinstimmten als mit Blutzellen oder Organen. Diese Beobachtungen zeigen, dass die Veränderungen der cfDNAme, welche mit PE assoziiert werden, größtenteils aus der Plazenta stammen. Zudem waren viele Veränderungen der cfDNAme in der Nähe von Genen lokalisiert, die Proteine kodieren, die für die Plazentaentwicklung und Plazentation wichtig sind. cfDNAme-Marker aus der frühen Schwangerschaft zeigten teilweise eine hohe Übereinstimmung für Signale des Trophoblasten und weniger für Endothel-, Stroma- und Hofbauerzellen der Plazenta. Der cfDNAme-Score nahm mit der Plazentareifung im Gegensatz zu den Kontrollen bei PE nicht ab (113). Plazentare DNA im maternalen Blut stammt hauptsächlich aus trophoblastärer Abschilferung und bildet möglicherweise die in dieser Arbeit beschriebenen PE-typischen Veränderungen mit ab. In der Krebsforschung ist die veränderte DNA-Methylierung von Tumorzellen im Vergleich zu gesunden Zellen als diagnostisches Kriterium und zur Entwicklung zielgerichteter Therapien von enormer Bedeutung (115), so dass es nicht unwahrscheinlich ist, dass sie auch in der Plazentaforschung in Zukunft eine Rolle spielen wird.

Honigberg et al. (116) leitete aus einer Meta-Analyse mit mehreren Genloki „genomweite polygene Risikoscores“ ab, um hypertensive Schwangerschaftserkrankungen zu prognostizieren. Für erstgebärende Frauen konnten die polygenen Risikoscores unabhängig von den Risikofaktoren, die im ersten Trimenon standardmäßig ermittelt werden, das Risiko für eine hypertensive Schwangerschaftserkrankung vorhersagen (116).

Weiterhin bleiben viele Fragezeichen im Hinblick auf die PE bestehen. Das Verständnis der Pathogenese ist enorm wichtig für die Entwicklung diagnostischer und therapeutischer Verfahren. Die Plazenta spielt hierbei eine Schlüsselrolle und sollte, wie die sexuell dimorphen Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, stets geschlechtsabhängig

untersucht werden. Entscheidend für die Plazentaforschung sind Plazentadaten. Der Standard sollte in der Geburtshilfe in Deutschland so sein, dass die Plazenta nicht nur auf ihre Vollständigkeit überprüft wird, sondern weitere Parameter wie ihr Gewicht, Größe, Rundung, Oberfläche, kürzester und längster Durchmesser, etc. erhoben und dokumentiert werden. Dies wird im Ausland teilweise schon lange gemacht und schafft große Datensätze, die der Wissenschaft zur Verfügung gestellt werden können. Zudem könnte ein Nebeneffekt dieser Dokumentation sein, dass die Plazenta als Organ weiter in den Fokus biomedizinischer Grundlagenforschung und klinischer Forschung gerät.

5 Literatur

1. Becker V, Kubli F, Schiebler TH, Hrsg. Die Plazenta des Menschen. Stuttgart, New York: G. Thieme; 1981.
2. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Characterization of the Developmental Stages. In: Benirschke K, Baergen R, Kaufmann P, Hrsg. Pathology of the Human Placenta. 5th ed. New York: Springer; 2006. 163–165.
3. Sadler TW. Stammes- und Entwicklungsgeschichte des Menschen. In: Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K, Hrsg. Prometheus - LernAtlas der Anatomie: Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem. 5th ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2018. 4–5.
4. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Early Development of the Human Placenta. In: Benirschke K, Baergen R, Kaufmann P, Hrsg. Pathology of the Human Placenta. 5th ed. New York: Springer; 2006. 42–48.
5. Kimber SJ, Spanswick C. Blastocyst implantation: the adhesion cascade. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11(2):77–92.
6. Frank HG. Placenta and intrauterine environment: Placental Development. In: Polin RA, Abman SH, Rowitch D, Benitz WE, Hrsg. Fetal and Neonatal Physiology. 5th ed. Philadelphia: Elsevier; 2017. 101–113.
7. Bischof P, Irminger-Finger I. The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37(1):1–16.
8. Burton GJ, Watson AL, Hempstock J, Skepper JN, Jauniaux E. Uterine Glands Provide Histiotrophic Nutrition for the Human Fetus during the First Trimester of Pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6):2954–2959.
9. Kingdom J, Huppertz B, Seaward G, Kaufmann P. Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 92(1):35–43.
10. Frank HG. Histologie für Dummies. Newark: John Wiley & Sons, 2021. 501–511.
11. Burton GJ, Jauniaux E, Watson AL. Maternal arterial connections to the placental intervillous space during the first trimester of human pregnancy: The Boyd Collection revisited. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181(3):718–724.

12. Abbas Y, Turco MY, Burton GJ, Moffett A. Investigation of human trophoblast invasion in vitro. *Hum Reprod Update* 2020; 26(4):501–513.
13. Welsch U., Deller T. Befruchtung, Implantation, Plazenta. In: Sobotta J, Welsch U, Hrsg. Lehrbuch Histologie: Zytologie, Histologie, mikroskopische Anatomie. 3rd ed. München: Elsevier Urban & Fischer; 2010. 443–455.
14. Jaffe R, Jauniaux E, Hustin J. Maternal circulation in the first-trimester human placenta—myth or reality? *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176(3):695–705.
15. Frank HG, Kaufmann P. Nonvillous Parts and Trophoblast Invasion. In: Benirschke K, Baergen R, Kaufmann P, Hrsg. Pathology of the Human Placenta. 5th ed. New York: Springer; 2006. 171–249.
16. Jansen CHJR, Kastelein AW, Kleinrouweler CE, van Leeuwen E, Jong KH de, Pajkrt E et al. Development of placental abnormalities in location and anatomy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2020; 99(8):983–993.
17. Kämmerer U, Garnier Y, Singer D. Sexualfunktionen, Schwangerschaft und Geburt. In: Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S, Hrsg. Physiologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019. 652–656.
18. Rath W, Gembruch U, Schmidt M. Geburtshilfe und Perinatalmedizin: Pränataldiagnostik; Erkrankungen; Entbindung. 2d ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2010.
19. Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestational hypertension, United States, 1987-2004. *American journal of hypertension* 2008; 21(5):521–526.
20. Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. (DGGG). Hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft: Diagnostik und Therapie: S2k-Leitlinie 2024; (7.0).
21. Reister F, Frank HG, Heyl W, Kosanke G, Huppertz B, Schröder W et al. The distribution of macrophages in spiral arteries of the placental bed in pre-eclampsia differs from that in healthy patients. *Placenta* 1999; 20(2-3):229–233.
22. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction,

- hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The Journal of clinical investigation* 2003; 111(5):649–658.
23. Hornig C, Barleon B, Ahmad S, Vuorela P, Ahmed A, Weich HA. Release and complex formation of soluble VEGFR-1 from endothelial cells and biological fluids. *Lab. Invest* 2000; 80(4):443–454.
 24. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P et al. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. *Hypertension* 2014; 63(2):346–352.
 25. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ et al. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation* 2012; 125(7):911–119.
 26. Dröge LA, Fischer T, Grab D, Grubert T, Hantschmann P, Henrich W et al. Maternale Erkrankungen in der Schwangerschaft. In: Kainer F, Abou-Dakn M, Hrsg. *Facharztwissen Geburtsmedizin*. 4th ed. München: Elsevier; 2021. 337–609.
 27. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M et al. Predictive Value of the sFlt-1:PIGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med* 2016; 374(1):13–22.
 28. Schmitz C, Frank H-G. Discrete Placental Dysfunction: The Overlooked Player in Prenatal Roots of Neuropsychiatric Diseases? *Neuroembryol Aging* 2002; 1(4):169–175.
 29. Haeussner E, Buehlmeyer A, Schmitz C, Koch FE von, Frank H-G. Novel 3D microscopic analysis of human placental villous trees reveals unexpected significance of branching angles. *Sci Rep* 2014; 4:61–92.
 30. Kaufmann P, Mayhew TM, Charnock-Jones DS. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy. *Placenta* 2004; 25(2-3):114–126.
 31. Mayhew TM. Fetoplacental Angiogenesis During Gestation is Biphasic, Longitudinal and Occurs by Proliferation and Remodelling of Vascular Endothelial Cells. *Placenta* 2002; 23(10):742–750.

32. Longtine MS, Chen B, Odibo AO, Zhong Y, Nelson DM. Villous trophoblast apoptosis is elevated and restricted to cytotrophoblasts in pregnancies complicated by preeclampsia, IUGR, or preeclampsia with IUGR. *Placenta* 2012; 33(5):352–359.
33. Castelucci M., Kaufmann P. Basic Structure of the Villous Tree. In: Benirschke K, Baergen R, Kaufmann P, Hrsg. *Pathology of the Human Placenta*. 5th ed. New York: Springer; 2006. 50–96.
34. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Classification of Villous Maldevelopment. In: Benirschke K, Baergen R, Kaufmann P, Hrsg. *Pathology of the Human Placenta*. 5th ed. New York: Springer; 2006. 439–482.
35. Huppertz B, Kingdom J, Caniggia I, Desoye G, Black S, Korr H et al. Hypoxia favours necrotic versus apoptotic shedding of placental syncytiotrophoblast into the maternal circulation. *Placenta*; 24(2-3):181–190.
36. Cotter TG, Lennon SV, Glynn JG, Martin SJ. Cell death via apoptosis and its relationship to growth, development and differentiation of both tumour and normal cells. *Anticancer research* 1990; 10(5A):1153–1159.
37. Mayhew TM, Charnock-Jones DS, Kaufmann P. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. III. Changes in complicated pregnancies. *Placenta* 2004; 25(2-3):127–139.
38. Hung T-H, Burton GJ. Hypoxia and reoxygenation: A possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2006; 45(3):189–200.
39. Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom J. Rheological and Physiological Consequences of Conversion of the Maternal Spiral Arteries for Uteroplacental Blood Flow during Human Pregnancy. *Placenta* 2009; 30(6):473–482.
40. Ananth CV. Ischemic placental disease: a unifying concept for preeclampsia, intrauterine growth restriction, and placental abruption. *Semin Perinatol* 2014; 38(3):131–132.
41. Jena MK, Sharma NR, Petitt M, Maulik D, Nayak NR. Pathogenesis of Preeclampsia and Therapeutic Approaches Targeting the Placenta. *Biomolecules* 2020; 10(6):953.

42. Roth CJ, Haeussner E, Ruebelmann T, Koch FV, Schmitz C, Frank H-G et al. Dynamic modeling of uteroplacental blood flow in IUGR indicates vortices and elevated pressure in the intervillous space - a pilot study. *Sci Rep* 2017; 7:40771.
43. Ness RB, Sibai BM. Shared and disparate components of the pathophysiologies of fetal growth restriction and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195(1):40–49.
44. Villar J, Carroli G, Wojdyla D, Abalos E, Giordano D, Ba'aqeel H et al. Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194(4):921–931.
45. Häußner EM. Three-dimensional Microscopic Topology of the Human Placental Villous Tree Reveals Relationships with Placental Function in Health and Obstetric Disease [Dissertation] 2016.
46. Haeussner E, Schmitz C, Grynspan D, Edler von Koch F, Frank H-G. Syncytial nuclei accumulate at the villous surface in IUGR while proliferation is unchanged. *Placenta* 2017; 60:47–53.
47. Barapatre N, Haeussner E, Grynspan D, Schmitz C, Edler von Koch F, Frank H-G. The Density of Cell Nuclei at the Materno-Fetal Exchange Barrier is Sexually Dimorphic in Normal Placentas, but not in IUGR. *Sci Rep* 2019; 9(1):2359.
48. Barapatre N, Kampfer C, Henschen S, Schmitz C, Edler von Koch F, Frank H-G. Growth restricted placentas show severely reduced volume of villous components with perivascular myofibroblasts. *Placenta* 2021; 109:19–27.
49. Buehlmeyer A, Barapatre N, Schmitz C, Edler von Koch F, Haeussner E, Frank H-G. The volume of villi with γ -sm-actin positive perivascular cells correlates with placental weight and thickness. *Placenta* 2019; 85:24–31.
50. Sen DK, Kaufmann P, Schweikhart G. Classification of human placental villi. II. Morphometry. *Cell Tissue Res* 1979; 200(3):425–434.
51. Teasdale F. Histomorphometry of the human placenta in maternal preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152(1):25–31.
52. Mayhew T, Ohadike C, Baker P, Crocker I, Mitchell C, Ong S. Stereological Investigation of Placental Morphology in Pregnancies Complicated by Pre-

- eclampsia with and without Intrauterine Growth Restriction. *Placenta* 2003; 24(2-3):219–226.
53. Haeussner E, Schmitz C, Frank H-G, Edler von Koch F. Novel 3D light microscopic analysis of IUGR placentas points to a morphological correlate of compensated ischemic placental disease in humans. *Sci Rep* 2016; 6:24004.
54. Clifton VL. Review: Sex and the human placenta: mediating differential strategies of fetal growth and survival. *Placenta* 2010; 31 Suppl A:33–39.
55. Vatten LJ, Skjaerven R. Offspring sex and pregnancy outcome by length of gestation. *Early Hum Dev* 2004; 76(1):47–54.
56. Almog B, Shehata F, Aljabri S, Levin I, Shalom-Paz E, Shrim A. Placenta weight percentile curves for singleton and twins deliveries. *Placenta* 2011; 32(1):58–62.
57. Burton GJ, Fowden AL, Thornburg KL. Placental Origins of Chronic Disease. *Physiol Rev* 2016; 96(4):1509–1565.
58. Mayhew TM, Jenkins H, Todd B, Clifton VL. Maternal asthma and placental morphometry: effects of severity, treatment and fetal sex. *Placenta* 2008; 29(4):366–373.
59. Buckberry S, Bianco-Miotto T, Bent SJ, Dekker GA, Roberts CT. Integrative transcriptome meta-analysis reveals widespread sex-biased gene expression at the human fetal-maternal interface. *Mol Hum Reprod* 2014; 20(8):810–819.
60. Gonzalez TL, Sun T, Koeppel AF, Lee B, Wang ET, Farber CR et al. Sex differences in the late first trimester human placenta transcriptome. *Biol Sex Differ* 2018; 9(1):4.
61. Sood R, Zehnder JL, Druzin ML, Brown PO. Gene expression patterns in human placenta. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2006; 103(14):5478–5483.
62. Boyd JD, Hamilton WJ. General Description of Specimens. In: Boyd JD, Hamilton WJ, Hrsg. *The Human Placenta: By J.D. Boyd and W.J. Hamilton*. Cambridge: Heffer; 1970. 78–113.
63. Barker DJP, Eriksson JG, Kajantie E, Alwasel SH, Fall CHD, Roseboom TJ et al. The maternal and placental origins of chronic disease. In: Burton G, Barker D,

- Moffett A, Thornburg K, Hrsg. The Placenta and Human Developmental Programming: Cambridge University Press; 2011. 5–16.
64. Mayhew TM. Stereology and the placenta: where's the point? -- a review. *Placenta* 2006; 27 Suppl A:17–25.
 65. Haeussner E, Schmitz C, Koch F von, Frank H-G. Birth weight correlates with size but not shape of the normal human placenta. *Placenta* 2013; 34(7):574–582.
 66. Lahti-Pulkkinen M, Cudmore MJ, Haeussner E, Schmitz C, Pesonen A-K, Hämäläinen E et al. Placental Morphology Is Associated with Maternal Depressive Symptoms during Pregnancy and Toddler Psychiatric Problems. *Sci Rep* 2018; 8(1):791.
 67. Bühlmeyer A. Stereologische Volumenbestimmung immunhistochemisch differenzierter Strukturbestandteile der menschlichen Plazenta [Dissertation] 2018.
 68. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing: R Foundation for Statistical Computing; 2013.
 69. Patil I. Visualizations with statistical details: The 'ggstatsplot' approach. *JOSS* 2021; 6(61):31–67.
 70. Mair P, Wilcox R. Robust statistical methods in R using the WRS2 package. *Behav Res Methods* 2020; 52(2):464–488.
 71. Wilcox RR. Introduction to robust estimation and hypothesis testing. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier Acad. Press; 2012.
 72. Yuen KK. The Two-Sample Trimmed t for Unequal Population Variances. *Biometrika* 1974; 61(1):165–170.
 73. Mayhew TM. Turnover of human villous trophoblast in normal pregnancy: what do we know and what do we need to know? *Placenta* 2014; 35(4):229–240.
 74. Fogarty NME, Ferguson-Smith AC, Burton GJ. Syncytial knots (Tenney-Parker changes) in the human placenta: Evidence of loss of transcriptional activity and oxidative damage. *Am J Pathol* 2013; 183(1):144–152.
 75. Barapatre N, Hansen L, Kampfer C, Rübelmann T, Schmitz C, Koch F von et al. Trophoblast proliferation is higher in female than in male preeclamptic placentas. *Placenta* 2024; 158:310–317.

76. Sun C, Groom KM, Oyston C, Chamley LW, Clark AR, James JL. The placenta in fetal growth restriction: What is going wrong? *Placenta* 2020; 96:10–18.
77. Calvert SJ, Longtine MS, Cotter S, Jones CJP, Sibley CP, Aplin JD et al. Studies of the dynamics of nuclear clustering in human syncytiotrophoblast. *Reproduction* 2016; 151(6):657–671.
78. Eskild A, Romundstad PR, Vatten LJ. Placental weight and birthweight: does the association differ between pregnancies with and without preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol* 2009; 201(6):595.e1-5.
79. ATTWOOD HD, PARK WW. Embolism to the lungs by trophoblast. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1961; 68:611–617.
80. Gathiram P, Moodley J. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovasc J Afr* 2016; 27(2):71–78.
81. Phipps EA, Thadhani R, Benzing T, Karumanchi SA. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. *Nat Rev Nephrol* 2019; 15(5):275–289.
82. Staff AC, Redman CWG. IFPA Award in Placentology Lecture: Preeclampsia, the decidua battleground and future maternal cardiovascular disease. *Placenta* 2014; 35:26–31.
83. Askelund KJ, Chamley LW. Trophoblast deportation part I: review of the evidence demonstrating trophoblast shedding and deportation during human pregnancy. *Placenta* 2011; 32(10):716–723.
84. Lapaire O, Holzgreve W, Oosterwijk JC, Brinkhaus R, Bianchi DW. Georg Schmorl on trophoblasts in the maternal circulation. *Placenta* 2007; 28(1):1–5.
85. Pantham P, Askelund KJ, Chamley LW. Trophoblast deportation part II: a review of the maternal consequences of trophoblast deportation. *Placenta* 2011; 32(10):724–731.
86. Chamley LW, Chen Q, Ding J, Stone PR, Abumaree M. Trophoblast deportation: just a waste disposal system or antigen sharing? *Journal of Reproductive Immunology* 2011; 88(2):99–105.
87. Abumaree MH, Stone PR, Chamley LW. An in vitro model of human placental trophoblast deportation/shedding. *Mol Hum Reprod* 2006; 12(11):687–694.

88. Huppertz B, Kingdom JCP. Apoptosis in the trophoblast—role of apoptosis in placental morphogenesis. *J Soc Gynecol Investig* 2004; 11(6):353–362.
89. Ahn KH, Lee JH, Cho GJ, Hong S-C, Oh M-J, Kim H-J. Placental thickness-to-estimated foetal weight ratios and small-for-gestational-age infants at delivery. *J Obstet Gynaecol* 2017; 37(7):883–887.
90. Vachon-Marceau C, Demers S, Markey S, Okun N, Girard M, Kingdom J et al. First-trimester placental thickness and the risk of preeclampsia or SGA. *Placenta* 2017; 57:123–128.
91. Dahlstrøm B, Romundstad P, Øian P, Vatten LJ, Eskild A. Placenta weight in pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87(6):608–611.
92. Schalekamp-Timmermans S, Arends LR, Alsaker E, Chappell L, Hansson S, Harsem NK et al. Fetal sex-specific differences in gestational age at delivery in pre-eclampsia: a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2017; 46(2):632–642.
93. Muralimanoharan S, Maloyan A, Myatt L. Evidence of sexual dimorphism in the placental function with severe preeclampsia. *Placenta* 2013; 34(12):1183–1189.
94. Verburg PE, Tucker G, Scheil W, Erwich JJHM, Dekker GA, Roberts CT. Sexual Dimorphism in Adverse Pregnancy Outcomes - A Retrospective Australian Population Study 1981-2011. *PLoS One* 2016; 11(7):1–17.
95. Taylor BD, Ness RB, Klebanoff MA, Tang G, Roberts JM, Hougaard DM et al. The impact of female fetal sex on preeclampsia and the maternal immune milieu. *Pregnancy Hypertension* 2018; 12:53–57.
96. Broere-Brown ZA, Schalekamp-Timmermans S, Hofman A, Jaddoe V, Steegers E. Fetal sex dependency of maternal vascular adaptation to pregnancy: a prospective population-based cohort study. *BJOG* 2016; 123(7):1087–1095.
97. Stark MJ, Clifton VL, Wright IMR. Neonates born to mothers with preeclampsia exhibit sex-specific alterations in microvascular function. *Pediatr Res* 2009; 65(3):292–295.
98. Stark MJ, Dierkx L, Clifton VL, Wright IMR. Alterations in the maternal peripheral microvascular response in pregnancies complicated by preeclampsia and the impact of fetal sex. *J Soc Gynecol Investig* 2006; 13(8):573–578.

99. Akutagawa O, Nishi H, Kyo S, Higuma C, Inoue M, Isaka K. Early growth response-1 mediates up-regulation of telomerase in placenta. *Placenta* 2007; 28(8-9):920–927.
100. Sathishkumar K, Balakrishnan M, Chinnathambi V, Chauhan M, Hankins GDV, Yallampalli C. Fetal sex-related dysregulation in testosterone production and their receptor expression in the human placenta with preeclampsia. *J Perinatol* 2012; 32(5):328–335.
101. Steier J, Ulstein M, Myking OL. Human chorionic gonadotropin and testosterone in normal and preeclamptic pregnancies in relation to fetal sex. *Obstetrics & Gynecology* 2002; 100(3):552–556.
102. Meakin AS, Clifton VL. Review: Understanding the role of androgens and placental AR variants: Insight into steroid-dependent fetal-placental growth and development. *Placenta* 2019; 84:63–68.
103. Kellner U, Frahm SO, Mawrin C, Krams M, Schüller S. *Kurzlehrbuch Pathologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019.
104. Burton GJ, Yung H-W, Cindrova-Davies T, Charnock-Jones DS. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta* 2009; 30 Suppl A:43–48.
105. Mayhew TM, Wijesekara J, Baker PN, Ong SS. Morphometric evidence that villous development and fetoplacental angiogenesis are compromised by intrauterine growth restriction but not by pre-eclampsia. *Placenta* 2004; 25(10):829–833.
106. Mayhew TM. The new stereological methods for interpreting functional morphology from slices of cells and organs. *Exp Physiol* 1991; 76(5):639–665.
107. Haeussner E, Aschauer B, Burton GJ, Huppertz B, Edler von Koch F, Müller-Starck J et al. Does 2D-Histologic identification of villous types of human placentas at birth enable sensitive and reliable interpretation of 3D structure? *Placenta* 2015; 36(12):1425–1432.
108. Reed MG, Howard CV, Yanés GS de. One-stop stereology: the estimation of 3D parameters using isotropic rulers. *J Microsc* 2010; 239(1):54–65.

109. Chaemsathong P, Sahota DS, Poon LC. First trimester preeclampsia screening and prediction. *Am J Obstet Gynecol* 2022; 226:S1071-S1097.e2.
110. Roberge S, Bujold E, Nicolaides KH. Aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol* 2018; 218(3):287-293.e1.
111. Rolnik DL, Wright D, Poon LC, O'Gorman N, Syngelaki A, Paco Matallana C de et al. Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. *N Engl J Med* 2017; 377(7):613–622.
112. Verlohren S, Brennecke SP, Galindo A, Karumanchi SA, Mirkovic LB, Schlembach D et al. Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PIGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia. *Pregnancy Hypertension* 2022; 27:42–50.
113. Borre M de, Che H, Yu Q, Lannoo L, Ridder K de, Vancoillie L et al. Cell-free DNA methylome analysis for early preeclampsia prediction. *Nat Med* 2023; 29(9):2206–2215.
114. Kaitu'u-Lino TJ, Bartho LA, Tong S. Using the methylome to predict preeclampsia. *Nat Med* 2023; 29(9):2177–2178.
115. Yang X, Wong MPM, Ng RK. Aberrant DNA Methylation in Acute Myeloid Leukemia and Its Clinical Implications. *Int J Mol Sci* 2019; 20(18):4576.
116. Honigberg MC, Truong B, Khan RR, Xiao B, Bhatta L, Vy HMT et al. Polygenic prediction of preeclampsia and gestational hypertension. *Nat Med* 2023; 29(6):1540–1549.

Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Hans-Georg Frank für die fachliche, wissenschaftliche und persönliche Betreuung sowie für die Bereitstellung des Themas danken. Keine Frage war zu viel und die Begeisterung für seine Arbeit als Wissenschaftler hat mich inspiriert und war oft ansteckend.

Des Weiteren geht ein großes Dankeschön an das gesamte Team des Lehrstuhls II der Anatomischen Anstalt der LMU München unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Christoph Schmitz. Ich war gerne ein Teil des Teams und habe die freundliche Arbeitsatmosphäre, die Gespräche auf dem Flur und die offene Willkommenskultur stets sehr geschätzt.

Meiner Betreuerin Dr. Eva Pfaff danke ich für die Betreuung während des experimentellen Teils der Dissertation und für ihre motivierenden Worte gerade am Anfang. Meinem Betreuer Dr. Nirav Barapatre möchte ich Dank für die Betreuung und sein Engagement während der Zeit des analytischen Teils und des Schreibens zu sprechen.

Herzlichen Dank an Astrid Baltruschat, Frauke Paschoud, Barbara Mosler, Sabine Tost und Beate Aschauer für die Unterstützung im Labor und am Mikroskop. Euer Beitrag hat maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Mein ausdrücklicher Dank gilt den Müttern, die ihre Plazenten für diese wissenschaftlichen Studien zur Verfügung gestellt haben, sowie den Pflegekräften, Hebammen, Ärzten und Ärztinnen des Kreißsaals der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe am Klinikum Dritter Orden unter der Leitung von Herrn Dr. Franz Edler von Koch für ihre engagierte Arbeit.

Danke an die Korrekturleserinnen Beate Aschauer und Alma Borchert.

Zuallerletzt möchte ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre Begleitung auf dem Weg dieser Dissertation, der aufgrund unvorhersehbarer Schicksalsschläge durchaus turbulent war, danken. Ein besonderer Dank gilt meinem Mann Nils und seinem treuen Sony Vaio Laptop, die immer an mich, mein Überleben und insbesondere an meine mathematischen sowie technischen Fähigkeiten geglaubt haben.

**Eidesstattliche Versicherung**

Hansen, Lea Simone

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Plazentamorphologie bei Präeklampsie

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 01.12.2025

Ort, Datum

Lea Hansen

Unterschrift Lea Simone Hansen

**Erklärung zur Übereinstimmung der gebundenen Ausgabe der Dissertation
mit der elektronischen Fassung**

Hansen, Lea Simone

Name, Vorname

Hiermit erkläre ich, dass die elektronische Version der eingereichten Dissertation mit dem Titel:

Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Plazentamorphologie bei Präeklampsie

in Inhalt und Formatierung mit den gedruckten und gebundenen Exemplaren übereinstimmt.

München, 01.12.2025

Ort, Datum

Lea Hansen

Unterschrift Lea Simone Hansen

Publikationsliste

Hansen L, Barapatre N, Kampfer C, Henschen S, Koch F von, Schmitz C, Frank H-G
Villous Trees in PE and FGR are Altered in Diverging, Sexually Dimorphic and
Syndrome-Specific Patterns, Poster 41, Poster presentation at IFPA 2023 Rotorua,
04.09.2023 - 08.09.2023

Barapatre N, Hansen L, Kampfer C, Rübelmann T, Schmitz C, Koch F von et al.
Trophoblast proliferation is higher in female than in male preeclamptic placentas.
Placenta 2024; 158:310–317.