

Aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Universität zu Köln
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. J. Dötsch

**Der Einfluss von maternaler Adipositas und
Gestationsdiabetes auf systemische Inflammation
und placentare Proteine in Zell-Zell-Verbindungen.
Eine klinisch-experimentelle Untersuchung an
humanen Blut- und Plazentaprobe**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Franziska Sophie Neu
aus Gummersbach

promoviert am 27.02.2024

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. J. Dötsch
2. Gutachterin: Professorin Dr. med. G. Rahimi

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.¹

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Prof. Dr. med. Jörg Dötsch
Dr. med. Eva-Maria Turnwald
Dr. rer. nat. Sarah Appel
Maria Wohlfarth
Dr. nat. med. Tobias Kretschmer
Prof. Dr. Annette Müller
Dr. rer. medic. Hildegard Christ

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die in dieser Arbeit verwendeten humanen Plazentaprobe wurden zu gleichen Teilen durch mich und Frau Marie Dassios beschafft und für die durchgeführten Versuche präpariert und asserviert.

Die Aufklärung der Patientinnen zur Einholung des Einverständnisses zur Verwendung der Plazenta erfolgte ebenfalls zu gleichen Teilen durch mich und Frau Marie Dassios. Angeleitet und unterstützt wurden wir hierbei durch Frau Dr. med. Eva-Maria Turnwald und Frau Dr. rer. nat. Sarah Appel. Von Ihnen wurde auch die verwendete Aufklärungsschrift verfasst.

Der dieser Arbeit zugrunde liegende Datensatz wurde auf Grundlage eines Fragebogens, der Mutterpässe und klinikinternen Berichten durch mich und Frau Marie Dassios zu gleichen Teilen erstellt. Unterstützung erhielten wir hierbei ebenfalls durch Frau Dr. med. Eva-Maria Turnwald und Frau Dr. rer. nat. Sarah Appel.

Die in dieser Arbeit verwendeten Blutproben wurden durch das medizinische Personal im Kreissaal der Uniklinik Köln gewonnen. Die Analyse der Blutproben wurde im Zentrallabor der Uniklinik Köln durchgeführt.

Die in dieser Arbeit angegebenen Experimente habe ich nach entsprechender Anleitung durch Frau Maria Wohlfarth selbst ausgeführt.

Die in dieser Arbeit vorliegenden statistischen Auswertungen wurden von mir mit Hilfe des Programms SPSS durchgeführt. Beratende Unterstützung erhielt ich hierbei von Frau Dr. rer. medic. Hildegard Christ vom Institut für Medizinische Statistik und Bioinformatik der Universität zu Köln.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 27.02.2024

Danksagung

Danken möchte ich von Herzen allen Personen, die mich bei der Erstellung dieser Dissertationsschrift unterstützt haben. Dazu zählen meine beiden Betreuerinnen Frau Dr. med. Eva-Maria Turnwald sowie Frau Dr. rer. nat. Sarah Appel, die mir stets mit offenem Ohr und gutem Rat zur Seite standen. Genauso gilt mein Dank Frau Maria Wohlfarth, die mich geduldig in die durchgeführten Versuche einarbeitete und stets bei weiteren Fragen und Problemen als Ansprechpartnerin zur Verfügung stand.

Ein weiterer besonderer Dank gilt dem gesamten Team des Kreißsaals der Uniklinik Köln, ohne deren tatkräftige organisatorische Mithilfe die Durchführung der Studien nicht möglich gewesen wäre. Namentlich erwähnen möchte ich den Leiter des Kreißsaals, Herrn Dr. Berthold Grüttner und Johanna Weitekamp, die stellvertretende Teamleitung des Kreißsaals und der Schwangerenambulanz.

Zu guter Letzt danke ich meiner damaligen Kommilitonin und nun ärztlichen Kollegin Marie Dassios für die ausgesprochen gute und kooperative Zusammenarbeit im Rahmen der Studie.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1. Zusammenfassung	8
2. Einleitung	10
2.1. Adipositas in der Schwangerschaft	10
2.1.1. Adipositas: Prävalenz und Problematik	10
2.1.2. Gestationsdiabetes	11
2.1.3. Fetale Risiken	12
2.2. Die Plazenta bei Gestationsdiabetes und Adipositas in der Schwangerschaft	13
2.2.1. Funktion und Aufbau der humanen Plazenta	13
2.2.2. Inflammation	14
2.2.3. Vaskularisierung	15
2.2.4. Cadherine und Zellverbindungen in der Plazenta	17
2.3. Fragestellung	20
3. Material und Methoden	21
3.1. Humane Kohorte	21
3.1.1. Studiendesign	21
3.1.2. Aufklärung und Einverständniserklärung	23
3.1.3. Anamnese und Erhebung klinischer Parameter	24
3.1.4. Plazentapräparation	24
3.2. Histologische Methoden	25
3.2.1. Vorbereitung der Gewebeproben für die Immunhistologie	25
3.2.2. Immunhistologie	26
3.3. Bestimmung von Entzündungs- und Blutzuckerwerten	27
3.4. Proteinbiochemische Methoden	27
3.4.1. Proteinisolation	27
3.4.2. Proteinkonzentrationsbestimmung	28
3.4.3. SDS-PAGE und Western Blot	28
3.5. Statistische Analysen	29
4. Ergebnisse	30
4.1. Statistische Auswertung	30
4.1.1. Maternale Daten	30
4.1.2. Angaben zu den Neugeborenen	34
4.1.3. Plazentamorphologie	34

4.1.4.	HbA1c und Nüchtern-Blutzucker	39
4.1.5.	Entzündungswerte in maternalem und fetalem Plasma	40
4.2.	Untersuchung von AJ-assoziierten Transmembranproteinen in den Plazenten und deren Korrelation mit Entzündungsmarkern im maternalen und fetalen Plasma sowie dem fetalen Geburtsgewicht	43
4.2.1.	E-Cadherin	43
4.2.2.	P-Cadherin	46
4.2.3.	VE-Cadherin	47
4.2.4.	CD31	50
4.2.5.	β -Catenin	52
5.	Diskussion	55
5.1.	Der Einfluss von maternalem Übergewicht und Gestationsdiabetes auf die plazentare E-Cadherin-Proteinmenge	56
5.2.	Die plazentare VE-Cadherin Proteinmenge unter Gestationsdiabetes	57
5.3.	Keine Veränderungen von plazentarem P-Cadherin, CD 31 und β -Catenin in Abhängigkeit von maternaler Adipositas oder Gestationsdiabetes	58
5.4.	Inflammation in maternalem und fetalem Blut unter maternalem Übergewicht bzw. maternaler Adipositas mit und ohne Gestationsdiabetes	58
5.5.	Korrelation von Inflammation und AJ-assoziierten plazentaren Proteinen	60
5.6.	Zusammenfassung	61
5.7.	Stärken und Schwächen der Studie	61
6.	Literaturverzeichnis	62
7.	Anhang	73
7.1.	Abbildungsverzeichnis	73
7.2.	Tabellenverzeichnis	73
7.3.	Chemikalien	74
7.4.	Material	76
7.5.	Puffer	76
7.6.	Geräte	78
7.7.	Software	79

Abkürzungsverzeichnis

Abb	Abbildung
BCA	Bicinchoninsäure
BSA	Bovines Serumalbumin
BMI	Body Mass Index (Körpermasseindex)
CD	Cluster of Differentiation
CRP	C-Reaktives Protein
DAB	3,3'-Diamino-Benzidin
E-Cadherin	Epithelial Cadherin
ECL	Enhanced Chemiluminescence
EDTA	Ethylendiamintetracetat
GDM	Gestationsdiabetes Mellitus
HbA1c	Hämoglobin A1c
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HPL	Humanes Placentalactogen
IL	Interleukin
IUGR	Intrauterine Growth Restriction (Intrauterine Wachstumsretardierung)
LGA	Large for Gestational Age
MCP	Makrophagen Chemoattraktor Protein
mRNA	Messenger Ribonucleid Acid (Boten-Ribonukleinsäure)
NF- κ B	Nuklearer Faktor 'kappa-leicht-Ketten-Verstärker' aktivierter B-Zellen
oGTT	Orales Glucosetoleranztest
PBS	Phosphat Buffered Saline (Phosphatgepufferte Salzlösung)
P-Cadherin	Placental Cadherin
PGF	Placental Growth Factor (Plazentarer Wachstumsfaktor)
PGH	Placental Growth Hormon (Plazentares Wachstumshormon)
RIPA	Radioimmunoprecipitation Assay (Radioimmunpräzipitationsprobe)
SDS-PAGE	Sodium-Dodecyl-Sulfat Polyacrylamid Gelelektrophorese
sFLT	soluble Fms-like Thyrosinkinase (lösliche fms-ähnliche Thyrosinkinase)
SGA	Small for Gestational Age
SMA	Smooth Muscle Actin (Actin der glatten Muskulatur)
SSW	Schwangerschaftswoche
TBS-T	Tris Buffered Saline with Tween20 (Trisgepufferte Salzlösung mit Tween 20)
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor alpha
USA	United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika)
VE-Cadherin	Vaskuläres Endotheliales Cadherin
VE-H ₂ O	voll entsalztes Wasser
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Vaskulärer Endothelialer Wachstumsfaktor)
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
Wnt	Wingless-INT-Gen

1. Zusammenfassung

Mit weltweit seit Jahren steigenden Prävalenzen von Übergewicht (Body Mass Index (BMI) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$) und Adipositas (BMI $\geq 30 \text{ kg/m}^2$) in sämtlichen Altersstufen nimmt folglich auch die Zahl an Frauen im gebärfähigen Alter mit einem erhöhten BMI kontinuierlich zu und Übergewicht und Adipositas in der Schwangerschaft werden zu einem weit verbreiteten Problem.

Betroffene Frauen und deren ungeborene Kinder sind einem erhöhten Risiko für geburtshilfliche Komplikationen ausgesetzt. Im Vergleich zu normalgewichtigen Schwangeren entwickeln sie häufiger einen Gestationsdiabetes (GDM) und eine schwangerschaftsassozierte Hypertonie bis hin zur Präeklampsie. Bei Vorliegen eines GDM werden die Kinder häufig makrosom und müssen per Kaiserschnitt entbunden werden, um keine Geburtsverletzungen zu erleiden. Auch Tot- und Frühgeburten treten bei einem erhöhten maternalen BMI mit größerer Wahrscheinlichkeit auf.

Die Plazenta dient der Versorgung des heranwachsenden Kindes mit Sauerstoff und Nährstoffen, gleichzeitig sollen schädliche Faktoren möglichst nicht in den fetalen Kreislauf gelangen. Für diese Aufgaben ist eine funktionierende Plazentaschranke essentiell. Die Entstehung von Komplikationen in der Schwangerschaft wie ein GDM oder eine Präeklampsie werden mit einer plazentaren Dysfunktion in Verbindung gebracht. Bei maternalem Übergewicht und Vorliegen eines GDM kann es zu einem verstärkten inflammatorischen Milieu kommen, sowohl im maternalen Kreislauf, als auch in der Plazenta selbst, welches beispielsweise die Zell-Zell-Kontakte (Adherens Junctions, AJ) der an der Plazentaschranke beteiligten Zellen beeinträchtigen kann. An AJ beteiligte Proteine sind je nach Zelltyp verschiedene Transmembranproteine wie Cadherine und CD31 (Cluster of differentiation 31), sowie β -Catenin, welches die Cadherine mit dem Zytoskelett verbindet. Für einige dieser Proteine konnte bei maternalem Übergewicht bereits eine verringerte Proteinmenge in der Plazenta nachgewiesen werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, den Effekt von maternalem Übergewicht und GDM auf ausgewählte Proteine, die an Zell-Zell-Verbindungen innerhalb der Plazenta und somit dem Aufbau der Plazentaschranke beteiligt sind, genauer zu entschlüsseln. Auch der mögliche Einfluss des proinflammatorischen Milieus auf die Proteinmengen von Transmembranproteinen und β -Catenin wurde untersucht. Dafür wurden in humanen Plazentaprobe von Frauen mit Normalgewicht, Übergewicht und Adipositas mit und ohne GDM, welche nach elektiven Kaiserschnittgeburten entnommen wurden, die Proteinmengen von Epithelial Cadherin (E-Cadherin), Placental Cadherin (P-Cadherin), Vascular-Endothelial Cadherin (VE-Cadherin), CD31 und β -Catenin bestimmt. Außerdem wurden die inflammatorischen Marker C-reaktives Protein (CRP) und Interleukin-6 (IL-6) in fetalem und maternalem Plasma gemessen.

Wir konnten feststellen, dass bei alleinigem maternalem Übergewicht signifikant mehr E-Cadherin in villösen Abschnitten der Plazenten nachzuweisen war als in Plazenten normalgewichtiger Frauen. Dagegen war bei zusätzlichem Vorliegen eines GDM bei maternalem Übergewicht signifikant weniger E-Cadherin in den villösen Abschnitten der Plazenten im Vergleich zu den Plazenten von sowohl normalgewichtigen als auch übergewichtigen und adipösen Frauen ohne GDM zu finden. Eine Beeinträchtigung der plazentaren Barrierefunktion durch die detektierten Veränderungen ist denkbar, bedarf aber weiterer Untersuchungen. Die anderen untersuchten Proteine zeigten keine signifikanten Unterschiede in den Gruppenvergleichen. Eine Korrelation zeigte sich zwischen der plazentaren Proteinmenge von VE-Cadherin beziehungsweise β -Catenin und der Menge an IL-6 im fetalen Plasma: Je höher die nachgewiesene Proteinmenge in den villösen Abschnitten der Plazenten, desto weniger IL-6 war im fetalen Kreislauf vorhanden. So schützt die Plazenta das ungeborene Kind möglicherweise vor schädlichen Einflüssen.

2. Einleitung

2.1. Adipositas in der Schwangerschaft

2.1.1. Adipositas: Prävalenz und Problematik

Übergewicht und Adipositas werden zunehmend zu einem globalen Problem. ^{Übersicht in 1} Von 1980 bis 2013 ist der Anteil an übergewichtigen und adipösen Frauen von 29,8% auf 38,0% gestiegen, der Anteil bei Männern von 28,8% auf 36,9%. Betroffen sind dabei nicht nur Industriestaaten, sondern ebenso Entwicklungsländer.² Die National Health and Nutrition Examination Survey hat in den USA einen Anstieg von Adipositas sowohl bei Jugendlichen als auch bei Erwachsenen aufgezeigt.³ Schaut man sich Zahlen aus Deutschland an, so stellt man fest, dass insgesamt 54% aller Frauen und Männer entweder übergewichtig oder adipös sind. Dabei zeigt sich ein Anstieg des durchschnittlichen Body Mass Index (BMI) mit steigendem Alter, sowie mit abnehmendem Bildungsniveau.⁴ Jedoch ist auch bei Menschen unter 35 Jahren in den letzten Jahren ein Anstieg der Adipositasprävalenz zu verzeichnen.^{4,5} So hatten auch in den USA von 2007 bis 2008 34% der Frauen im gebärfähigen Alter (20-39 Jahre) einen BMI über 30 kg/m², während es 8 Jahre zuvor noch 28,4 % waren.⁶

Übergewicht und Adipositas werden in den meisten Fällen mit Hilfe des BMI gemessen und angegeben. Dieser berechnet sich aus dem Körpergewicht in Kilogramm geteilt durch das Quadrat der Körpergröße in Metern (kg/m²). Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert Normal- bzw. Übergewicht folgendermaßen: Ein BMI von 18,5 bis 24,9 kg/m² gilt für Erwachsene als Normalgewicht. Von Übergewicht spricht man bei einem BMI von 25 bis 29,9 kg/m². Ein BMI über 30 kg/m² wird als Adipositas bezeichnet.⁷

Problematisch sind Übergewicht und Adipositas vor allem deshalb, weil sie mit zahlreichen Komorbiditäten verbunden sind. Neben psychischen Beeinträchtigungen wie Depressionen oder Angststörungen durch Diskriminierung aufgrund des Körpergewichtes⁸ zählen dazu vor allem Bluthochdruck und Diabetes mellitus Typ 2. Darüber hinaus stellt ein erhöhter BMI einen Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen und bestimmte Krebsarten (z.B. Kolorektal-, Endometrium- oder Nierenkarzinom) dar. ^{Übersicht in 9}

Auch in der Schwangerschaft haben Übergewicht und Adipositas eine zunehmende Bedeutung, denn laut einer Studie aus Wisconsin wiesen über die Hälfte der Frauen vor Eintritt in die Schwangerschaft bereits einen erhöhten BMI auf (26,3% BMI >25 kg/m²; 27,8% BMI>30kg/m²).¹⁰

In zahlreichen Studien ist belegt, dass bei mütterlichem Übergewicht bzw. mütterlicher Adipositas, welche bereits vor der Schwangerschaft besteht, das Risiko für zahlreiche schwangerschaftsassozierte und geburtshilfliche Komplikationen für Mutter und Kind erhöht ist. Dazu zählen auf Seiten der Mutter die Entwicklung eines Gestationsdiabetes (GDM), einer schwangerschaftsassozierten Hypertonie¹¹ sowie einer Präeklampsie.^{11, 12} Das Risiko dieser ernstzunehmenden Schwangerschaftskomplikation mit schweren möglichen Folgen für Mutter

und Kind ^{Übersicht in 13} zeigt sich bei einem maternalen BMI von 30 kg/m² im Vergleich zu einem BMI von 21 kg/m² fast verdreifacht.¹² Das Kind wird darüber hinaus durch erhöhte Frühgeburts- und sogar Todgeburtsraten gefährdet. ^{Übersicht in 14}

Nicht zu vernachlässigen ist die Tatsache, dass die Kinder übergewichtiger Mütter ein erhöhtes Risiko tragen, selbst einmal übergewichtig oder adipös zu sein: Eine Studie aus dem Jahr 2015 fand heraus, dass mit steigendem mütterlichen BMI vor der Schwangerschaft auch der Körperfettanteil des Neugeborenen, sowie sein gesamtes Geburtsgewicht ansteigt.¹⁵ Kinder mit einem erhöhten Geburtsgewicht zeigen wiederum eine höhere Prävalenz für Übergewicht im Kindergarten- und Schulalter.¹⁶

2.1.2. Gestationsdiabetes

Als GDM bezeichnet man eine Glukoseintoleranz, die sich während der Schwangerschaft entwickelt. ^{Übersicht in 17;18} Da die Unterscheidung zwischen einer zuvor unentdeckten Diabeteserkrankung und einer tatsächlich in der Schwangerschaft entstandenen Glukoseintoleranz schwierig sein kann, empfiehlt die American Diabetes Association vor dem Hintergrund der steigenden Prävalenz von Typ-2-Diabetes, alle Frauen mit Risikoprofil schon in der frühen Schwangerschaft auf eben diesen zu testen. Hierfür werden die Bestimmung des Nüchternblutzuckers, des Hämoglobin A1c (HbA1c) oder die Durchführung eines oralen Glukosetoleranztests (oGTT) herangezogen. Fällt diese Vortestung nicht pathologisch aus, so wird zwischen der 24. und 28. Schwangerschaftswoche (SSW) der reguläre oGTT mit 75g Glukose zur Detektion eines möglichen GDM durchgeführt. Der Nüchternblutzucker sowie der Wert ein und zwei Stunden nach Aufnahme der Glukose werden bestimmt und bei Vorliegen eines Wertes oberhalb des Grenzwerts wird ein GDM diagnostiziert.¹⁸ Auch in Deutschland soll laut S3 Leitlinie zur Diagnostik eines GDM zwischen der 25.-28. SSW bevorzugt ein oGTT mit 75g Glukose eingesetzt werden. Auch ein 50g oGTT ist möglich, dieser sollte durch einen Nüchternblutzucker ergänzt werden. Je nach Höhe des Blutzuckers nach einer Stunde wird ein oGTT mit 75g angeschlossen.¹⁹ Bei Vorliegen eines GDM sollte laut Leitlinie 1-3 Monate nach der Geburt noch einmal getestet werden, ob sich die Glukosetoleranz wieder normalisiert hat.^{18, 19}

Während der Schwangerschaft kommt es durch die Ausschüttung verschiedener Hormone durch die Plazenta, darunter das Humane Plazenta Lactogen (HPL) und Plazentare Wachstumshormon (PGH), zu einer Insulinresistenz in der Leber, den Muskeln und dem Fettgewebe der Mutter. Hierdurch wird die Versorgung des Feten mit Glukose sichergestellt.²⁰ Eine ausbleibende kompensatorische Hyperinsulinämie der Mutter wird als Ursache der Entstehung eines GDM angesehen. ^{Übersicht in 17, 20, 21} Die Insulinresistenz kann bei fortgeschrittenem maternalen Alter ^{Übersicht in 17} und einem erhöhten BMI ^{Übersicht in 17, 22} verstärkt auftreten. Weitere Risikofaktoren für die Entwicklung eines GDM sind mangelnde körperliche

Aktivität ^{Übersicht in 23}, das Vorliegen eines GDM in einer vorausgehenden Schwangerschaft ²⁴ sowie eine genetische Veranlagung. ^{Übersicht in 17, 25}

Ein GDM ist mit zahlreichen Risiken für Mutter und Kind behaftet. Die Kinder sind durch das Überangebot an Glukose und die konsekutiv vermehrte Insulinausschüttung häufiger makrosom. ^{26, 27} Damit einhergehend muss häufiger per Kaiserschnitt entbunden werden ²⁶, bei einer natürlichen Geburt besteht die Gefahr einer Geburtsverletzung. ²⁸ Darüber hinaus kann es postpartal zu einer fetalen Hypoglykämie kommen. ²⁶ Langfristig ist durch den GDM das kardiovaskuläre Risiko der Mutter erhöht, da betroffene Frauen häufiger Übergewicht, hypertensive Blutdruckwerte, eine Dyslipidämie oder eine Insulinresistenz bis hin zu einem Typ-2-Diabetes entwickeln. ^{Übersicht in 29} Der adäquaten Behandlung des GDM und der Normalisierung der hyperglykämischen Stoffwechsellage kommen daher eine enorme Bedeutung zu. In vielen Fällen sind eine moderate Restriktion der zugeführten Kalorien und regelmäßige körperliche Aktivität ausreichend. Kommt es hierdurch nicht zu einer Normoglykämie, kann mit Insulin behandelt werden. ^{Übersicht in 30} Eine weitere Möglichkeit kann das Medikament Metformin darstellen. Eine Einnahme während der Schwangerschaft hat sich bislang als sicher und der Insulintherapie als nicht unterlegen erwiesen. ^{Übersicht in 31}

2.1.3. Fetale Risiken

Maternales Übergewicht hat neben den genannten Schwangerschaftskomplikationen, die das Kind sekundär betreffen, auch direkte Auswirkungen auf den kindlichen Outcome. Hier sind vor allem ein pathologisches Geburtsgewicht des Kindes sowie das Vorkommen von Früh- und Fehlgeburten als mögliche Konsequenzen zu nennen.

Übergewichtige und adipöse Schwangere haben ein erhöhtes Risiko, sowohl makrosome Kinder als auch Kinder mit erhöhtem Geburtsgewicht zur Welt zu bringen. ^{Übersicht in 14, 32, 33} Von einer Makrosomie spricht man, wenn das Geburtsgewicht des Kindes mehr als 4000g beträgt. ^{34, 35} Alternativ kann zur Klassifizierung des Gewichtes bei der Geburt auch der Begriff „Large for gestational age“ (LGA) verwendet werden. Ein Neugeborenes, das bei der Geburt mehr wiegt als 90% der Kinder gleichen Alters, wird als LGA bezeichnet ^{Übersicht in 33}, der Begriff ist somit unabhängig vom Gestationsalter bei Geburt. ^{Übersicht in 36}

Neben maternalem Übergewicht stellt auch ein GDM einen weiteren Risikofaktor für ein erhöhtes Geburtsgewicht dar. ^{26, 27, Übersicht in 33} Die Kombination aus Diabetes und mütterlichem Übergewicht erhöht das Risiko einer Makrosomie zusätzlich, verglichen mit alleinigem maternalem Übergewicht. ²⁷

Schwangerschaften, in denen eine fetale Makrosomie auftritt, sind mit hohen Risiken für Mutter und Kind behaftet: Totgeburten treten bei einem Geburtsgewicht von mehr als 4500g häufiger auf und auch lebend geborene Kinder zeigen eine erhöhte neonatale Mortalität, beispielsweise aufgrund einer Asphyxie oder Infektionen. ²⁸ Darüber hinaus tragen die Neugeborenen von der

Geburt oft Verletzungen des Plexus brachialis oder der Clavicula durch eine Schulterdystokie davon. ^{Übersicht in 36} Makrosome Kinder werden daher häufig per Kaiserschnitt zur Welt gebracht^{28, 34}, was allerdings das Risiko für die Entwicklung von Atemwegsinfektionen und Asthma erhöht. ^{Übersicht in 37} Assoziiert mit einer fetalen Makrosomie kommt es außerdem häufiger zu Chorioamnionitiden, Dammrissen und postpartalen Blutungen.³⁵ Ebenfalls nicht zu vernachlässigen ist der Befund, dass makrosome Neugeborene im Vergleich zu Neugeborenen mit normalem Geburtsgewicht mit größerer Wahrscheinlichkeit auch in ihrem späteren Leben adipös werden.^{16, Übersicht in 32, 38}

Während in den meisten Studien einhergehend mit dem bei maternaler Adipositas erhöhten Risiko für eine fetale Makrosomie ein geringeres Risiko für ein Geburtsgewicht von weniger als 2500g beschrieben wird ^{Übersicht in 14, 32}, gibt es auch vereinzelt Studien, die Gegenzliches berichten. In einer rumänischen Studie kam es mit steigendem BMI der Mutter zu einer ansteigenden Rate an intrauterinen Wachstumsretentionen (IUGR).³⁹ Auch in einem Mausmodell brachten die übergewichtigen Muttertiere zunächst signifikant leichtere Nachkommen zur Welt, allerdings waren diese bereits 3 Wochen nach der Geburt schwerer als die Nachkommen der normalgewichtigen Muttertiere.⁴⁰

Maternales Übergewicht erhöht zudem das Risiko für eine Totgeburt ^{Übersicht in 14; 20, Übersicht in 22}, welche nicht nur bei einer Makrosomie²⁸, sondern auch bei einer fetalen Wachstumsrestriktion auftreten kann.⁴¹

Außerdem kommen die Kinder übergewichtiger Mütter häufiger zu früh auf die Welt. ^{Übersicht in 14, 22; 42} Vermehrt auftretende Fehbildungen stellen ein weiteres Risiko für das Neugeborene da und beeinträchtigen seinen Gesundheitszustand. ^{Übersicht in 14; 20, Übersicht in 22}

2.2. Die Plazenta bei Gestationsdiabetes und Adipositas in der Schwangerschaft

2.2.1. Funktion und Aufbau der humanen Plazenta

Die im Durchschnitt 500g schwere, reife humane Plazenta besteht aus der Basalplatte, welche der maternalen Dezidua zugewandt ist, sowie der Chorionplatte auf der fetalen Seite. Zwischen Basal- und Chorionplatte befindet sich der intervillöse Raum. Dieser wird von Zottenbäumen durchzogen, welche aus der Chorionplatte entspringen. Einige Zotten sind als Haftzotten mit der Basalplatte verwachsen, wodurch die Plazenta an der Dezidua verankert wird. Der intervillöse Raum wird ab der 10. SSW von mütterlichem Blut gefüllt und der Stoffaustausch zwischen maternalem und fetalem Kreislauf wird etabliert. Zuvor ernährt sich der Keim von Glykogen und Lipiden der Dezidua.

Die Plazenta bildet sich aus dem äußeren Teil der Blastozyste, dem Trophoblast. Der Trophoblast differenziert sich in Zytotrophoblast und Synzytiotrophoblast. Alle Zellen des Trophoblasten, die mit mütterlichem Gewebe in Kontakt kommen, fusionieren zu einem vielkernigen Zellverbund. Ab dem 9. Tag bilden sich in diesem Synzytium Lakunen aus, durch

welche die Zytotrophoblasten migrieren und somit zunächst Primär-, später Sekundär- und Tertiärzotten ausbilden. In den Haftzotten gibt es zudem Zytotrophoblasten, die durch den Synzytiotrophoblasten hindurch und bis in die Dezidua und das Myometrium vordringen. Man bezeichnet sie als extravillöse Trophoblasten. (aus: Lüllmann-Rauch R, Paulsen F. Taschenlehrbuch Histologie)⁴³ Die endovaskulären extravillösen Trophoblasten verankern als interstitielle Trophoblasten die Plazenta in Dezidua und Myometrium.⁴⁴

Der Stoffaustausch zwischen fetalem und maternalem Blut findet über die Plazentaschranke statt: Sie besteht aus dem Synzytiotrophoblast und dem Zytotrophoblast sowie Mesenchym, der Basallamina und dem Endothel der fetalen Kapillare. Ab der zweiten Hälfte der Schwangerschaft wird sie zunehmend dünner und die Diffusionsstrecke somit kürzer. Während Gase und hydrophobe Stoffe die Plazentaschranke passiv passieren, werden hydrophile Moleküle selektiv durch den Synzytiotrophoblasten geschleust. Für Aminosäuren und Glukose gibt es Transportproteine, die in der Plasmamembran des Synzytiotrophoblasten sitzen. Einige Arznei- oder Schadstoffe können mittels Export-Pumpen wieder hinaus in den intervillösen Raum transportiert werden.⁴³

2.2.2. Inflammation

Jede Schwangerschaft ist mit einer streng regulierten Entzündungsreaktion des mütterlichen Organismus verbunden. ^{Übersicht in 45, 46} Im Verlauf der Schwangerschaft nimmt die Sekretion von Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) durch plazentare Makrophagen stetig zu ⁴⁷ und auch im Serum schwangerer Frauen steigt die Konzentration von TNF- α mit zunehmendem Gestationsalter an.⁴⁸ Dies könnte einer verstärkten Immunabwehr am Ende der Schwangerschaft dienen.⁴⁷ Auch das Makrophagen-Chemoattraktor-Protein-1 (MCP-1) und das C-reaktive Protein (CRP) sind im Serum schwangerer Frauen erhöht. ^{Übersicht in 46; 49}

Adipositas setzt den Körper einer leichten, aber chronischen Entzündung, der sogenannten Metainflammation, aus. Durch übermäßige Kalorienzufuhr wird das an Volumen zunehmende Fettgewebe von Makrophagen infiltriert und es werden vermehrt proinflammatorische Mediatoren wie TNF- α und Interleukin-6 (IL-6) sezerniert. Dies wirkt sich auf den Glukose- und Lipidstoffwechsel aus und kann unter anderem zur Insulinresistenz führen. ^{Übersicht in 46, 50,51}

Bei gleichzeitigem Vorliegen einer Schwangerschaft und maternaler Adipositas scheinen sich die genannten Effekte zu addieren. Die Konzentrationen von IL-6 und CRP im Blut übergewichtiger Schwangerer sind im Vergleich zu normalgewichtigen Schwangeren nochmals erhöht. ^{Übersicht in 46; 48} Für TNF- α konnte dieser Zusammenhang nicht eindeutig gezeigt werden.⁵²

Auch in der Plazenta selbst wurde bei maternaler Adipositas ein verstärktes Entzündungsmilieu beschrieben. Die Plazenten adipöser Frauen weisen Ansammlungen von Makrophagen auf, die wiederum im Vergleich zu Makrophagen in den Plazenten

normalgewichtiger Frauen vermehrt IL-1 und -6 sowie TNF- α exprimieren.⁵³ Außerdem werden bei erhöhtem maternalen BMI die Gene für IL-1 β , IL-8 und MCP-1 in der Plazenta verstärkt exprimiert.⁵⁴ Ähnliche Ergebnisse konnten auch in Plazenten aus Schwangerschaften mit einem GDM gezeigt werden: Unabhängig vom maternalen BMI findet man hier in den Plazenten mehr CD68 (Cluster of differentiation 68) positive Makrophagen und eine erhöhte Proteinmenge von IL-6, IL-1 β , und TNF- α sowie eine vermehrte Transkription des Gens für IL-8.^{55, 56} Bei maternalem Übergewicht wiederum konnten keine veränderten mRNA (messenger Ribonucleic Acid)-Level von TNF- α und IL-6 in der Plazenta gefunden werden.⁵⁴

Eine Auswirkung dieser verstärkten Entzündung auf den Fetus im Sinne einer Erhöhung proinflammatorischer Faktoren im Nabelschnurblut konnte bisher nicht eindeutig nachgewiesen werden. ^{Übersicht in 46; 55, 57, 58} Dies kann mit der Plazentaschranke zusammenhängen, die beispielsweise von TNF- α nicht passiert werden kann.⁵⁹ Auch für Interleukine scheint die Plazentaschranke weitestgehend undurchlässig zu sein (aus: Egarter C, Friese K. Immunologische Diagnostik bei vorzeitigen Wehen)⁶⁰, insbesondere für IL-8 konnte dies nachgewiesen werden.⁶¹

Die Plazenta selbst wird durchaus durch die vermehrte Inflammation im maternalen System beeinflusst. TNF- α schränkt bei weiblichen Nachkommen die Funktion der Mitochondrien in den Trophoblasten im Sinne einer verminderten Zellatmung ein.⁶² Auch der Nährstofftransport der Plazenta wird durch Cytokine beeinflusst: IL-6 und TNF- α stimulieren die Aktivität des System A Transportproteins für Aminosäuren, was für eine Überernährung des Fetus mitverantwortlich sein könnte.⁶³ Ein Bezug zu den erhöhten Komplikationsraten bei adipösen Schwangeren ergibt sich außerdem aus der Beobachtung, dass TNF- α die Apoptose der villösen Trophoblasten induzieren kann⁶⁴ und, ebenso wie auch IL-1 β , zu vorzeitiger Wehentätigkeit führen kann.⁶⁵

Die Metainflammation bei maternaler Adipositas und GDM verändert somit die Umgebung des Fetus und kann sich auf dessen Entwicklung und den Verlauf der Schwangerschaft auswirken. Zu den genauen Mechanismen und vor allem der Rolle der Plazenta in diesem verstärkten Entzündungsmilieu bestehen allerdings noch viele Unklarheiten.

2.2.3. Vaskularisierung

Die Plazenta ist ein stark durchblutetes und vaskularisiertes Organ, da sie für den Stoffaustausch zwischen Mutter und Kind in der Schwangerschaft zuständig ist. ^{Übersicht in 66} Während des ersten Trimesters wird die uteroplazentare Zirkulation vollständig ausgebildet ^{Übersicht in 67; 68} und bis zum frühen zweiten Trimester nimmt die Anzahl der Kapillaren in den Plazentazotten sukzessiv zu.⁶⁹

Die Ausbildung der villösen Gefäße und damit auch die Funktion der Plazenta wird unter anderem durch den Vaskulären Endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) und den Plazentaren Wachstumsfaktor (PGF) beeinflusst. ^{Übersicht in 66} Sowohl die Konzentration von PGF im

maternalen Serum⁷⁰ als auch die Expression von VEGF in der Plazenta⁷¹ kann bei Komplikationen wie der Präeklampsie verändert sein. Schwangere, die eine Präeklampsie entwickelten, welche sich durch einen erhöhten Blutdruck ($\geq 140/90$ mmHg) und meist einer Nierenbeteiligung mit Proteinurie (≥ 300 mg/d) auszeichnet⁷², zeigten bereits in der frühen Schwangerschaft und vor Symptombeginn niedrigere PGF-Konzentrationen in Serum und Urin als Schwangere mit komplikationsfreiem Verlauf. ^{Übersicht in 70} Auch bei Frauen, die ein Small-for-Gestational-Age (SGA)-Kind (Geburtsgewicht < 10 .Perzentile) zur Welt brachten, waren zu Beginn der Schwangerschaft die PGF-Werte im Serum erniedrigt.⁷³

Neben der Vaskularisierung der Plazentazotten ist auch ein ausreichender Blutfluss zur Plazenta über die maternalen Spiralarterien unverzichtbar für eine adäquate Plazentafunktion. Dieser wird durch die Invasion von Trophoblasten in die Spiralarterien und deren Umbau in Gefäße mit niedrigem Widerstand erreicht. ^{Übersicht in 66, 74} Gelingt dieser Umbau nicht, wie im Falle einer Präeklampsie oder anderen Pathologien, die die Trophoblasteninvasion erschweren, kommt es zu einer beeinträchtigten Durchblutung der Plazenta. Dies führt unter anderem zu vermehrtem oxidativem Stress in den Endothelzellen, der das Wachstum neuer Kapillaren einschränkt und sogar vorhandene Kapillaren schädigen kann. Dadurch wird schließlich die Versorgung des ungeborenen Kindes beeinträchtigt, Wachstumsverzögerungen und fetale Hypoxie können die Folge sein.⁷⁵

Auch maternales Übergewicht hat einen Einfluss auf die Gefäße in der Plazenta: Bei übergewichtigen Ratten konnte ein unvollständiger Umbau der Spiralarterien beobachtet werden, da diese von mehr glatten Muskelzellen umgeben waren als die der normalgewichtigen Kontrollgruppe.⁷⁶ Eigentlich geht die Trophoblasteninvasion mit der Apoptose der glatten Muskelzellen einher.⁷⁷ Gleichzeitig kann es auf einen unreiferen Zustand der villösen Blutgefäße hinweisen, wenn sich zu wenig Smooth-Muscle-Actin in ihrer Gefäßwand befindet.^{78, 79} In den Plazenten übergewichtiger Ratten wurde weniger Smooth-Muscle-Actin, welches von glatten Muskelzellen exprimiert wird, gefunden. Außerdem wiesen diese Plazenten eine höhere Gefäßdichte auf.⁷⁸ Die vermehrte Anzahl an Kapillaren konnte ebenfalls in Plazenten übergewichtiger Frauen gezeigt werden, wobei aber auch der Durchmesser der Zotten vergrößert war.⁸⁰ In den Plazenten übergewichtiger Schafe wurde nach Ablauf der ersten Schwangerschaftshälfte ein größerer Gefäßdurchmesser mit konsekutiv erhöhtem Blutfluss gefunden.⁸¹

Neben den genannten morphologischen Veränderungen wirken sich maternales Übergewicht beziehungsweise maternale Adipositas auch auf die Serumkonzentrationen von angiogenetischen Proteinen im mütterlichen Serum aus: Die antiangiogenetische lösliche fms-ähnliche Thyrosinkinase (sFlt-1), welche VEGF und PGF binden kann⁸², ist im Serum übergewichtiger und adipöser Schwangerer erniedrigt, zeigt aber in allen BMI-Klassen einen ähnlichen Verlauf mit einem Anstieg am Ende der Schwangerschaft. Die Konzentration von

PGF, einem proangiogenetischem Faktor ^{Übersicht in 70} ist ebenfalls bei erhöhtem maternalen BMI ab dem zweiten Trimester erniedrigt. In Schwangerschaften, die von einer plazentaren Dysfunktion, welche sich klinisch als Präeklampsie, Plazentaablösung oder Geburt eines SGA-Neugeborenen präsentiert, begleitet sind, zeigen sich erhöhte sFlt-1- und erniedrigte PGF-Werte im mütterlichen Serum im Vergleich zu komplikationslosen Schwangerschaften.⁸³ Die Frage, ob sich ein GDM auf die Plazenta auswirkt, ist in vielen Studien untersucht worden. Neben der Beobachtung, dass die Plazenten von Frauen mit GDM ein höheres Gewicht als solche von Frauen mit unverändertem Glukosestoffwechsel aufweisen⁸⁴⁻⁸⁶, sind einige histologische Veränderungen der Plazenta beschrieben worden. Neben einer Unreife der Zotten, also einer verringerten Anzahl an Terminalzotten, findet man bei Vorliegen eines GDM vermehrt eine Chorangiome.⁸⁷ Hierunter versteht man eine hyperplastische Gefäßbildung in den Terminalzotten mit mehr als 10 Kapillaren pro Zotte in mindestens 10 Zotten in einem zehnfach vergrößertem mikroskopischen Sichtfeld.⁸⁸ Die Chorangiome gilt als reaktive Veränderung bei chronischer fetaler Hypoxie. ^{Übersicht in 89} Sie ist bei Abwesenheit anderer hypoxischer Veränderungen der Plazenta als maximale Ausschöpfung der funktionellen Plazentareserven anzusehen. Daher kann sie auch bei einem komplikationslosen Schwangerschaftsverlauf auftreten, da sie einer dekompensierten Sauerstoffversorgung des Feten zunächst entgegenwirkt.⁸⁸ Für eine fetoplazentare Hypoxie bei Vorliegen eines GDM sprechen auch die erhöhten Erythropoetinwerte und die folglich ebenfalls erhöhte Anzahl an kernhaltigen Vorläuferzellen der Erythropoese im Nabelschnurblut.⁸⁷ Maternales Übergewicht und ein GDM können somit über zahlreiche Mechanismen die Vaskularisierung der Plazenta beeinträchtigen, was als Erklärungsansatz für die erhöhten Raten an Schwangerschaftskomplikationen herangezogen werden kann. Um die genauen Zusammenhänge zu erklären, bedarf es weiterer Forschung.

2.2.4. Cadherine und Zellverbindungen in der Plazenta

Cadherine sind eine Gruppe von Transmembranproteinen, die an der Ausbildung von Zell-Zell-Verbindungen, also Adherens Junctions, Desmosomen, und Synapsen beteiligt sind. Im Falle der Adherens Junctions (AJ) bilden sie mit ihrer extrazellulären Domäne dabei die Zell-Zell-Verbindung mit einem Cadherin einer benachbarten Zelle aus, während die intrazelluläre Domäne mit dem Cytoskelett verbunden ist.

Zu den Cadherinen werden über 100 Proteine gezählt, die in den verschiedensten Geweben vorkommen. Epithelial (E-)Cadherin ist unter anderem Bestandteil der AJ zwischen Epithelzellen, wobei man in Plattenepithelzellen auch Placental (P-)Cadherin findet. Mit ihrer intrazellulären Domäne binden E- und P-Cadherin an β -Catenin oder Plakoglobin, welches die Interzellverbindung wiederum über α -Catenin mit den Aktinfilamenten des Zytoskeletts verbindet. In den Zell-Zell-Verbindungen zwischen Endothelzellen findet man das Vascular-Endothelial (VE-)Cadherin. ^{Übersicht in 90}

Cadherine stellen jedoch nicht nur eine starre Verbindung zwischen Zellen dar. Sie sind an der Ausbildung der Zellpolarität beteiligt und spielen darüber hinaus eine wichtige Rolle in der Embryonalentwicklung: Über die Expression von Cadherinen schließen sich Zellen zu Zellverbänden zusammen, während sie sich von Zellen, die ein anderes Cadherin exprimieren, trennen. ^{Übersicht in 90}

Bei der Ausbildung der Plazenta und dem Umbau der Spiralarterien der Dezidua spielt E-Cadherin eine entscheidende Rolle: Während der Plazentation unterscheidet man verschiedene Typen von Trophoblastenzellen. Neben den zu einem Synzytium fusionierten Synzytiotrophoblasten und den Zytotrophoblasten, welche an der Ausbildung der Zotten der Plazenta beteiligt sind und mit ihren Nachbarzellen in definiertem Kontakt stehen ^{43, 91}, gibt es die extravillösen Trophoblasten. Letztere verlassen ihren ursprünglichen Zellverband und dringen in das Interstitium und die Spiralarterien sowie in die venösen und lymphatischen Gefäße des Uterus ein. ^{Übersicht in 92} Hierfür ist die verminderte Proteinmenge von E-Cadherin in den extravillösen Trophoblasten von Bedeutung, da nur durch die Verringerung der Zell-Zell-Kontakte der invasive Charakter der Zellen entstehen kann. ^{93,94} Bei einem spontanen Abort konnte diese Herunterregulation des E-Cadherins in den extravillösen Trophoblasten nicht nachgewiesen werden. ⁹³ Eine unzureichende Trophoblasteninvasion und ein somit beeinträchtigter Umbau der uterinen Gefäße wird als eine der Entstehungsursachen der Präeklampsie angesehen. Auch hierfür wird unter anderem eine fehlende Reduktion der Expression von E-Cadherin in den extravillösen Trophoblasten verantwortlich gemacht. ⁹⁵ ^{Übersicht in 96} Die Spiralarterien bleiben dadurch konstriktive Gefäße mit hohem Widerstand ^{97, 98}, was eine Hypoperfusion der Plazenta zur Folge hat. ^{82, Übersicht in 99}

Im Gegensatz dazu kann eine zu stark verminderte Expression von E-Cadherin zur Entstehung einer Plazenta percreta, also einer exzessiven Invasion der Trophoblasten in die Dezidua, beitragen. ¹⁰⁰ E-Cadherin verhindert also ein übermäßiges Eindringen von Zellen in ein Gewebe, was mit seiner Funktion als Tumorsuppressor vereinbar ist. ^{Übersicht in 90} Im Mausmodell konnte in den Plazenten übergewichtiger Mäuse eine signifikant reduzierte E-Cadherin Menge im Vergleich zu normalgewichtigen Mäusen nachgewiesen werden. ¹⁰¹

Während P-Cadherin das hauptsächliche Cadherin in der Maus-Plazenta darstellt ¹⁰², spielt es in der menschlichen Plazenta im Vergleich zu E-Cadherin eine untergeordnete Rolle. ¹⁰³ Es könnte aber dennoch für die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft von Bedeutung sein, denn in Plazentaprobe von Aborten wurde weniger P-Cadherin nachgewiesen als in komplikationslosen Schwangerschaften. ¹⁰⁴

VE-Cadherin spielt als Bestandteil der AJ des Endothels eine Rolle in der Regulation der Endothelpermeabilität ^{Übersicht in 105} sowie der Zellproliferation und der Apoptose. ^{106, Übersicht in 107} Die durch VE-Cadherin vermittelte Zell-Adhäsion wird unter Exposition mit proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α eingeschränkt, was die Gefäßpermeabilität

erhöht.¹⁰⁸ VE-Cadherin wird auch im Zytotrophoblast und im Synzytiotrophoblast der humanen Plazenta exprimiert.¹⁰⁶ Hier stabilisiert es den VEGF-Rezeptor in der Zellmembran, wodurch für das Überleben der Zelle gesorgt wird.¹⁰⁶ Darüber hinaus findet man VE-Cadherin in extravillösen Trophoblasten. Wird die Expression gezielt ausgeschaltet, ist sowohl die Invasion der Trophoblasten in die Dezidua als auch der Umbau der Spiralarterien eingeschränkt, was zu einer beeinträchtigten Plazentafunktion führt.¹⁰⁹

Eine verminderte Expression von VE-Cadherin oder dessen diskontinuierliche Verteilung im Endothel sind mit einer erhöhten Gefäßpermeabilität assoziiert. Dies ist beispielsweise bei Präeklampsie beobachtet worden.¹¹⁰⁻¹¹² Durch Faktoren wie VEGF kann die Funktion von VE-Cadherin und damit auch die Gefäßdurchlässigkeit moduliert werden: Das pro-angiogenetische VEGF-A_{165a} verursacht Brüche in den Zellverbindungen und erhöht die Permeabilität. Dieser Effekt kann durch VEGF-A_{165b} verhindert werden.¹¹³ Darüber hinaus wurde bei Vorliegen eines GDM weniger VE-Cadherin in den Endothelzellverbindungen der Plazenta gefunden als in Proben von komplikationsfreien Schwangerschaften.¹¹⁴

Neben VE-Cadherin besitzt auch CD31 eine zellverbindende Funktion in Endothelien. Es reguliert die Gefäßpermeabilität und ist an der Vermittlung der Leukozytendiapedese beteiligt.

Übersicht in ¹¹⁵⁻¹¹⁷ Es ist außerdem wichtig für die Angiogenese und schützt die Endothelzellen im inflammatorischen Milieu vor Apoptose.^{117,118} Unter dem Einfluss maternaler Adipositas ist die CD31 Menge in der Plazenta im Mausmodell signifikant verringert.¹⁰¹

β -Catenin verbindet die Cadherine über α -Catenin mit den Aktinfilamenten des Zytoskeletts und sorgt damit für eine sichere Verankerung der AJ. Übersicht in ⁹⁰ In den Plazenten übergewichtiger Mäuse ist die Menge an β -Catenin im Vergleich zu Plazenten normalgewichtiger Mäuse reduziert.¹⁰¹ Darüber hinaus übernimmt β -Catenin in verschiedenen Signalwegen, wie dem Wntless-INT Gen (Wnt)/ β -Catenin- und dem Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells-Signalweg (NF- κ B Signalweg) eine regulierende Funktion. So werden in zahlreichen Geweben verschiedene Effekte erzielt, darunter die Expression von Zielgenen, die in der Zellproliferation, der Zelldifferenzierung oder der Immunantwort von Bedeutung sind. Übersicht in ¹¹⁹ Auch in der Plazenta werden viele Liganden des Wnt/ β -Catenin-Signalwegs exprimiert. β -Catenin spielt als Transkriptionsfaktor über diesen Signalweg eine Rolle bei der Invasion der Trophoblasten und der Ausbildung der Plazenta.^{120, 121} Erhöhtes Vorhandensein des Wnt5a-Liganden scheint die Trophoblasteninvasion zu erschweren und die Menge an als Transkriptionsfaktor fungierendem β -Catenin in den Zellen herabzusetzen. Eine abweichende Expression bestimmter Liganden wie z.B. Wnt5a könnte somit ebenfalls über eine veränderte Menge β -Catenin zu einer beeinträchtigten Plazentation führen.¹²² Bei Vorliegen eines GDM wurde weniger plazentares β -Catenin nachgewiesen als in den Plazenten von Frauen mit erhaltener Glucosetoleranz.¹¹⁴

Eine veränderte Expression oder Funktionalität der Bestandteile der Zellverbindungen könnte also zu einer eingeschränkten Funktion der Plazenta und damit zu Komplikationen während der Schwangerschaft führen.

2.3. Fragestellung

Als Erklärungsansatz für die erhöhte Rate an Schwangerschaftskomplikationen bei vorbestehender maternaler Adipositas wird eine plazentare Dysfunktion diskutiert. Wodurch diese aber genau bedingt wird, ist nicht vollständig geklärt. Vorarbeiten der Arbeitsgruppe konnten im Tiermodell eine verringerte Menge an E-Cadherin und CD31 sowie tendenziell von β -Catenin in den Plazenten übergewichtiger Mäuse zeigen.¹⁰¹ Darüber hinaus finden sich in der Literatur Hinweise darauf, dass bei einem GDM die Menge an β -Catenin und VE-Cadherin in humanen Plazentaprobe ebenfalls erniedrigt sind.¹¹⁴

Basierend auf dieser Datenlage wird als Hypothese dieser Doktorarbeit angenommen, dass bei einem erhöhten maternalen BMI allein oder dem zusätzlichen Vorliegen eines GDM die Proteinmenge der interzellulären Adhäsionsmoleküle (E-Cadherin, P-Cadherin, VE-Cadherin, CD31) und β -Catenin in der humanen Plazenta verändert ist. Weiterhin wird angenommen, dass durch erhöhte zirkulierende Entzündungsmarker im maternalen Plasma die Plazentafunktion eingeschränkt wird. Der Zusammenhang zwischen Metainflammation und Zell-Zell-Verbindungen in der humanen Plazenta soll dabei im Fokus stehen. Die genannten Veränderungen könnten eine Beeinträchtigung der Plazentafunktion, welche sich negativ auf die Entwicklung des Kindes auswirkt, nach sich ziehen (Abb.1).

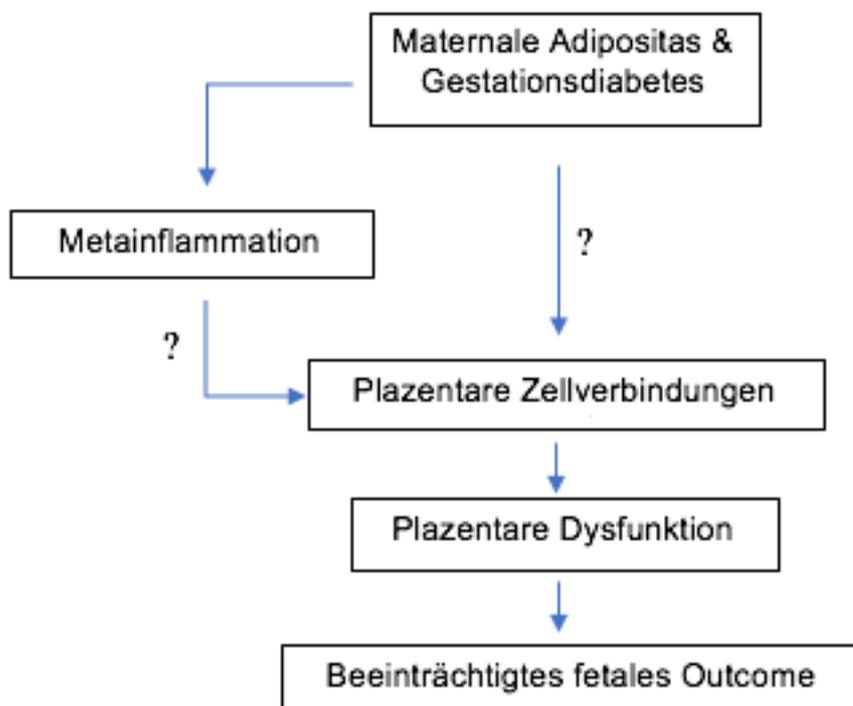


Abbildung 1: Arbeitshypothese Es wird postuliert, dass sich maternale Adipositas und ein GDM auf die Zell-Zell-Verbindungen der Plazenta, gemessen anhand der Proteinmengen von E-Cadherin, P-Cadherin, VE-Cadherin, CD 31 und β -Catenin auswirken. Dies geschieht möglicherweise über eine Verstärkung der Metainflammation mit erhöhten Entzündungswerten (CRP, IL-6) im maternalen Serum. Es resultiert eine eingeschränkte Plazentafunktion, die das Outcome des Kindes beeinträchtigt.

Um sich dieser Fragestellung anzunähern, wurden die Proteinmengen von E-Cadherin, P-Cadherin, VE-Cadherin, CD31 und β -Catenin mittels Western Blot aus Plazentaprobe von normalgewichtigen, übergewichtigen und adipösen Schwangeren mit und ohne GDM untersucht. Zusätzlich wurden in maternalem Plasma die CRP- und IL-6 sowie aus fetalem Plasma IL-6 bestimmt. Die Konzentrationen der Entzündungswerte im Plasma und die Mengen der genannten plazentaren Zell-Zell-Verbindungsproteine wurden anschließend miteinander korreliert.

3. Material und Methoden

3.1. Humane Kohorte

3.1.1. Studiendesign

Diese Promotionsarbeit wurde im Rahmen der „Cologne Placenta Cohort Study“ durchgeführt, einem Forschungsprojekt der Arbeitsgruppe „Plazentare Störungen“ der Kinderklinik der Universitätsklinik zu Köln. Das Patientenkollektiv der Studie wurde in Zusammenarbeit mit dem Kreissaal der Frauenklinik der Universitätsklinik Köln rekrutiert. Die schwangeren Frauen wurden im Rahmen ihrer Sectio-Aufklärung in der Risiko-Sprechstunde um ihre Teilnahme gebeten.

In die Studie eingeschlossen wurden grundsätzlich Einlingsschwangerschaften mit einem Gestationsalter von SSW 35+0 bis 41+6. Das Mindestalter der Teilnehmerinnen betrug 18 Jahre und ihr BMI durfte nicht unter 18,5 kg/m² liegen. Es durften keine schweren Vorerkrankungen auf Seiten der Mutter wie Hypertonie, Herzinsuffizienz, Neoplasien oder chronische Nierenerkrankungen vorliegen. Infektionskrankheiten wie Hepatitis oder HIV, sowie ein Amnioninfektionssyndrom führten ebenfalls zum Studienausschluss. Es wurden nur Plazenten aus primären Kaiserschnittgeburten gesammelt, um sicherzustellen, dass die Plazenten keiner Wehentätigkeit ausgesetzt waren.

Im Zeitraum von März bis August 2018 wurden insgesamt 93 Patientinnen über die Studie aufgeklärt, 13 davon schieden wegen vorzeitiger vaginaler Entbindung, Wechsel in eine andere Klinik oder Stattfinden der Sectio in Abwesenheit des Studienteams aus.

Von jeder Patientin wurden neben den Plazentaprobe auch Blutproben gesammelt. Das Blut wurde einmal im Rahmen der Sprechstunde und einmal direkt vor dem Kaiserschnitt abgenommen. Zusätzlich wurde unmittelbar nach der Sectio fetales Blut aus der Nabelschnur gewonnen.

Für die vorliegende Dissertation wurden 30 weitere Plazentaprobe von den weiteren Analysen ausgeschlossen. Gründe hierfür waren Tabakkonsum und regelmäßige Medikamenteneinnahme (Cortison, Antihypertensiva, ASS, Heparin) während der Schwangerschaft, andere als die schon genannten Vorerkrankungen der Mutter (Cholestase, Multiple Sklerose, Epilepsie, Autoimmunthrombozytopenie, Tumor der Cervix) oder Erkrankungen des Kindes (Verdacht auf Epidermiolysis bullosa), Unvollständigkeit der Daten, Verzögerung der Plazenta-Präparation um mindestens eine Stunde und ein GDM in der Kontrollgruppe (Abb. 2). Durch diese Ausschlüsse sollte eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet werden.

Die verbliebenen 50 Patientinnen wurden wie folgt aufgeteilt: Gruppe 1 (Kontrollgruppe) enthält Frauen mit einem BMI $<25 \text{ kg/m}^2$ vor Beginn der Schwangerschaft ohne GDM (n=24). In Gruppe 2 (Übergewicht) wurden die Plazenten der Frauen mit einem BMI vor Beginn der Schwangerschaft ≥ 25 und $<30 \text{ kg/m}^2$ (n=16) zugeordnet und Gruppe 3 (Adipositas) besteht aus den Plazenten von Frauen mit einem BMI $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ (n=10).

Die Gruppen 2 und 3 enthalten jeweils sowohl Patienten mit als auch ohne GDM (Abb. 2). Die Studie schließt 38 Plazenten und Blutproben aus Schwangerschaften ohne GDM ein, hiervon 24 von normalgewichtigen (Gruppe 1) und 14 von übergewichtigen oder adipösen Müttern (Gruppe 4). Die Gruppe 5 enthält 12 Plazenten und Blutproben aus Schwangerschaften mit GDM, alle hieraus von übergewichtigen oder adipösen Müttern (Abb. 2).

Angaben zu Gewicht und Körpergröße wurden dem Mutterpass und klinischen Dokumenten entnommen. Die Diagnose des GDM wurde auf Grundlage von Anamnese und dem Ergebnis des oGTT 50 und/oder oGTT 75, welcher im Rahmen der allgemeinen Schwangerschaftsvorsorge durchgeführt wird, gestellt.

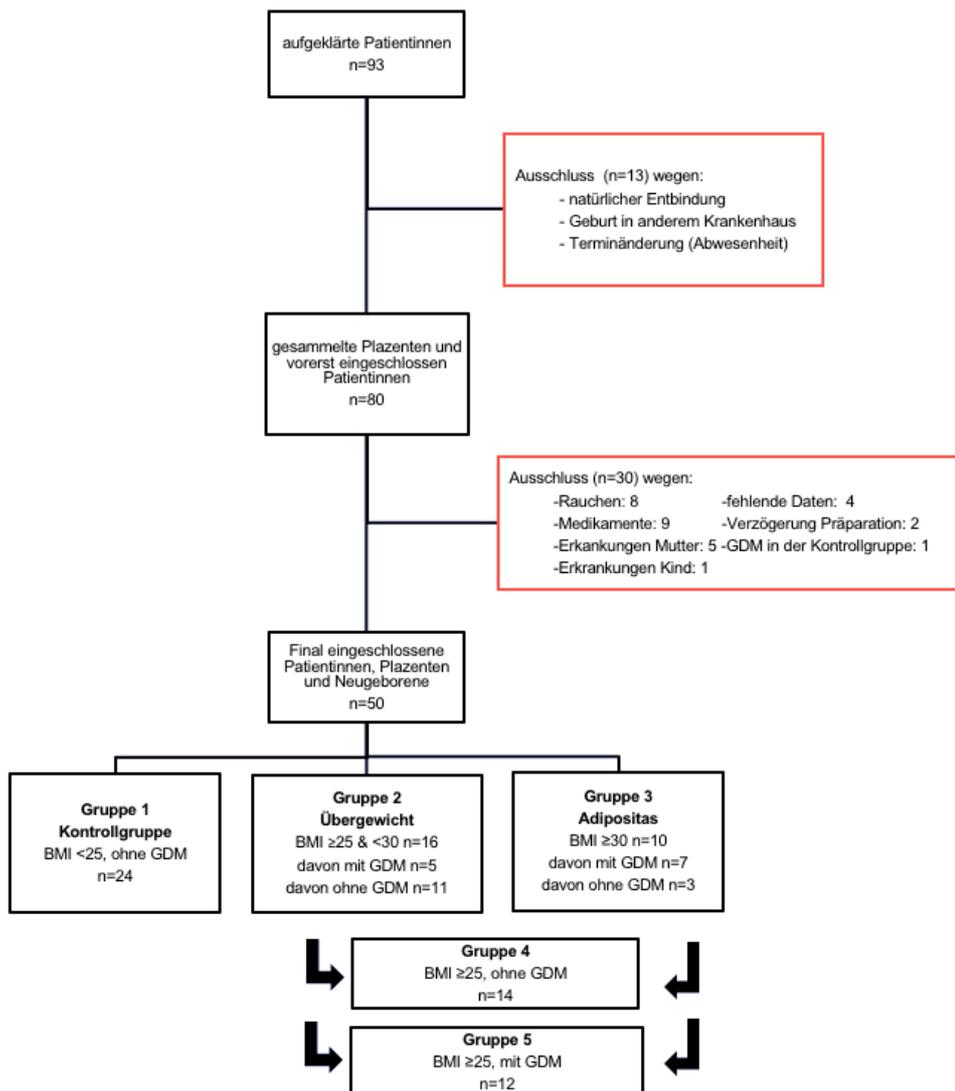


Abbildung 2: Patientenkollektiv und Gruppeneinteilung Es stimmten 93 Patientinnen der Studienteilnahme zu, gesammelt wurden davon 80 Plazenten und Blutproben, da einige Frauen in einer anderen Klinik, zu einem anderen als dem geplanten Zeitpunkt oder natürlich entbanden. Alle eingeschlossenen Frauen erfüllten die Einschlusskriterien (>18 Jahre, $\text{BMI} \geq 18,5 \text{ kg/m}^2$, Einlingsschwangerschaft, primäre Sectio, keine Infektionskrankheiten, keine neoplastische Erkrankung, keine schwere Organdysfunktion). Von weiteren Analysen wurden 30 Patientinnen aufgrund von Medikamenteneinnahme, Nikotinabusus während der Schwangerschaft, fehlender Daten, Verzögerung der Präparation oder Vorerkrankungen ausgeschlossen. 50 Patientinnen mit zugehöriger Plazenta und Blutprobe wurden für die folgenden Versuche eingeschlossen und nach ihrem BMI vor der Schwangerschaft in drei Gruppen aufgeteilt: Gruppe 1 ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$, kein GDM), Gruppe 2 ($\text{BMI} \geq 25$ und $< 30 \text{ kg/m}^2$) und Gruppe 3 ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Anschließend wurden aus der Gruppe 2 und Gruppe 3 die Patientinnen mit einem GDM bzw. ohne einen GDM jeweils in eine Gruppe zusammengefasst, wodurch Gruppe 4 ($\text{BMI} \geq 25$, ohne GDM) und Gruppe 5 ($\text{BMI} \geq 25$ mit GDM) entstanden.

3.1.2. Aufklärung und Einverständniserklärung

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universitätsklinik Köln genehmigt (14-244). Alle Teilnehmerinnen wurden ausführlich über das Vorgehen aufgeklärt und dann um ihr Einverständnis gebeten. Es liegen unterschriebene Aufklärungsbögen von allen Teilnehmerinnen vor.

3.1.3. Anamnese und Erhebung klinischer Parameter

Im Rahmen der Aufklärung über die Studie in der Sectio-Sprechstunde wurde mit allen Patientinnen ein Fragebogen bezüglich ihrer Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme, körperlicher Aktivität und Geburtenanamnese ausgefüllt. Zudem wurden nach der Sectio weitere Angaben über den Schwangerschaftsverlauf (Blutdruckwerte, Gewichtsentwicklung der Mutter, Urinuntersuchungen, Ergebnis des oGTT), und das Neugeborene (APGAR Score, Geschlecht, Größe und Gewicht des Kindes, Auftreten von Komplikationen) aus dem Mutterpass und der Patientenakte entnommen. Alle Daten wurden pseudonymisiert.

3.1.4. Plazentapräparation

In enger Zusammenarbeit mit dem Kreissaal der Frauenklinik der Universitätsklinik Köln wurden die Plazenten der Studienteilnehmerinnen nach beendeter Sectio zeitnah abgeholt und anschließend präpariert. Die maximale Dauer von Entnahme der Plazenta bis zur Präparation betrug eine Stunde, um eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erzielen. Zunächst wurden Maße (Höhe, Breite, Tiefe), Gewicht, Ort der Nabelschnurinsertion und mögliche Auffälligkeiten wie makroskopisch sichtbare Änderungen der Gewebsstruktur und Beschädigungen der Plazenta dokumentiert. Dann wurde neben der Nabelschnurinsertion (nabelschnurnah), am Rand (peripher) und zentral dazwischen jeweils ein Gewebstück für histologische Analysen entnommen und in Formalin fixiert. Weitere Stücke aus den drei genannten Positionen wurden entnommen, jeweils in drei Schichten (fetal, villös und maternal) geteilt, kurz in einer sterilen 0,9% Natriumchloridlösung gewaschen und dann nativ bei -80°C für weitere molekularbiologische Analysen asserviert.

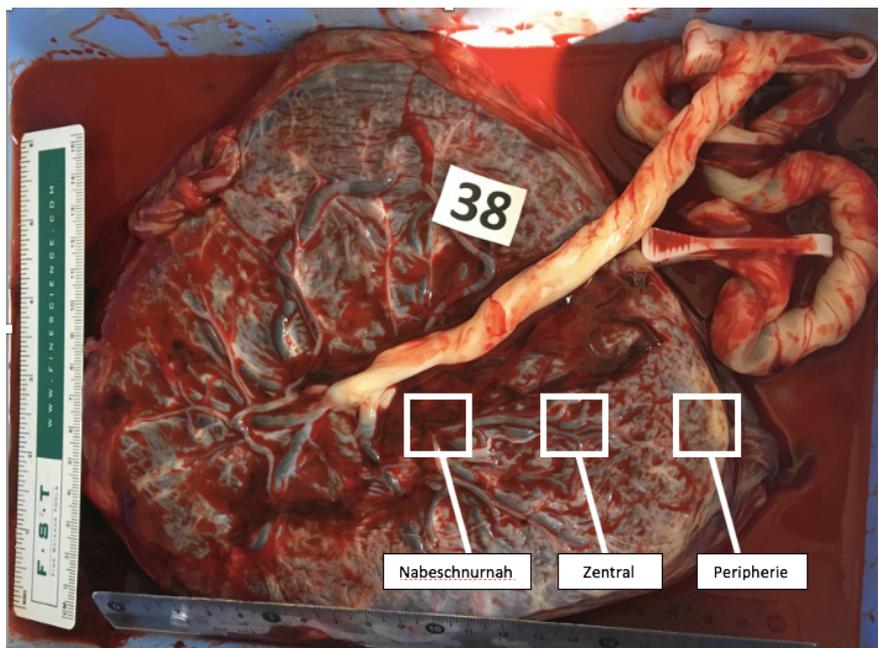


Abbildung 3: Präparation der Plazenta Maximal eine Stunde nach der Sectio erfolgte die Präparation des Gewebes. Nach der makroskopischen Beschreibung (Gewicht, Maße, Nabelschnurinsertion, Auffälligkeiten) wurde jeweils ein Gewebestück nahe der Nabelschnur, aus der Peripherie und zentral dazwischen entnommen. Für die Histologie wurde aus den drei Positionen ein Stück in Formalin fixiert, ein weiteres Stück wurde in drei Abschnitte (maternaler, fetaler und villöser Teil) unterteilt und nativ bei -80 °C für die molekularbiologischen Analysen asserviert.

3.2. Histologische Methoden

3.2.1. Vorbereitung der Gewebeproben für die Immunhistologie

Um ein Gewebe für die mikroskopische Beurteilung immunhistologisch anfärben zu können, bedarf es zunächst der Fixierung und der Einbettung des Gewebes. Die so präparierten Proben werden anschließend in dünne Schichten geschnitten und auf einen Objektträger aufgezogen.

Aus jeder Plazenta wurden, wie bereits in 3.1.4. beschrieben, drei Gewebeproben entnommen und zunächst für 24 Stunden in 4% Paraformaldehyd fixiert. Anschließend wurden die Proben in 70% Isopropanol entwässert und nach mindestens 24 Stunden für die Einbettung in Paraffin vorbereitet. Dies fand in der Tissue Embedding Facility des Zentrums für Molekulare Medizin Köln (ZMMK) statt. Die Proben wurden über Nacht im Fully-enclosed tissue processor Leica ASP 300 bei 45°C in Isopropanol entwässert und dann bei 65°C mit Paraffin infiltriert. Anschließend wurde jedes Gewebestück mit dem Heated Paraffin Embedding Module Leica EG1150 H in einen Paraffinblock eingebettet. Nachdem dieser ausgekühlt war, wurden mit dem Fully Automated Rotary Microtome Leica RM2 5 µm dünne Schnitte angefertigt, welche dann mit Hilfe eines 37°C warmen Wasserbades entstreckt und auf die Objektträger gezogen wurden. Die Objektträger lagerten dann zum Trocknen bei 37°C über Nacht in einem Wärmeschrank (Geräte siehe 7.6.).

3.2.2. Immunhistologie

Eine immunhistologische Färbung ist ein Verfahren der Histologie, mit dem bestimmte Proteine in einem Gewebe mit Hilfe von Antikörpern unter dem Mikroskop sichtbar gemacht werden. Für diese Dissertation wurden drei der ebenfalls im Western Blot untersuchten Proteine exemplarisch angefärbt, um ihre Lokalisation in der Plazenta darzustellen.

Als erstes wurden die Gewebeschnitte in einer Alkoholreihe mit absteigender Konzentration (99,8%; 96%; 80%; 70%) für jeweils eine Minute entparaffiniert und in wässriges Milieu überführt. Nach einer Spülung mit VE-Wasser (voll entsalztes Wasser) folgte das Kochen im Dampfgarer (siehe 7.6.) bei 95°C in Citratpuffer (siehe 7.5.) für 25 Minuten. Nach dem Abkühlen für mindestens 30 Minuten wurden über 10 Minuten mit einem frisch angesetzten 3%igem Wasserstoffperoxid-Puffer (siehe 7.3.) die gewebeeigenen Peroxidasen geblockt und dann mit PBS (Phosphatgepufferte Salzlösung) (siehe 7.5.) gewaschen. Der SEA-Blocking Puffer (siehe 7.4.) inkubierte dann für eine Stunde auf dem Gewebe, um zunächst einmal alle Bindungsstellen zu blockieren und somit den Hintergrund zu reduzieren, bevor der primäre Antikörper (Tabelle 1) in Antikörper Diluent (siehe 7.4.) verdünnt auf die Schnitte gegeben wurde, wo er dann bei 4°C über Nacht in einer feuchten Kammer inkubierte und spezifisch binden konnte.

Nach drei fünfminütigen Waschschritten in PBS inkubierte der Sekundärantikörper (Tabelle 1) für 30 Minuten auf den Gewebsschnitten. Nach erneutem dreimaligen Waschen mit PBS wurde das Substrat DAB (30 µl 3,3'-Diamin-Benzidin in 1 ml ImmPACT™ DAB Diluent siehe 7.4.) auf die Schnitte gegeben. Die Inkubation erfolgte bei der E-Cadherin- und VE-Cadherin-Färbung für zwei, bei der CD31-Färbung für drei Minuten. Anschließend wurde die Reaktion mit VE-Wasser gestoppt. Um die Kerne sichtbar zu machen, wurden die Gewebeschnitte mit zuvor filtriertem Hämatoxylin eine Minute lang gefärbt und anschließend für 10 Minuten unter fließendem Leitungswasser gebläut. Danach wurden die Schnitte zur Entwässerung für je eine Minute in eine Alkoholreihe von aufsteigender Konzentration (70%; 80%; 96%; 99,8%) und anschließend zwei Mal für je 5 Minuten in Neoclear gegeben, bevor die Schnitte mit Neomount und einem Deckgläschen eingedeckelt wurden.

Tabelle 1: Primär- und Sekundärantikörper für die Immunhistologie

Antikörper	Hersteller	Verdünnung
E-Cadherin	Cell Signaling (24E10) #3195	1:500 in Antibody Diluent
VE-Cadherin	abcam #33168	1:1000 in Antibody Diluent
CD 31	abcam #28364	1:400 in Antibody Diluent
ZytoChem Plus HRP One-Step Polymer (Sekundärantikörper)	Zytomed Systems	-

3.3. Bestimmung von Entzündungs- und Blutzuckerwerten

Ergänzend zu den Plazentaprobe wurden auch Proben von maternalem und fetalem Blut gesammelt.

Bei Abholung der Plazenten aus dem Kreissaal wurden aus der Nabelschnur ein Lithium-Heparin-Plasma-Röhrchen mit fetalem Blut entnommen.

Das mütterliche Blut wurde im Rahmen von Routine-Blutabnahmen in der Risiko-Sprechstunde sowie vor der Sectio gewonnen. Nach der Aufklärung in der Risiko-Sprechstunde wurde ein EDTA-Röhrchen abgenommen und am Morgen der Sectio konnte in nüchternem Zustand zudem ein Lithium-Heparin-Plasma von einigen Teilnehmerinnen gewonnen werden.

Durch Störungen im Ablauf der Probengewinnung liegen nicht zu allen Plazenten alle genannten Blutproben vor.

Das maternale und fetale Blut in der Lithium-Heparin-Plasma-Monovette wurde zeitnah nach der Entnahme bei 3000 g und 20°C für 10 Minuten zentrifugiert (Rotina 420R, 7.6.). Dann wurde das Plasma in ein Reaktionsgefäß pipettiert und bei -80°C gelagert.

In Zusammenarbeit mit dem Zentrallabor der Universitätsklinik Köln wurden aus dem Nüchtern-Plasma und dem EDTA-Blut der Mütter sowie dem Plasma der Neugeborenen Marker des Kohlehydratstoffwechsels (Nüchtern-Glukose aus maternalem und fetalem Plasma, HbA1c aus maternalem EDTA Blut) sowie Entzündungsparameter (CRP aus maternalem Plasma, Interleukin-6 aus maternalem und fetalem Plasma) bestimmt. Erhöhte Werte wurden folgendermaßen definiert: Nüchtern-Glukose >100mg/dl; HbA1c >6,5%; CRP >5mg/dl; IL-6 >7ng/l.

3.4. Proteinbiochemische Methoden

3.4.1. Proteinisolation

In Vorbereitung für die SDS-PAGE (Sodium-Dodecyl-Sulfat Polyacrylamid Gelelektrophorese) und den Western Blot ist es zunächst notwendig, die Proteine aus einem Gewebe zu isolieren. Hierzu wurde ein modifizierter RIPA-Puffer (siehe 7.5.) verwendet.

Aus dem villösen Anteil der zentral zwischen Nabelschnur und der Peripherie der Plazenta entnommenen Gewebeproben wurde jeweils ein kleines Gewebstück (ca. 150mg) mit 500 µl RIPA-Puffer in ein Reaktionsgefäß gegeben und mit einem Mörser zerkleinert. Anschließend wurde jede Probe für etwa 2 Minuten mit dem Sonopuls der Firma Bandeln (Einstellung 40% energy und 3x10% cycle, 7.6.) sonifiziert und dann für eine Stunde auf Eis gelagert. Nach der Zentrifugation in der Zentrifuge 5424 R von Eppendorf (siehe 7.6.) mit 18407g bei 4°C für fünf Minuten wurde der Überstand, welcher die löslichen Proteine enthält, in ein neues Reaktionsgefäß überführt und bei -80°C eingefroren.

3.4.2. Proteinkonzentrationsbestimmung

Um identische Proteinmengen jeder Probe in die SDS-PAGE für den Western Blot einbringen zu können, folgt nach der Isolation der Proteine die Konzentrationsbestimmung mit Hilfe des Pierce™ BCA Protein Assay Kit 23225 (siehe 7.4.).

Dafür wurde jede Probe 1:20 in RIPA-Puffer verdünnt. Auf einer 96-well Platte wurde eine Standardproteinreihe aus bovinem Serumalbumin (Albuminstandard Thermo Scientific, 2 mg/ml) als Verdünnungsreihe von 1:2 bis 1:32 aufgetragen. Anschließend wurden zweimal 10 µl jeder Probe (jeweils als Doppelbestimmung) auf die Platte gegeben, dann kamen je 200 µl des Working-Reagents (Pierce™ BCA Protein Assay Reagent A und B, 50:1) pro Well hinzu. Die gefüllte Platte wurde für 30 Minuten bei 37°C im Skyline Inkubator (siehe 7.6.) inkubiert. Es folgte die Messung der optischen Dichte bei 562nm im Tecan Platten Reader Infinite 200 pro (siehe 7.6.). Aus den Werten der Doppelbestimmung wurde der Mittelwert berechnet, das Signal des reinen RIPA-Puffers (Blank) hiervon abgezogen und dann anhand der Standardreihe die Konzentration der Proben berechnet.

3.4.3. SDS-PAGE und Western Blot

In der SDS-PAGE werden Proteine in einem Polyacrylamid-Gel anhand ihres Molekulargewichts aufgetrennt. Dann werden sie im Western Blot auf eine Trägermembran übertragen, so dass bestimmte Zielproteine mittels spezifischer Primärantikörper nachgewiesen werden können. So kann zum einen das Vorhandensein eines Proteins in einem Gewebe nachgewiesen, zum anderen ein semiquantitativer Unterschied der Proteinmenge in unterschiedlichen Gewebeproben ermittelt werden.

Es wurden 15 µg jeder Probe mit 2,5 µl 5x Probenpuffer mit β-Mercaptoethanol (siehe 7.5.) in die Taschen des Sammelgels (siehe 7.5.) aufgetragen. Mittels SDS-PAGE wurden die Proteine in Lämmli-Laufpuffer zuerst bei 80V (Sammelgel) und dann bei 120 Volt (Trenngel mit teils 8%, teils 10% Acrylamidanteil (siehe 7.5.)) nach ihrem Molekulargewicht aufgetrennt. Anschließend wurden die Proteine in einer Blotting Kammer durch Anlegen einer Spannung von 1,3 mA/cm² für 2 Stunden und unter Verwendung des Towbin-Puffers (siehe 7.5.) auf eine Nitrocellulose-Membran (siehe 7.4.) übertragen.

Zum Überprüfen des Blottingschrittes wurde die Nitrocellulosemembran für 1-2 Minuten mit 0,2% Ponceau S in 3% Trichloressigsäure gefärbt, und danach mit VE-Wasser differenziert, um die gebundenen Proteinen sichtbar zu machen. Nach Durchführung der Ponceau-Färbung wurden zunächst alle unspezifischen Bindungsstellen auf der Membran durch einstündige Inkubation in 1xTBST mit 5% Milch und 2% BSA (siehe 7.5.) blockiert. Dann wurde die Membran mit den primären Antikörpern (Tabelle 2) gegen die nachzuweisenden Proteine zunächst für 30 Minuten bei Raumtemperatur, dann über Nacht bei 4°C inkubiert.

Am nächsten Tag folgte das Waschen der Membran 3x für 10 Minuten in 1x TBS-T und die Inkubation den sekundären Antikörper (Tabelle 2) verdünnt in 5% Milch in 1xTBST für 60 Minuten bei Raumtemperatur. Nach erneutem Waschen mit 1x TBS-T für 3x 10 Minuten wurde frisch angesetztes ECL-Reagenz (siehe 7.4.) für 1 Minute auf die Membran aufgetragen. Das Chemilumineszenzsignal wurde dann im ChemiDoc XRS+ (siehe 7.6.) mit dem Programm ImageLab v5.2.1 (siehe 7.7.) digitalisiert, mit dieser Software erfolgte außerdem die densitometrische Ausmessung der Banden. Anschließend wurde die Auswertung der densitometrischen Analyse der Banden in Excel vorgenommen, wobei die Intensität der Banden der detektierten Zielproteine jeweils mit den Banden des House-Keeping-Proteins β -Actin verglichen wurden.¹²²

Tabelle 2: Primär- und Sekundärantikörper für den Western Blot

Antikörper	Hersteller	Verdünnung	Sekundärantikörper
β -Actin (House-Keeping)	Cell Signaling (8H10D10) #3700	1:5000 in 5% Milch /1x TBS-T	Anti-mouse 1:4000(Cell Signaling #7076S)
E-Cadherin	Cell Signaling (24E10) #3195	1:1000 in 5% BSA/ 1x TBS-T	Anti-rabbit 1:2000 (Cell Signaling #7075S)
P-Cadherin	abcam 190076	1:1000 in 5% Milch /1x TBS-T	Anti-rabbit 1:2000 (Cell Signaling #7075S)
VE-Cadherin	abcam 33168	1:1000 in 5% Milch /1x TBS-T	Anti-rabbit 1:2000 (Cell Signaling #7075S)
CD 31	abcam 28364	1:1000 in 5% Milch /1x TBS-T	Anti-rabbit 1:2000 (Cell Signaling #7075S)
β -Catenin	Cell Signaling (D10A8) #8480	1:1000 in 5% Milch /1x TBS-T	Anti-rabbit 1:2000 (Cell Signaling #7075S)

3.5. Statistische Analysen

Die statistischen Analysen der erhobenen Patientendaten, Blutanalysen und der Western Blot Ergebnisse wurden in IBM SPSS Statistics Version 25 durchgeführt.

Die Merkmale der Kohorte wurden abhängig vom maternalen BMI vor der Schwangerschaft und dem Vorliegen eines GDM miteinander verglichen. Die Einteilung erfolgte in die bereits in 3.1.1 genannten Gruppen:

Gruppe 1: BMI ≥ 18 kg/m^2 < 25 kg/m^2 (Normalgewicht)

Gruppe 2: BMI ≥ 25 und < 30 kg/m^2 (Übergewicht)

Gruppe 3: BMI ≥ 30 kg/m^2 (Adipositas)

Gruppe 4: BMI ≥ 25 kg/m^2 ohne GDM

Gruppe 5: BMI ≥ 25 kg/m^2 mit GDM

Nach Anwendung des Shapiro-Wilk-Tests zum Prüfen der Normalverteilung der verschiedenen Gruppen wurden mit den metrischen Variablen entweder ein t-Test oder ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die nominalen Daten wurden mit dem exakten Test nach Fisher auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht. Als statistisch signifikant gewertet wurden p-Werte $<0,05$. Hinsichtlich ihrer Aussagekraft ist die geringe Größe der Stichprobe zu beachten.

Zur Untersuchung der Korrelation von maternalem BMI vor der Schwangerschaft, den Entzündungswerten, Parametern des Glukosestoffwechsels in maternalem und fetalem Blut sowie den relativen Proteinmengen der im Western Blot detektierten Proteine (E-Cadherin, P-Cadherin, VE-Cadherin, CD31, β -Catenin) und dem Geburtsgewicht wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson oder Spearmans Rho berechnet.

Für die statistischen Analysen wurde das Institut für Medizinische Statistik und Bioinformatik beratend hinzugezogen.

4. Ergebnisse

4.1. Statistische Auswertung

4.1.1. Maternale Daten

Die verschiedenen Gruppen unterschieden sich hinsichtlich des maternalen Alters nicht signifikant. Auch bezüglich der Gravidität, der Parität, der Anzahl der Aborte und der Anzahl der Sectios zeigten sich keine Unterschiede (Tabellen 3 und 4).

Allerdings wiesen die Patientinnen mit GDM (Gruppe 5) einen signifikant höheren mittleren systolischen (p-Wert 0,006) und diastolischen (p-Wert 0,001) Blutdruckwert während der Schwangerschaft im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1) auf. Der mittlere diastolische Blutdruck unterschied sich auch von dem der übergewichtigen und adipösen Patientinnen ohne GDM (Gruppe 4; p-Wert 0,044; Tabelle 4). Ähnliche statistisch signifikante Unterschiede zeigten sich bei den adipösen Patientinnen (Gruppe 3) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1; Tabelle 3). Darüber hinaus stieg der Anteil der Patientinnen, die in mindestens einer der letzten drei Urin-Untersuchungen in der Schwangerschaft eine Proteinurie hatten in Abhängigkeit vom maternalen BMI auf das doppelte (Gruppe 2) bis fast dreifache (Gruppe 3) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1) an (Tabelle 3).

	Normalgewicht (Gruppe 1) (n=24)	Übergewicht (Gruppe 2)			Adipositas (Gruppe 3)			P- Werte
		Gesamt (n=16)	ohne GDM (n=11)	mit GDM (n=5)	Gesamt (n=10)	ohne GDM (n=3)	mit GDM (n=7)	
Alter [Jahre]	32,7 ± 5,6	31,9 ± 6,6	30,6 ± 6,6	34,6 ± 6,2	32,8 ± 5,4	36,7 ± 1,5	31,1 ± 5,7	-
BMI Beginn d. SS [kg/m ²]	21,4 ± 1,8	27,4 ± 1,4 *	27,4 ± 1,5 *	27,6 ± 1,4 *	36,1 ± 6,3 *#	32,2 ± 2,3 *+°	37,8 ± 6,9 *+°	*
BMI Ende d. SS [kg/m ²]	26,6 ± 2,5	32,1 ± 3,3 *	31,2 ± 2,2 *	34,0 ± 4,8 *	39,6 ± 5,8 *#	36,6 ± 4,0 *+	40,9 ± 6,2 *+°	*
Zunahme BMI in SS [kg/m ²]	4,6 ± 1,5	4,6 ± 2,7	3,8 ± 1,6	6,4 ± 3,9	3,5 ± 1,7	4,5 ± 1,8	3,1 ± 1,6*	-
Zunahme BMI in SS [%]	21,5 ± 6,9	16,84 ± 9,5	14,0 ± 6,0 *	18,4 ± 9,7	10,02 ± 5,6 *#	13,7 ± 4,4	8,6 ± 5,7 *°	*
Mittlerer RR systolisch [mmHg]	111,3 ± 7,6	115,8 ± 7,9 (n=15)	115,9 ± 8,8	115,3 ± 5,6 (n=4)	120,0 ± 9,2 *	116,7 ± 10,0	121,4 ± 9,2 *	*
Mittlerer RR diastolisch [mmHg]	68,1 ± 5,3	70,2 ± 4,6 (n=15)	69,5 ± 4,9	72,3 ± 3,8 (n=4)	76,3 ± 7,5 *#	74,2 ± 10,1	77,2 ± 6,8 *+	*
Proteinurie [%]	12,5	26,7	36,4	0,0 (n=4)	40,0	33,3	42,9	-
Gravida [Anzahl]	2,3 ± 1,2	2,1 ± 1,0	2,1 ± 0,9	2,0 ± 1,2	2,8 ± 2,0	4,3 ± 3,2	2,1 ± 0,9	-
Para [Anzahl]	2,0 ± 1,1	1,8 ± 0,9	1,7 ± 0,6	1,8 ± 1,3	2,4 ± 1,2	3,3 ± 1,5	2,0 ± 0,8	-
Para [Anteil an Gravida in %]	92,6 ± 15,9	88,0 ± 19,2	87,1 ± 18,7	90,0 ± 22,4	93,0 ± 15,0	87,5 ± 21,7	95,2 ± 12,6	-
Aborte [Anzahl]	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,5	0,4 ± 0,5	0,2 ± 0,4	0,4 ± 1,0	1,0 ± 1,7	0,1 ± 0,4	-

Aborte [Anteil an Gravida in %]	7,4 ± 15,9	12,0 ± 19,2	12,9 ± 18,8	10,0 ± 22,4	7,1 ± 15,0	12,5 ± 21,7	4,8 ± 12,6	-
Sectiones [Anzahl]	1,8 ± 1,0	1,6 ± 0,9	1,6 ± 0,7	1,8 ± 1,3	1,7 ± 0,8	1,3 ± 0,6	1,9 ± 0,9	
Per Sectio geborene Kinder [%]	92,2 ± 16,4	93,8 ± 17,1	90,9 ± 20,2	100 ± 0,0	78,7 ± 29,7	45,6 ± 23,6 *+•°	92,8 ± 18,9	*

Tabelle 3: Angaben zur Mutter nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (Normalgewicht); # = zur Gruppe 2 (Übergewicht); + = zur Untergruppe der Gruppe 2 ohne GDM; ° zur Untergruppe der Gruppe 2 mit GDM; • = zur Untergruppe der Gruppe 3 mit GDM.

	BMI <25 ohne GDM (Gruppe 1) (n=24)	BMI ≥25 ohne GDM (Gruppe 4) (n=14)	BMI ≥25 mit GDM (Gruppe 5) (n=12)	P-Werte
Alter [Jahre]	32,7 ± 5,6	31,9 ± 6,4	32,6 ± 5,9	-
BMI Beginn d. SS [kg/m ²]	21,4 ± 1,8	28,4 ± 2,6 *	33,9 ± 7,2 *#	*
BMI Ende d. SS [kg/m ²]	26,6 ± 2,5	32,4 ± 3,4 *	38,2 ± 6,6 *#	*
Zunahme BMI in SS [kg/m ²]	4,6 ± 1,5	4,0 ± 1,6	4,3 ± 2,8	-
Zunahme BMI in SS [%]	21,5 ± 6,9	14,0 ± 5,5 *	13,8 ± 9,7 *	*
Mittlerer RR systolisch [mmHg]	111,3 ± 7,6	116,1 ± 8,7	119,3 ± 8,0 *	*
Mittlerer RR diastolisch [mmHg]	68,1 ± 5,2	70,5 ± 6,2	75,6 ± 5,9 *#	*
Proteinurie [%]	12,5	35,7	27,3	-
Gravida [Anzahl]	2,3 ± 1,3	2,6 ± 1,8	2,1 ± 1,0	-
Para [Anzahl]	2,0 ± 1,1	2,1 ± 1,1	1,8 ± 0,9	-
Para [Anteil an Gravida in %]	92,6 ± 15,9	87,2 ± 18,5	93,1 ± 16,6	-
Aborte [Anzahl]	0,2 ± 0,4	0,5 ± 0,9	0,2 ± 0,4	-
Aborte [Anteil an Gravida in %]	7,4 ± 15,9	12,8 ± 18,5	6,9 ± 16,6	-
Sectiones [Anzahl]	1,8 ± 1,0	1,5 ± 0,7	1,8 ± 1,0	-
Per Sectio geborene Kinder [%]	92,2 ± 16,4	81,2 ± 27,8	95,8 ± 14,4	-

Tabelle 4: Angaben zur Mutter nach GDM. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (BMI <25 ohne GDM); # = zur Gruppe 4 (BMI ≥25 ohne GDM)

4.1.2. Angaben zu den Neugeborenen

Der Anteil an weiblichen und männlichen Neugeborenen war in allen Gruppen annähernd gleich. Alle Kinder wurden durchschnittlich in der 40. SSW geboren. Der APGAR-Score, welcher den klinischen Zustand des Neugeborenen beurteilt, lag in allen Gruppen im oberen Bereich (Tabellen 5 und 7).

Die Kinder der adipösen Frauen (Gruppe 3) waren signifikant schwerer als die der Kontrollgruppe (Gruppe 1; p-Wert 0,000) und der übergewichtigen Frauen (Gruppe 2; p-Wert 0,003), wobei die Neugeborenen unter mütterlicher Adipositas auch etwas größer waren (Signifikanz zwischen Gruppe 1 und 3; p-Wert 0,011). Der Unterschied im fetalen Geburtsgewicht zeigte sich auch zwischen den normalgewichtigen (Gruppe 1) und übergewichtigen (Gruppe 2) Patientinnen, allerdings ohne statistische Signifikanz (p-Wert 0,56; Tabelle 5).

Die Frauen mit erhöhtem BMI (Gruppe 2 und 3) brachten im Vergleich zu normalgewichtigen Frauen (Gruppe 1) signifikant häufiger Kinder mit einem Geburtsgewicht über der 90. Perzentile (LGA) zur Welt (p-Wert 0,002 im exakten Test nach Fisher). Im Gegensatz dazu bekamen die Frauen der Kontrollgruppe (Gruppe 1) häufiger Kinder mit einem Geburtsgewicht unter der 10. Perzentile (SGA) als die Frauen der Gruppe 2 und 3. Bei einem maternalen BMI von $>30 \text{ kg/m}^2$ (Gruppe 3) trat häufiger als in Gruppe 1 und 2 eine respiratorische Anpassungsstörung des Neugeborenen auf, bei Vorliegen eines GDM (Gruppe 5) kam es außerdem im Vergleich zu den Gruppen 1 und 4 vermehrt zu fetalen postpartalen Hypoglykämien (Tabellen 5 und 7).

4.1.3. Plazentamorphologie

Die Plazenten der adipösen Patientinnen (Gruppe 3) waren deutlich schwerer als die der Kontrollgruppe (Gruppe 1; p-Wert 0,004; Tabelle 6). Zudem nahm das durchschnittliche Gewicht der Plazenta nochmals zu, wenn zusätzlich zum maternalen Übergewicht oder zur maternalen Adipositas noch ein GDM vorlag (Gruppe 5; Tabelle 8).

Bei der Insertion der Nabelschnur zeigten sich zwischen den Gruppen keine nennenswerten Unterschiede.

	Normalgewicht (Gruppe 1)	Übergewicht (Gruppe 2)			Adipositas (Gruppe 3)			P- Werte
	(n=24)	Gesamt (n=16)	ohne GDM (n=11)	mit GDM (n=5)	Gesamt (n=10)	ohne GDM (n=3)	mit GDM (n=7)	
männlich [%]	54,2	50,0	45,5	60,0	50,0	66,7	42,9	-
weiblich [%]	45,8	50,0	54,5	40,0	50,0	33,3	57,1	-
Gestationsalter Entbindung [Wochen]	39,2 ± 0,5	39,0 ± 0,8	39,0 ± 0,9	39,1 ± 0,4	39,2 ± 0,7	39,6 ± 0,5	39,1 ± 0,8	-
Geburtsgewicht [g]	3333,7 ± 321,2	3418,1 ± 470,7	3353,6 ± 504,4	3560,0 ±397,6	3992,0 ± 336,5 *#	4203,3 ± 444,1 *+	3901,4 ± 268,8 *	*
Geburtsgewicht (Perzentile)	42,3 ± 25,1	52,6 ± 29,3	49,0 ± 30,7	60,6 ± 27,4	85,6 ± 11,5 *#	90,3 ± 11,0 *+	83,6 ± 11,9 *+	*
SGA [%]	16,7	6,3	9,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-
LGA [%]	0,0	6,3	9,1	0,0	40,0	66,7	28,6	*
Geburtslänge [cm]	51,4 ± 2,1	51,6 ± 2,8	51,6 ± 2,5	51,6 ± 3,7	53,3 ± 1,2 *	54,7 ± 0,6 **•	52,7 ± 0,8	*
APGAR nach 1 Min.	8,6 ± 0,8 (n=23)	9,1 ± 0,8 (n=11) *	8,9 ± 0,8 (n=8)	9,7 ± 0,6 (n=3) *	8,6 ± 1,5 (n=8)	9,3 ± 5,7	8,2 ± 1,8 (n=5)	*
APGAR nach 5 Min.	9,6 ± 0,8 (n=23)	9,8 ± 0,8	9,7 ± 0,9	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,3	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,4	*
APGAR nach 10 Min.	9,9 ± 0,3 (n=23)	9,9 ± 0,5	9,8 ± 0,6	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,3	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,4	-
Fehlbildung [%]	4,2	18,8	18,2	20,0	0,0	0,0	0,0	-

postpartale Hypoglykämie [%]	0,0	6,3	0,0	20,0	10,0	0,0	14,3	-
respiratorische Anpassungsstörung [%]	0,0	0,0	0,0	0	10,0	0,0	14,3	-

Tabelle 5: Angaben zum Kind nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (Normalgewicht); # = zur Gruppe 2 (Übergewicht); + = zur Untergruppe der Gruppe 2 ohne GDM; ° zur Untergruppe der Gruppe 2 mit GDM; • = zur Untergruppe der Gruppe 3 (Adipositas) mit GDM.

	Normalgewicht (Gruppe 1)	Übergewicht (Gruppe 2)			Adipositas (Gruppe 3)			P- Werte
	(n=24)	Gesamt (n=16)	ohne GDM (n=11)	mit GDM (n=5)	Gesamt (n=10)	ohne GDM (n=3)	mit GDM (n=7)	
Gewicht [g]	674,8 ± 104,4	685,1 ± 148,4	673,5 ± 148,9	710,6 ± 1861,1	796,7 ± 109,9 *	829,5 ± 151,9	782,6 ± 98,2*	*
Insertion der Nabelschnur								
Zentral [%]	52,1 (n=23)	43,8	45,5	40,0	44,4 (n=9)	33,3	50,0 (n=6)	-
Peripher [%]	47,8 (n=23)	56,3	54,5	60,0	55,5 (n=9)	66,7	50,0 (n=6)	-

Tabelle 6: Angaben zur Plazenta nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (Normalgewicht).

	BMI <25 ohne GDM (Gruppe 1) (n=24)	BMI ≥25 ohne GDM (Gruppe 4) (n=14)	BMI ≥25 mit GDM (Gruppe 5) (n=12)	P-Werte
männlich [%]	54,2	50,0	50,0	-
weiblich [%]	45,8	50,0	50,0	-
Gestationsalter bei Entbindung [Wochen]	39,2 ± 0,5	39,1 ± 0,9	39,1 ± 0,6	-
Geburtsgewicht [g]	3333,7 ± 321,2	3535,7 ± 597,5	3759,2 ± 357,5 *	*
Geburtsgewicht (Perzentile)	42,3 ± 25,1	57,9 ± 32,4	74,0 ± 22,2 *	*
SGA [%]	16,7	7,1	0,0	-
LGA [%]	0,0	21,4	16,7	*
Geburtslänge [cm]	51,4 ± 2,1	52,2 ± 2,5	52,3 ± 2,3	-
APGAR nach 1 Min.	8,6 ± 0,8 (n=23)	9,0 ± 0,8 (n=11)	8,8 ± 1,6 (n=8)	-
APGAR nach 5 Min.	9,6 ± 0,8 (n=23)	9,8 ± 0,8	9,9 ± 0,3	-
APGAR nach 10 Min.	9,9 ± 0,3 (n=23)	9,9 ± 0,5	9,9 ± 0,3	-
Fehlbildung [%]	4,2	14,3	8,3	-
postpartale Hypoglykämie [%]	0,0	0,0	16,7	*
respiratorische Anpassungsstörung [%]	0,0	0,0	8,3	-

Tabelle 7: Angaben zum Kind nach GDM. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (BMI <25 ohne GDM).

	BMI <25 ohne GDM (Gruppe 1) (n=24)	BMI ≥25 ohne GDM (Gruppe 4) (n=14)	BMI ≥25 mit GDM (Gruppe5) (n=12)	P-Werte
Gewicht [g] Insertion der Nabelschnur	674,8 ± 104,4	706,9 ± 158,2	752,6 ± 126,7	-
Zentral [%]	52,1 (n=23)	42,9	45,5 (n=11)	-
Peripher [%]	47,8 (n=23)	57,1	54,6 (n=11)	-

Tabelle 8: Angaben zur Plazenta nach GDM. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (BMI <25 ohne GDM).

4.1.4. HbA1c und Nüchtern-Blutzucker

Die Auswertung der Blutuntersuchung ergab, dass der HbA1c der übergewichtigen und adipösen Patientinnen mit GDM (Gruppe 5) vor der Sectio im Vergleich zu den Patientinnen der Kontrollgruppe (Gruppe 1) signifikant erhöht war (p-Wert 0,018), nicht aber im Vergleich zu den ebenfalls übergewichtigen und adipösen Patientinnen ohne GDM (Gruppe 4) (Tabelle 10). Es lagen 30% aller Werte innerhalb des Bereichs des sogenannten „Prädiabetes“ (5,7%-6,4%). Diese kamen zu gleichen Anteilen aus den Gruppen 4 und 5, und auch aus der Kontrollgruppe (Gruppe 1) lagen 2 Patientinnen an der unteren Grenze dieses Bereichs. Kein Wert war höher als 6,5%. Auch der Nüchtern-Blutzucker stieg bei erhöhtem maternalen BMI und Vorliegen eines GDM (Gruppe 5) leicht an, lag aber stets im erwünschten Bereich (<100 mg/dl; Tabelle 10). In den Korrelationsanalysen fand sich eine negative Korrelation zwischen dem maternalen Nüchtern-Blutzucker vor der Sectio und den fetalen IL-6 Werten aus dem unmittelbar nach Sectio entnommenen Nabelschnurblut (Spearman's Rho -0,785, p-Wert 0,000; Abb. 4).

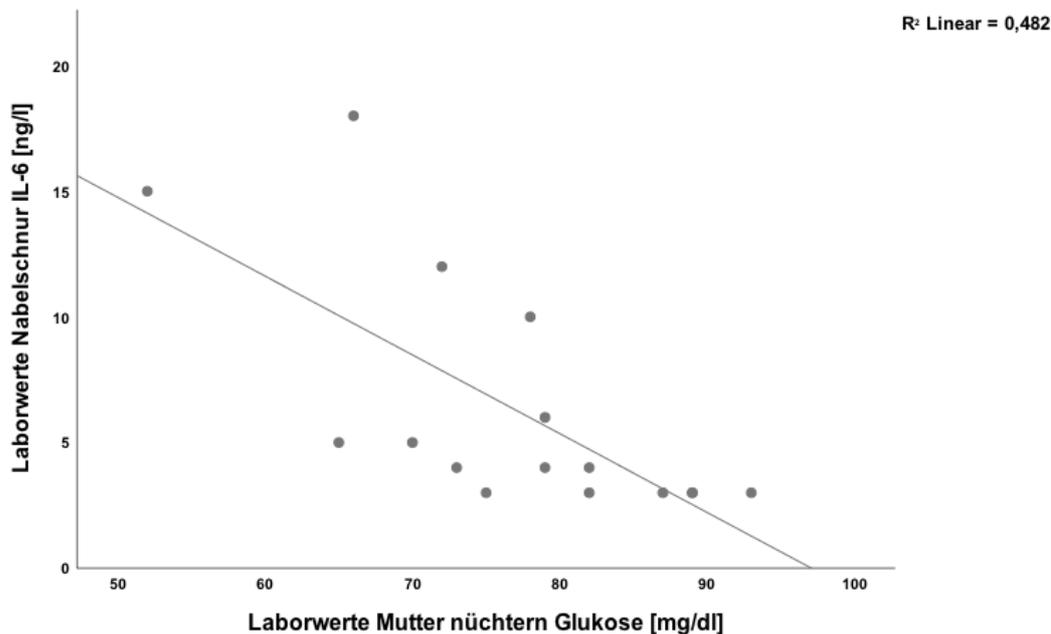


Abbildung 4: Korrelation zwischen der IL-6 Konzentration und dem maternalen Nüchtern-Blutzucker Die Korrelation nach Spearman's Rho der IL-6 Werte im Nabelschnurblut und des maternalen Nüchtern-Blutzuckers vor der Sectio ergab einen signifikanten negativen Zusammenhang: Je höher der Nüchtern-Blutzucker der Mutter vor der Sectio war, desto niedriger war die gemessene Menge von Interleukin-6 im Nabelschnurblut.

4.1.5. Entzündungswerte in maternalem und fetalem Plasma

Bezüglich der Entzündungswerte im maternalen Blut zeigte sich ein leichter Anstieg des IL-6 und des CRP bei übergewichtigen (Gruppe 2) und adipösen Frauen (Gruppe 3) im Vergleich zu normalgewichtigen Frauen (Gruppe 1). Dabei lagen die CRP-Werte der übergewichtigen und adipösen Patientinnen im Durchschnitt oberhalb des Normalbereichs, sprechen aber maximal für einen leichten entzündlichen Prozess. Die IL-6-Werte lagen meist im Normbereich (Tabellen 9 und 10). Nicht in den Mittelwert eingeflossen sind die Werte, die unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Diese kamen zu je 40% aus der Gruppe 1 und der Gruppe 2 sowie zu 20% aus Gruppe 3.

Die Ergebnisse der fetalen Blutuntersuchungen wiesen keine nennenswerten Unterschiede auf (Tabellen 9 und 10). Bei der Messung von IL-6 im Nabelschnurblut lagen insgesamt 18,9% der Werte über 7ng/l, über die Hälfte hiervon kamen aus der Kontrollgruppe (Gruppe 1). Zwischen den maternalen und fetalen IL-6-Werten zeigte sich keine Korrelation (SpearmanRho -0,241; $p= 0,406$), ebenso wenig zwischen den fetalen IL-6- und CRP-Werten und dem Geburtsgewicht der Kinder.

	Normalgewicht (Gruppe 1)	Übergewicht (Gruppe 2) (n=16)			Adipositas (Gruppe 3) (n=10)			P- Werte
	(n=24)	Gesamt (n=16)	ohne GDM (n=11)	mit GDM (n=5)	Gesamt (n=10)	ohne GDM (n=3)	mit GDM (n=7)	
Maternales Nüchtern-Plasma								
Glucose [mg/dl]	71,0 ± 12,3 (n=8)	77,9 ± 10,0 (n=8)	74,6 ± 8,2 (n=5)	83,3 ± 11,9 (n=3)	76,6 ± 10,2 (n=5)	77,0 ± 17,0 (n=2)	76,3 ± 8,1 (n=3)	-
Hba1C [%] ++	5,3 ± 0,3 (n=19)	5,6 ± 0,3 (n=13)*	5,5 ± 0,3 (n=9)	5,8 ± 0,3 (n=4)*	5,6 ± 0,5 (n=8)	5,4 ± 0,3	5,6 ± 0,7 (n=5)	*
CRP [mg/l]	4,0 ± 3,8 (n=8)	9,3 ± 18,7 (n=8)	13,4 ± 23,6 (n=5)	2,4 ± 1,0 (n=3)	7,5 ± 8,3 (n=4)	9,2 (n=1)	6,2 ± 4,2 (n=2)	-
IL-6 [ng/l]	3,8 ± 1,2 (n=6)	3,7 ± 1,6 (n=6)	3,0 ± 1,4 (n=4)	5,0 ± 1,4 (n=2)	7,5 ± 8,3 (n=4)	20,0 (n=1)	3,3 ± 0,6 (n=3)	-
Nabelschnurplasma								
Glucose [mg/dl]	58,0 ± 14,9 (n=19)	62,7 ± 10,1 (n=13)	60,8 ± 10,7 (n=9)	71,0 ± 1,0 (n=3)	43,1 ± 17,3 (n=9)	69,3 ± 1,2 (n=3)	61,0 ± 22,2 (n=5)	-
IL-6 [ng/l]	6,00 ± 4,7 (n=17)	4,8 ± 2,5 (n=8)	5,3 ± 2,7 (n=6)	3,0 ± 0,0 (n=2)	6,7 ± 6,1 (n=6)	5,7 ± 3,1 (n=3)	7,7 ± 9,0 (n=3)	-

Tabelle 9: maternale und fetale Laborwerte nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (Normalgewicht). ++ aus EDTA Blut gemessen.

	BMI <25 ohne GDM (Gruppe 1) (n=24)	BMI ≥25 ohne GDM (Gruppe 4) (n=14)	BMI ≥25 mit GDM (Gruppe 5) (n=12)	P-Werte
Maternales Nüchtern-Plasma				
Glukose [mg/dl]	71 ± 12,3 (n=8)	75,3 ± 9,7 (n=7)	79,8 ± 9,9 (n=6)	-
Hba1C [%] ++	5,3 ± 0,3 (n=19)	5,5 ± 0,3 (n=12)	5,7 ± 0,5 (n=9) *	*
CRP [mg/l]	4,0 ± 3,8 (n=8)	12,7 ± 21,2 (n=6)	3,9 ± 3,0 (n=5)	-
IL-6 [ng/l]	3,8 ± 1,2 (n=6)	6,4 ± 7,7 (n=5)	4,0 ± 1,2 (n=5)	-
Nabelschnurplasma				
Glucose [mg/dl]	58,0 ± 14,9 (n=19)	62,9 ± 9,9 (n=12)	63,7 ± 16,7 (n=9)	-
Il-6 [ng/l]	6,00 ± 4,7 (n=17)	5,4 ± 2,7 (n=9)	5,8 ± 6,8 (n=5)	-

Tabelle 10: maternale und fetale Laborwerte nach GDM. Zu sehen sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein * unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen signifikante Unterschiede bestehen ($p \leq 0,05$). Ein – unter P-Werte zeigt an, dass zwischen den Gruppen im t-Test, im Mann Whitney U Test oder im exakten Test nach Fisher keine signifikanten Unterschiede bestehen. Hinter den einzelnen Werten der Tabelle wird angegeben, im Vergleich zu welcher Gruppe ein signifikanter Unterschied besteht: * = zur Gruppe 1 (BMI <25 ohne GDM). ++ aus EDTA Blut gemessen.

4.2. Untersuchung von AJ-assoziierten Transmembranproteinen in den Plazenten und deren Korrelation mit Entzündungsmarkern im maternalen und fetalen Plasma sowie dem fetalen Geburtsgewicht

Es wurden von den 50 Plazentaprobe insgesamt 21 Proben ausgewählt, jeweils 7 aus der Kontrollgruppe (Gruppe 1), 8 aus der Übergewicht-Gruppe (Gruppe 2) und 6 aus der Adipositas-Gruppe (Gruppe 3). Die Auswahl erfolgte per Zufallsgenerator, allerdings wurden gezielt alle drei Proben ohne GDM aus der Adipositas-Gruppe eingeschlossen. Somit waren ebenfalls 7 Proben mit GDM (Gruppe 5) und 7 Proben mit einem BMI >25kg/m² aber ohne GDM (Gruppe 4) im Western Blot vertreten. Für die Analysen wurde der villöse Anteil der zentral entnommenen Gewebeprobe herangezogen.

4.2.1. E-Cadherin

Die densitometrische Auswertung der Banden im Vergleich zum Abgleichprotein β -Actin ergab signifikante Unterschiede in der vorhandenen relativen Proteinmenge an E-Cadherin in den Plazenten in Abhängigkeit vom BMI vor der Schwangerschaft sowie dem Vorhandensein eines GDM. E-Cadherin war in den Plazenten der übergewichtigen und adipösen Gruppe ohne GDM (Gruppe 4) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1) signifikant erhöht. Das zusätzliche Vorhandensein eines GDM (Gruppe 5) führte hingegen zu einer signifikanten Abnahme von E-Cadherin sowohl verglichen mit der Kontrollgruppe (Gruppe 1) als auch mit der Gruppe 4 (Abb. 5). Die genannten Veränderungen zeigten sich auch bei weiterer Aufteilung der Gruppen 2 und 3 nach BMI und GDM (Abb. 5b). Bei reinem Vergleich der Gruppen 1, 2 und 3 ohne Berücksichtigung des Vorliegens eines GDM, also einem Vergleich nur nach maternalem BMI, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (ohne Abb.).

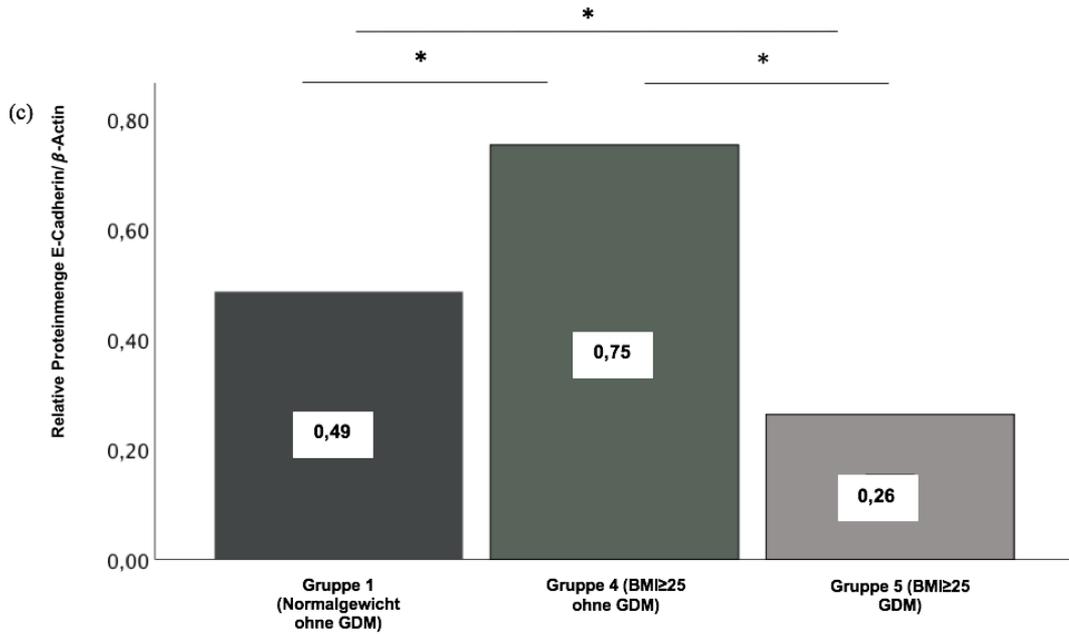
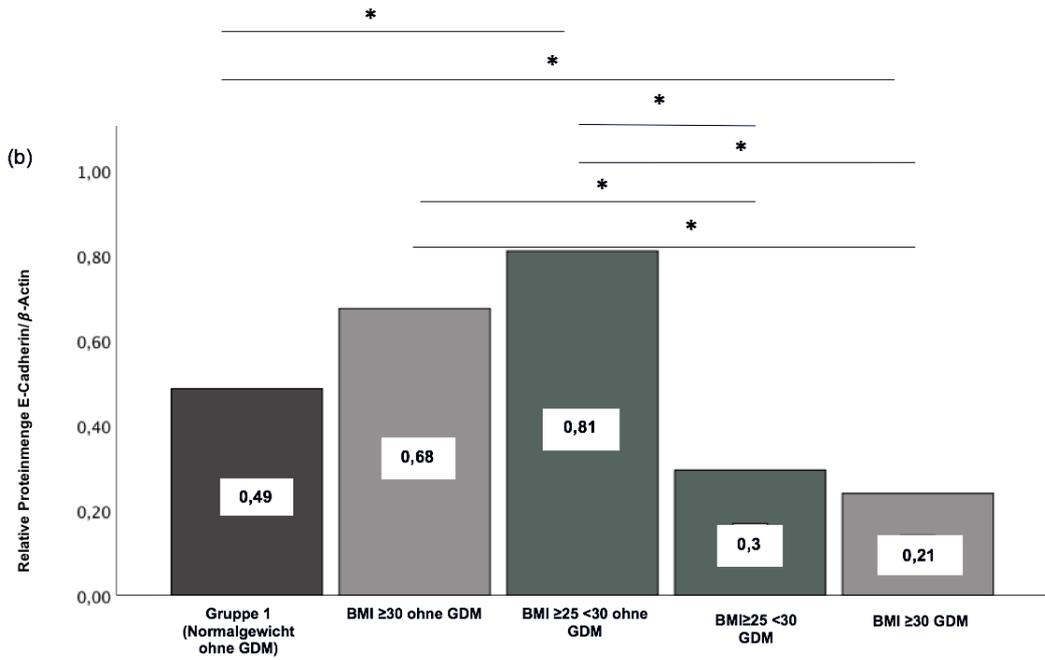
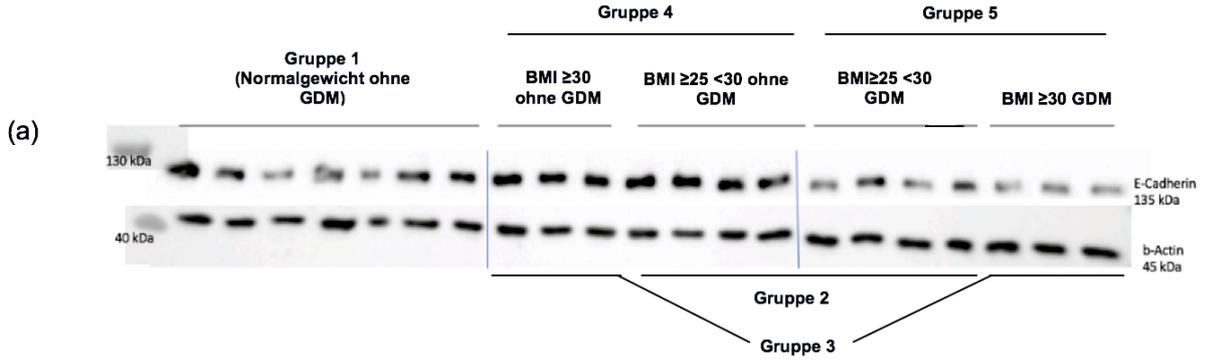


Abbildung 5: Proteinlevel von E-Cadherin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen
Ergebnisse der Western-Blot-Analyse des Proteinlevels von E-Cadherin (135 kDa) mit β -Actin (45 kDa) als Abgleich aus Plazentalysaten (zentral,villös) (a). Analyse von Plazenten von Frauen verschiedener Gewichtsgruppen: Normalgewicht (Gruppe1) n=7; Adipositas ohne GDM n=3, Übergewicht ohne GDM n=4; Übergewicht mit GDM n=4; Adipositas mit GDM n=3. Die Graphen zeigen die Ergebnisse der densitometrischen Auswertung der Western Blots für E-Cadherin normalisiert auf β -Actin aufgeteilt nach (b) Normalgewicht (Gruppe 1), Übergewicht (Gruppe 2) und Adipositas (Gruppe 3) und zusätzlich Vorliegen oder Abwesenheit eines GDM und (c) jeder BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ohne GDM (Gruppe 4) bzw. mit GDM (Gruppe 5) verglichen mit der Gruppe 1 (BMI<25 ohne GDM). Angaben der relativen Proteinmenge (E-Cadherin/ β -Actin) als Mittelwert. Signifikante Unterschiede (*) wurden angenommen bei $p \leq 0,05$.

Zwischen den E-Cadherin-Werten in der Plazenta und den Entzündungsparametern im fetalen und maternalen Blut fanden sich keine Korrelationen. Auch das Geburtsgewicht der Neugeborenen korrelierte nicht mit der E-Cadherin Menge in der Plazenta (ohne Abb.).

Abbildung 6 zeigt zur Darstellung der Lokalisation von E-Cadherin exemplarisch einen Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung einer Plazenta der Gruppe 2.

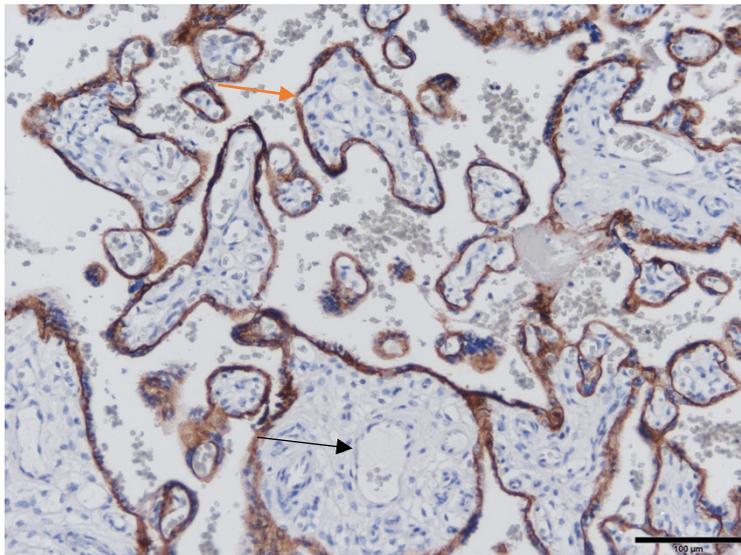
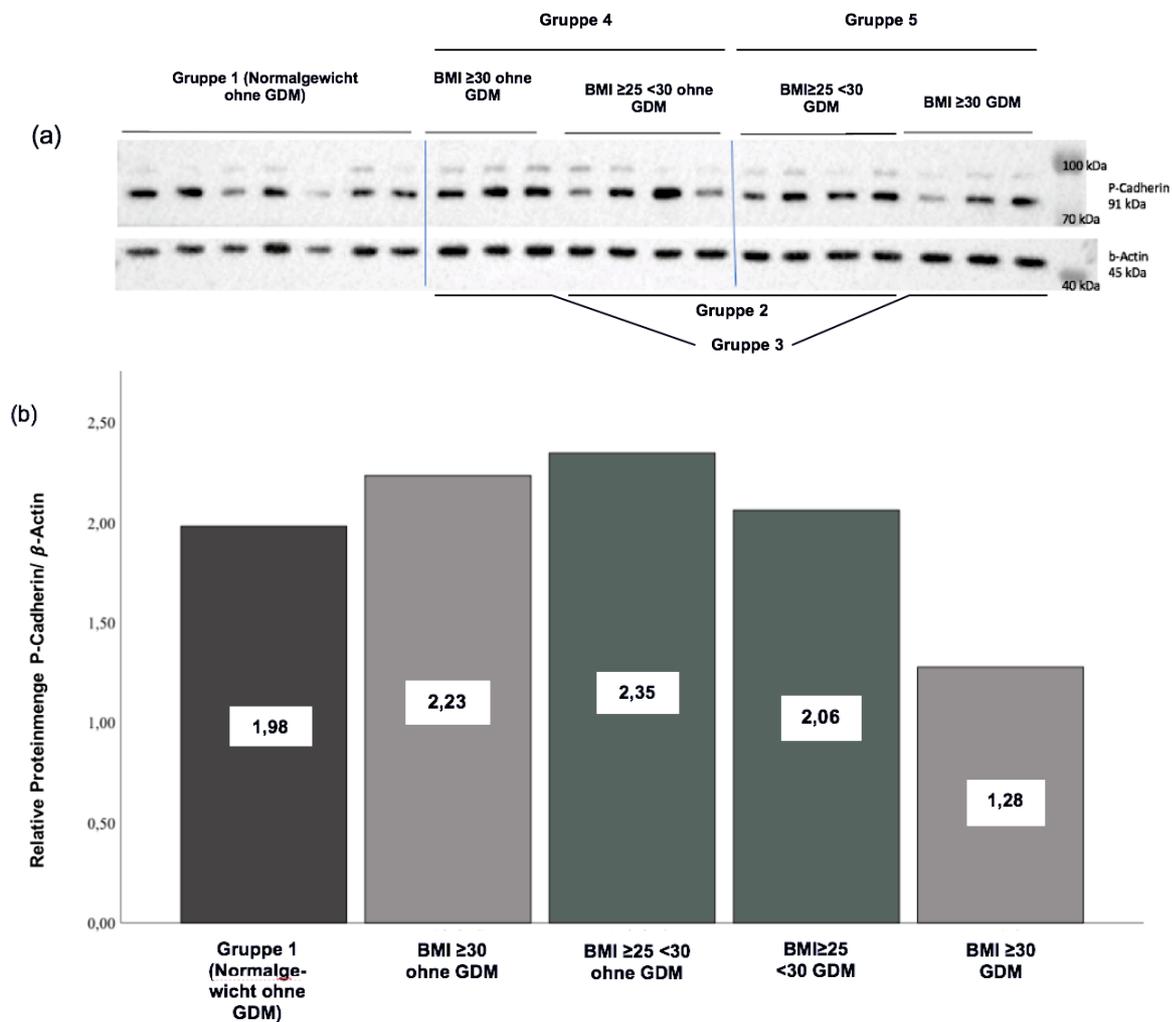


Abbildung 6: Exemplarischer Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung zur Darstellung der Lokalisation von E-Cadherin in der humanen Plazenta. Zentral entnommene Gewebeprobe einer Plazenta der Gruppe Übergewicht ohne GDM. Zu sehen sind Plazentazotten mit fetalen Kapillaren (schwarzer Pfeil) und Mesenchymzellen (gebläute Kerne), umgeben von den Synzytiotrophoblasten und Zytotrophoblasten, welche mit dem E-Cadherin-Antikörper braun angefärbt wurden (orangener Pfeil). Größenbalken: $100 \mu\text{m}$

4.2.2. P-Cadherin

Wie in Abb. 7 zu sehen ist, zeigte sich eine ähnliche Verteilung der relativen Proteinmenge an P-Cadherin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen wie E-Cadherin, mit einem leichten Anstieg der Proteinmenge in den Plazenten der übergewichtigen und adipösen Patientinnen ohne GDM (Gruppe 4) sowie einer Verringerung bei zusätzlichem Vorhandensein eines GDM (Gruppe 5) im Vergleich zur Gruppe 1 und 4 (Abb.7). Allerdings waren die Unterschiede statistisch nicht signifikant. Auch bei Vergleich der plazentaren P-Cadherin Menge in Abhängigkeit des maternalen BMI zeigte keine signifikanten Unterschiede (ohne Abb.), auch nicht nach zusätzlicher Einteilung von Gruppe 2 und 3 nach Vorliegen eines GDM (Abb. 7).



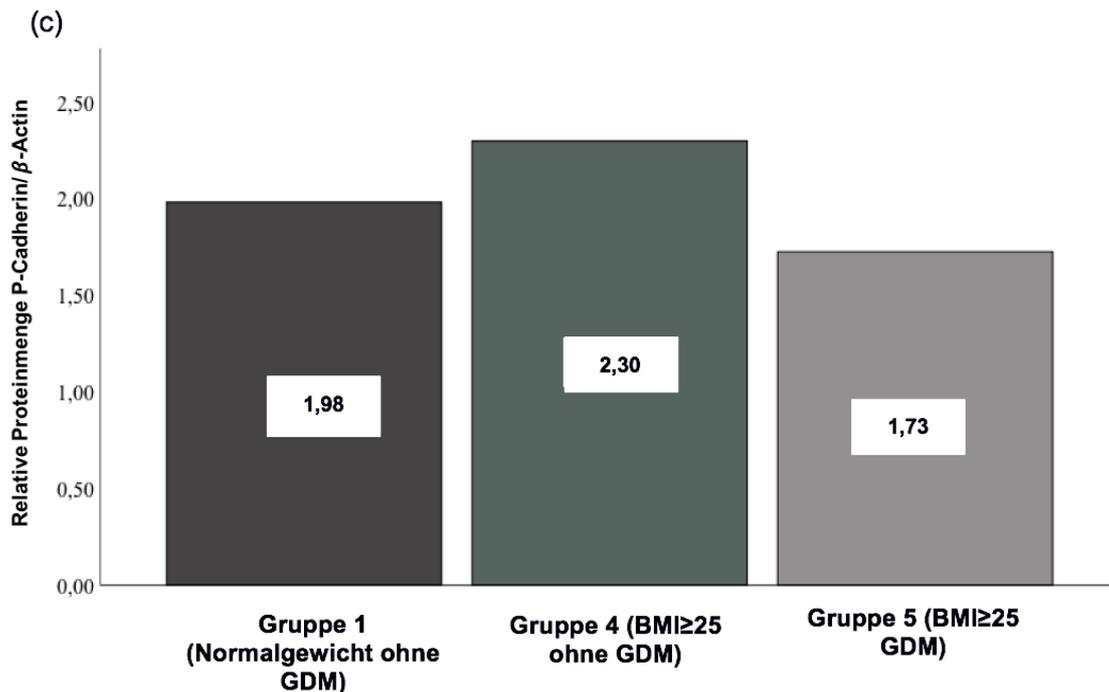


Abbildung 7: Proteinlevel von P-Cadherin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen
 Ergebnisse der Western-Blot-Analyse des Proteinlevels von P-Cadherin (91 kDa) mit β -Actin (45 kDa) als Abgleich aus Plazentalysaten (zentral,villös) (a). Analyse von n Plazenten von Frauen verschiedener Gewichtsgruppen: Normalgewicht (Gruppe1) n=7; Adipositas ohne GDM n=3, Übergewicht ohne GDM n=4; Übergewicht mit GDM n=4; Adipositas mit GDM n=3. Die Graphen zeigen die Ergebnisse der densitometrischen Auswertung der Western Blots für P-Cadherin normalisiert auf β -Actin aufgeteilt nach (b) Normalgewicht (Gruppe 1), Übergewicht (Gruppe 2) und Adipositas (Gruppe 3) und zusätzlich Vorliegen oder Abwesenheit eines GDM und (c) jeder BMI ≥ 25 kg/m² ohne GDM (Gruppe 4) bzw. mit GDM (Gruppe 5) verglichen mit der Gruppe 1 (BMI < 25 ohne GDM). Angaben der relativen Proteinmenge (P-Cadherin/ β -Actin) als Mittelwert. Signifikante Unterschiede (*) wurden angenommen bei $p \leq 0,05$.

Korrelationen zwischen der relativen Proteinmenge von P-Cadherin und den Konzentrationen von Entzündungsmarkern in maternalem und fetalem Blut sowie dem Geburtsgewicht der Kinder zeigten sich nicht (ohne Abb.).

4.2.3. VE-Cadherin

Die Ergebnisse der Western Blots mit VE-Cadherin zeigten einen leichten Anstieg der relativen Proteinmenge bei Vorliegen eines GDM (Gruppe 5) im Vergleich zur Gruppe 1 und 4 (Abb. 8), der jedoch nicht signifikant war. Die placentare Proteinmenge von VE-Cadherin zeigte in Abhängigkeit vom BMI der Mutter (Gruppe 2 und 3) ebenfalls keine signifikanten Unterschiede (ohne Abb.), auch nicht bei weiterer Unterteilung von Gruppe 2 und 3 nach Vorliegen eines GDM (Abb. 8)

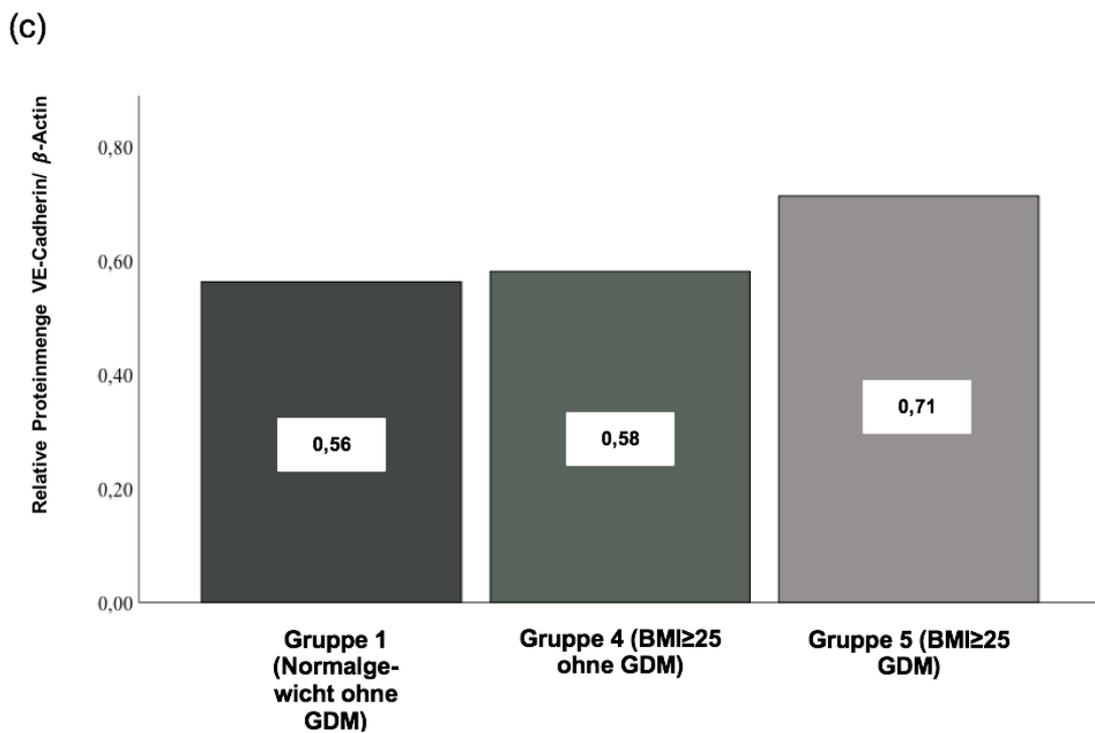
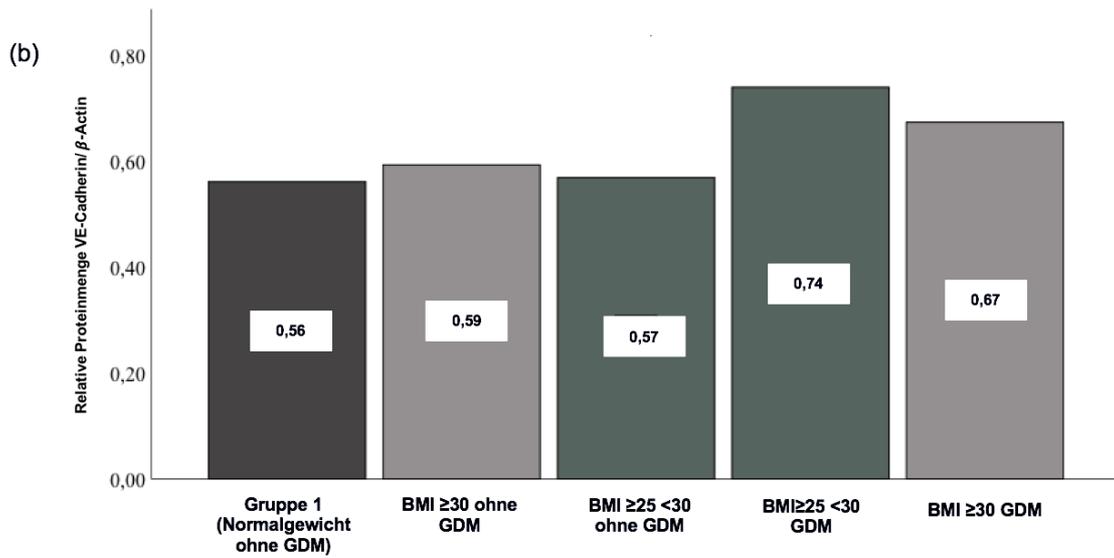
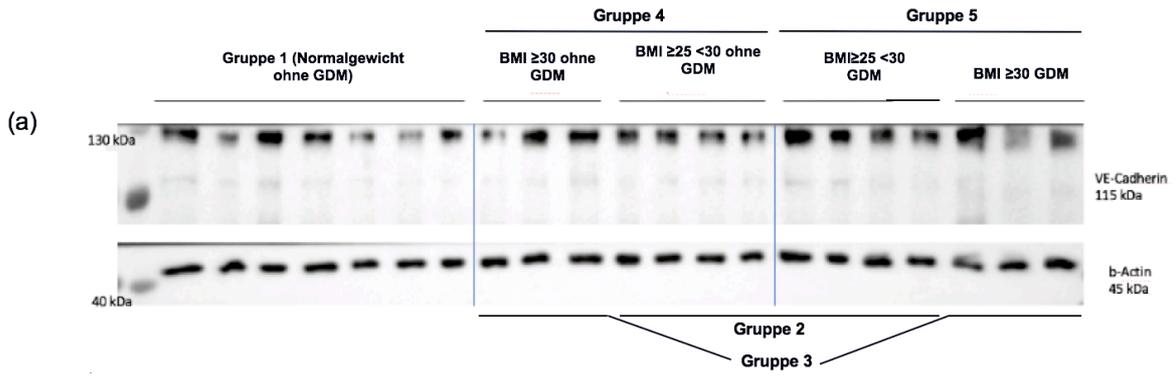


Abbildung 8: Proteinlevel von VE-Cadherin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen
 Ergebnisse der Western-Blot-Analyse des Proteinlevels von VE-Cadherin (115 kDa) mit β -Actin (45 kDa) als Abgleich aus Plazentalysaten (zentral,villös) (a). Analyse von n Plazenten von Frauen verschiedener Gewichtsgruppen: Normalgewicht (Gruppe1) n=7; Adipositas ohne GDM n=3, Übergewicht ohne GDM n=4; Übergewicht mit GDM n=4; Adipositas mit GDM n=3. Die Graphen zeigen die Ergebnisse der densitometrischen Auswertung der Western Blots für VE-Cadherin normalisiert auf β -Actin aufgeteilt nach (b) Normalgewicht (Gruppe 1), Übergewicht (Gruppe 2) und Adipositas (Gruppe 3) und zusätzlich Vorliegen oder Abwesenheit eines GDM und (c) jeder BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ohne GDM (Gruppe 4) bzw. mit GDM (Gruppe 5) verglichen mit der Gruppe 1 (BMI<25 ohne GDM). Angaben der relativen Proteinmenge (VE-Cadherin/ β -Actin) als Mittelwert. Signifikante Unterschiede (*) wurden angenommen bei $p \leq 0,05$.

Die Untersuchung der Korrelation zwischen VE-Cadherin und den Entzündungswerten ergab, dass die relative Proteinmenge an VE-Cadherin in der Plazenta tendenziell zunahm, je mehr IL-6 im mütterlichen Blut vorhanden war (Spearman-Rho 0,543, p-Wert 0,266; ohne Abb.). Je größer wiederum die Menge an VE-Cadherin in der Plazenta, desto niedriger war die IL-6 Konzentration im fetalen Plasma (Spearman-Rho -0,735, p-Wert 0,006; Abb. 9). Ein möglicher Zusammenhang von VE-Cadherin und dem Geburtsgewicht des Kindes war nicht festzustellen (ohne Abb.).

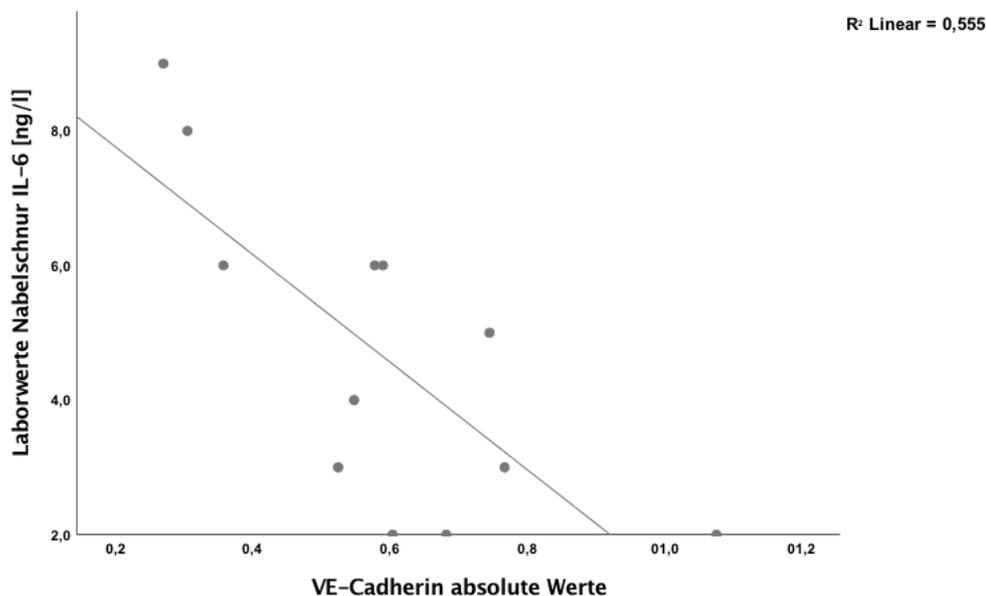


Abbildung 9: Korrelation zwischen der Interleukin-6 Konzentration im Nabelschnurblut und der relativen Proteinmenge von VE-Cadherin in der Plazenta. Die Korrelation nach Spearmans Rho ergab einen signifikanten negativen Zusammenhang: Je weniger VE-Cadherin in der Plazenta nachgewiesen wurde, desto höher war die Konzentration von Interleukin-6 im Nabelschnurblut.

Abb. 10 zeigt einen beispielhaften Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung mit einem gegen VE-Cadherin gerichteten Antikörper einer Plazenta aus der Kontrollgruppe.

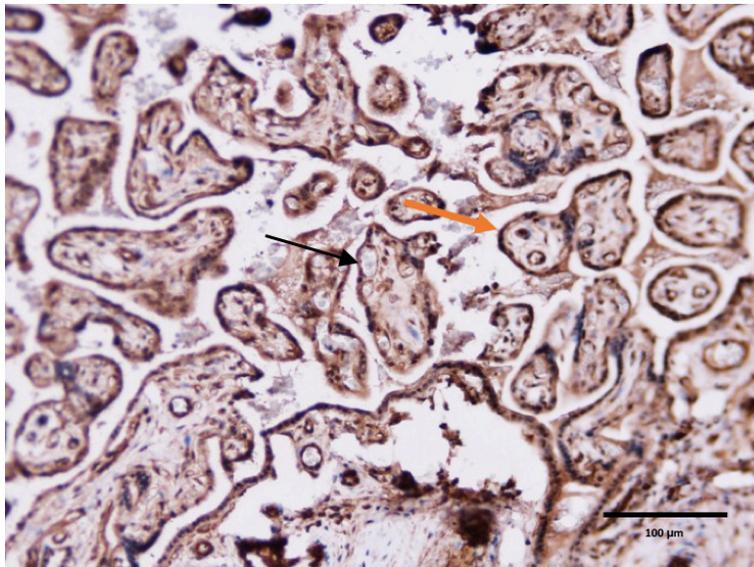


Abbildung 10: Exemplarischer Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung zur Darstellung der Lokalisation von VE-Cadherin in der humanen Plazenta. Zentral entnommener Teil einer Plazenta der Kontrollgruppe. Zu sehen sind Plazentazotten mit fetalen Kapillaren, deren Epithel mit dem VE-Cadherin-Antikörper braun angefärbt wurde (schwarzer Pfeil) und Mesenchymzellen (gebläute Kerne), umgeben von den Synzytiotrophoblasten und Zytotrophoblasten, ebenfalls braun angefärbt mit dem VE-Cadherin- Antikörper (orangener Pfeil).

4.2.4. CD31

Die Plazenten der verschiedenen Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich der relativen Proteinmenge an CD31 nicht signifikant voneinander (Abb.11). Außerdem fand sich keine Korrelation zwischen plazentaren CD31-Proteinleveln und den Entzündungsparametern im maternalen und fetalen Plasma, sowie dem Geburtsgewicht der Kinder (ohne Abb.).

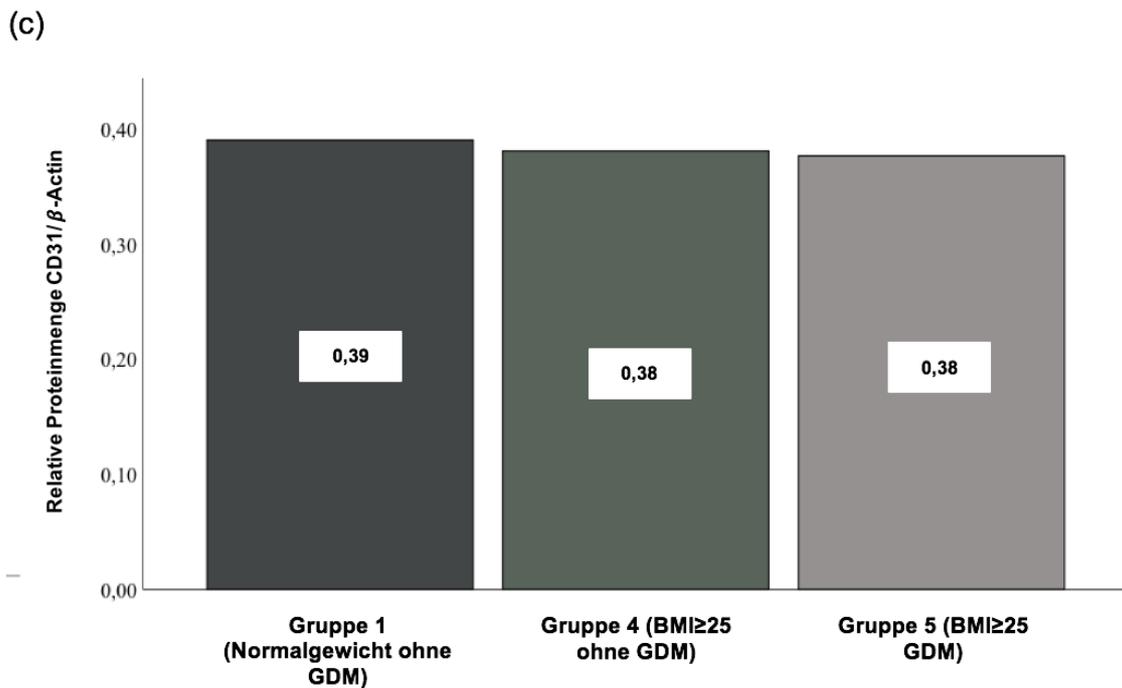
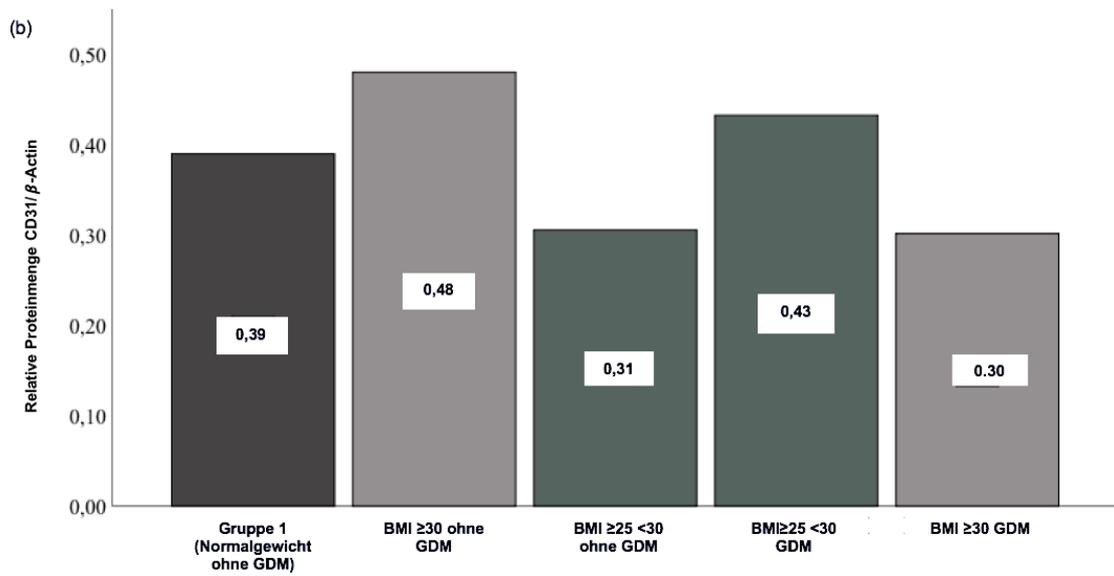
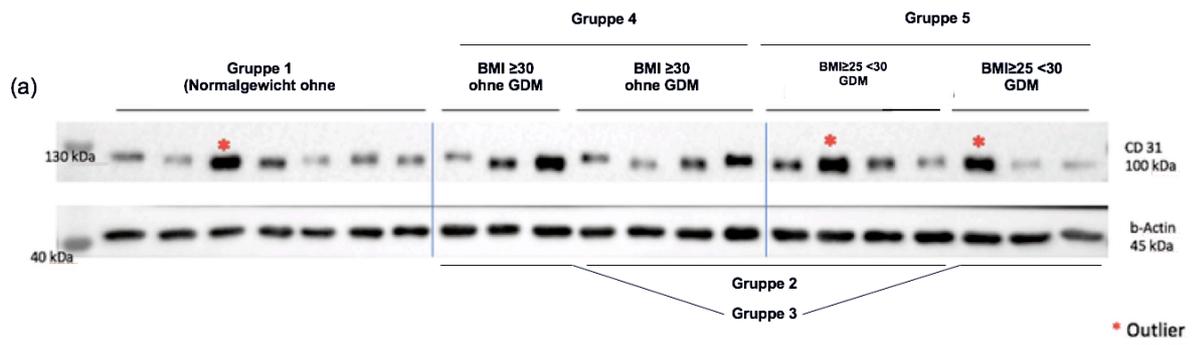


Abbildung 11: Proteinlevel von CD31 in den Plazenten der verschiedenen Gruppen
 Ergebnisse der Western-Blot-Analyse des Proteinlevels von CD31 (100 kDa) mit β -Actin (45 kDa) als Abgleich aus Plazentalysaten (zentral,villös) (a). Analyse von n Plazenten von Frauen verschiedener Gewichtsgruppen: Normalgewicht (Gruppe1) n=7; Adipositas ohne GDM n=3, Übergewicht ohne GDM n=4; Übergewicht mit GDM n=4; Adipositas mit GDM n=3. Die Graphen zeigen die Ergebnisse der densitometrischen Auswertung der Western Blots für CD31 normalisiert auf β -Actin aufgeteilt nach (b) Normalgewicht (Gruppe 1), Übergewicht (Gruppe 2) und Adipositas (Gruppe 3) und zusätzlich Vorliegen oder Abwesenheit eines GDM und (c) jeder BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ohne GDM (Gruppe 4) bzw. mit GDM (Gruppe 5) verglichen mit der Gruppe 1 (BMI<25 ohne GDM). Angaben der relativen Proteinmenge (CD31/ β -Actin) als Mittelwert. Signifikante Unterschiede (*) wurden angenommen bei $p \leq 0,05$. Die signifikante Outlier innerhalb einer Gruppe wurde mit einem roten Stern markiert.

Abb. 12 zeigt einen Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung einer Plazenta aus der Kontrollgruppe mit CD31. Das Vorkommen des Proteins im fetalen Kapillarendothel wird deutlich.

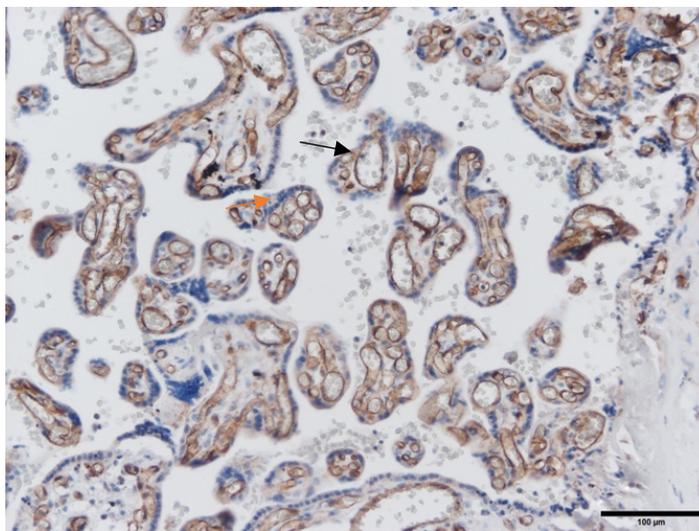


Abbildung 11: Beispielhafter Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung zur Darstellung der Position von CD31 in der humanen Plazenta. Zentral entnommener Teil einer Plazenta der Kontrollgruppe. Zu sehen sind Plazentazotten mit fetalen Kapillaren, deren Epithel mit dem CD31-Antikörper braun angefärbt wurde (schwarzer Pfeil) und Mesenchymzellen (gebläute Kerne), umgeben von den Synzytiotrophoblasten und Zytotrophoblasten (gebläute Kerne; orangener Pfeil). Größenbalken: 100 μm

4.2.5. β -Catenin

Bezüglich des β -Catenins zeigte sich eine leicht verminderte relative Proteinmenge in den Plazenten der übergewichtigen und adipösen Frauen ohne GDM (Gruppe 4) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1), ein leichter Anstieg war dagegen bei den übergewichtigen und adipösen Frauen mit GDM (Gruppe 5) zu erkennen. (Abb. 13). In Abhängigkeit des maternalen BMI (Gruppe 2 und 3) waren keine signifikanten Veränderungen des plazentaren β -Catenins festzustellen (ohne Abb.), auch die

Aufteilung von Gruppe 2 und 3 nach Vorliegen eines GDM zeigte keine signifikanten Unterschiede oder eine eindeutige Tendenz (Abb. 13).

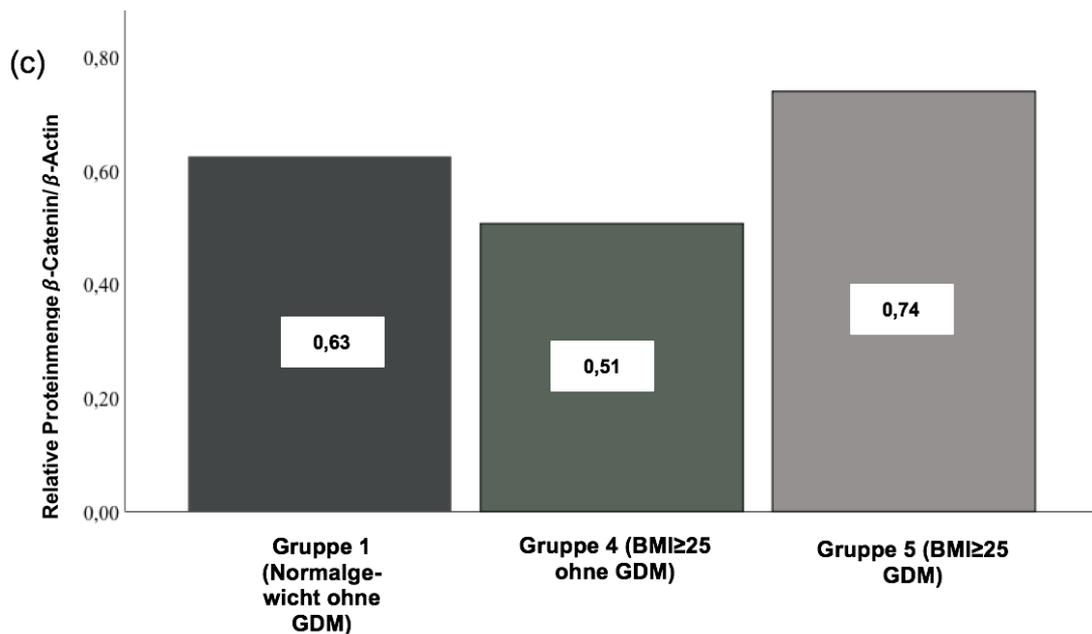
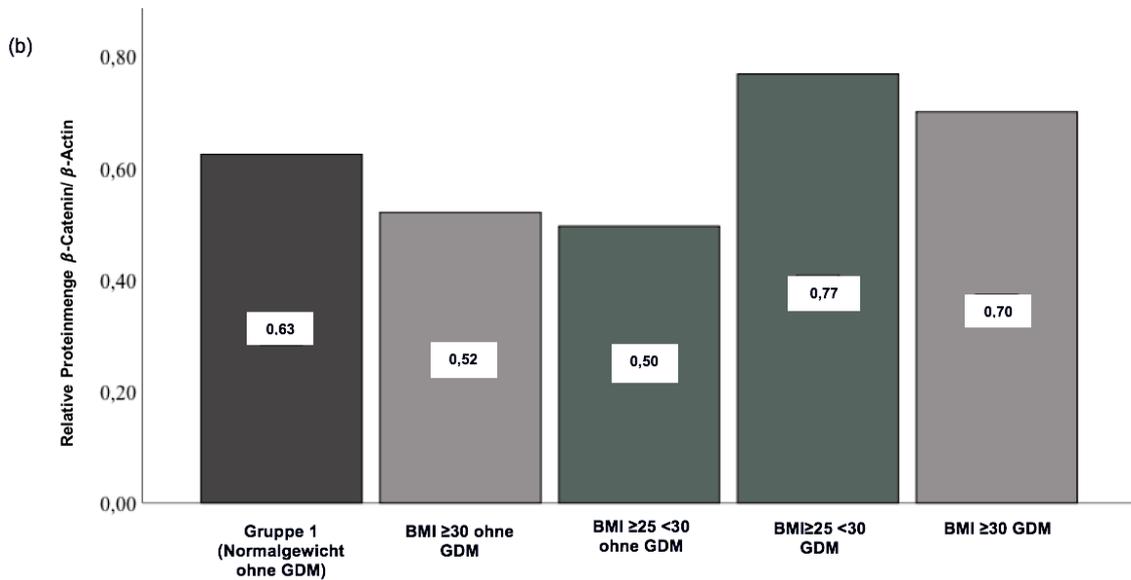
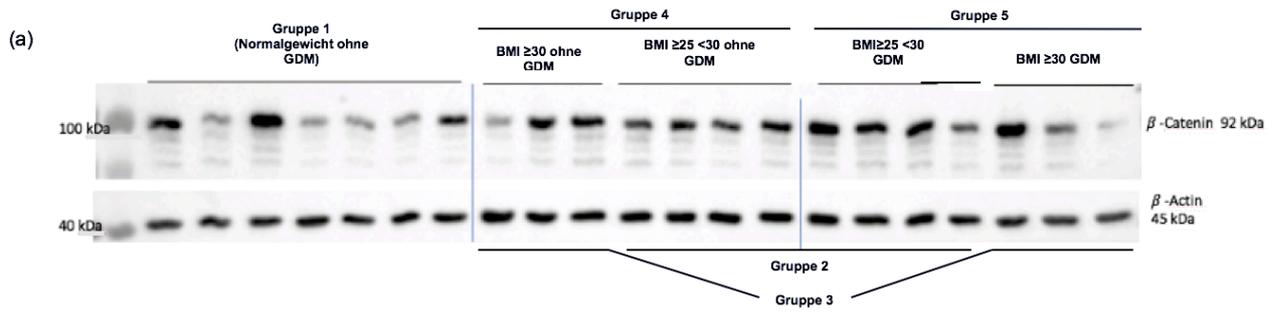


Abbildung 13: Proteinlevel von β -Catenin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen
 Ergebnisse der Western-Blot-Analyse des Proteinlevels von β -Catenin (92 kDa) mit β -Actin (45 kDa) als Abgleich aus Plazentalysaten (zentral, villös) (a). Analyse von n Plazenten von Frauen verschiedener Gewichtsgruppen: Normalgewicht (Gruppe1) n=7; Adipositas ohne GDM n=3, Übergewicht ohne GDM n=4; Übergewicht mit GDM n=4; Adipositas mit GDM n=3. Die Graphen zeigen die Ergebnisse der densitometrischen Auswertung der Western Blots für β -Catenin normalisiert auf β -Actin aufgeteilt nach (b) Normalgewicht (Gruppe 1), Übergewicht (Gruppe 2) und Adipositas (Gruppe 3) und zusätzlich Vorliegen oder Abwesenheit eines GDM und (c) jeder BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ohne GDM (Gruppe 4) bzw. mit GDM (Gruppe 5) verglichen mit der Gruppe 1 (BMI<25 ohne GDM). Angaben der relativen Proteinmenge (β -Catenin/ β -Actin) als Mittelwert. Signifikante Unterschiede (*) wurden angenommen bei $p \leq 0,05$.

Ähnlich wie bei den Ergebnissen des VE-Cadherin nahm auch die plazentare Proteinmenge an β -Catenin tendenziell zu, je mehr IL-6 im Blut der Mutter vorhanden war (Spearman-Rho 0,429; p-Wert 0,397; ohne Abb). Je mehr β -Catenin in der Plazenta nachgewiesen wurde, desto niedriger wiederum war die Konzentration von IL-6 im Nabelschnur-Blut (Spearman-Rho -0,828, p-Wert 0,001; Abb. 14).

Zwischen der β -Catenin Menge und dem Geburtsgewicht der Neugeborenen fand sich keine Korrelation (ohne Abb.).

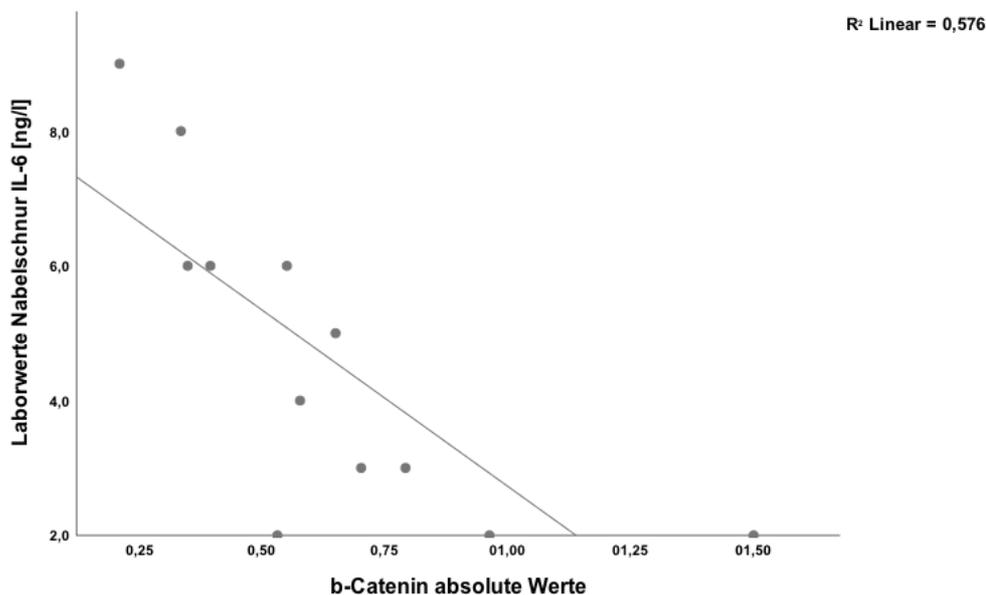


Abbildung 14: Korrelation zwischen der Interleukin-6 Konzentration im Nabelschnurblut und der Proteinmenge von β -Catenin in der Plazenta. Die Korrelation nach Spearmans Rho ergab einen signifikanten negativen Zusammenhang: Je weniger β -Catenin in der Plazenta nachgewiesen wurde, desto höher war die Konzentration von Interleukin-6 im Nabelschnurblut.

5. Diskussion

Maternales Übergewicht stellt ein Risiko für Komplikationen in der Schwangerschaft dar, da es die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines GDM, einer Präeklampsie und einer fetalen Makrosomie erhöht. ^{Übersicht in 14} Als Ursache der Präeklampsie wird u.a. eine plazentare Dysfunktion aufgrund eines verstärkten inflammatorischen Milieus sowie einer eingeschränkten vaskulären Funktion in der Plazenta diskutiert. ^{53,54,76,81} Auch ein GDM wird mit einem verstärkten plazentaren und systemischen Entzündungsmilieu in Verbindung gebracht. ^{55,56} Eine fetale Makrosomie kann bei Übergewicht und Adipositas mit oder ohne GDM durch das erhöhte Nährstoffangebot entstehen. ^{Übersicht in 124}

Auch in der vorliegenden Studie kam es bei zunehmendem maternalen BMI vermehrt zu einem GDM: 72,7% der adipösen Gruppe (Gruppe 3) entwickelten in der Schwangerschaft einen Diabetes, während es in der Gruppe 2 26,7% waren. Im Vergleich zu Daten aus Studien mit größerer Stichprobe sind diese Zahlen sehr hoch: In einer australischen Kohorte betrug die GDM Prävalenz bei adipösen Frauen 13,8%. ¹²⁵ Außerdem sind in der adipösen Gruppe höhere Blutdruckwerte und vermehrtes Auftreten einer Proteinurie zu verzeichnen. Beides zählt in stärkerer Ausprägung zu den Diagnosekriterien einer Präeklampsie. ⁷² Für die Präeklampsie wird eine gestörte Plazentation mit konsekutiver Hypoxie in der Plazenta und Freisetzung von endothelschädigenden Faktoren als Pathogenese vermutet. ^{Übersicht in 74, 99} Inwiefern die Proteinurie und der erhöhte Blutdruck bei den adipösen Frauen schon vor der Schwangerschaft bestand oder durch andere Faktoren bedingt ist, ist allerdings nicht bekannt.

Bei der Betrachtung der Geburtsanamnese zeigten sich bei den übergewichtigen (Gruppe 2) und adipösen (Gruppe 3) Frauen keine höheren Abortraten in vorhergehenden Schwangerschaften als in der Kontrollgruppe 1, wobei anzumerken ist, dass der BMI der Frauen bei früheren Schwangerschaften nicht erfasst wurde. Hiermit kann also keine endgültige Aussage darüber getroffen werden, ob maternale Adipositas das Risiko einer Fehlgeburt erhöht, so wie es in der Literatur beschrieben wurde. ^{Übersicht in 14; 20, Übersicht in 22}

Durch mütterliches Übergewicht und Adipositas kommt es laut Literatur vermehrt zu Wachstumsstörungen des Fetus. Während im Mausmodell ⁴⁰ und auch in wenigen klinischen Studien ³⁹ ein vermindertes Geburtsgewicht bei maternaler Adipositas beschrieben wurde, kommt es in den meisten klinischen Studien deutlich häufiger zu einer fetalen Makrosomie. ^{Übersicht in 33} Die vorliegende Studie reiht sich in diese Beobachtung ein, da die adipösen Frauen der Gruppe 3 signifikant häufiger LGA-Kinder zur Welt brachten.

5.1. Der Einfluss von maternalem Übergewicht und Gestationsdiabetes auf die plazentare E-Cadherin-Proteinmenge

In den Plazenten der Patientinnen mit Übergewicht und Adipositas (Gruppe 2 und 3) wurde signifikant weniger E-Cadherin auf Proteinebene detektiert als in den Plazenten der normalgewichtigen Patientinnen (Gruppe 1), allerdings nur, wenn gleichzeitig auch ein GDM vorlag (Gruppe 5). Bei alleinigem maternalem Übergewicht bzw. Adipositas (Gruppe 4) war hingegen mehr E-Cadherin in den Plazenten im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1) nachweisbar. Es ist nicht vollständig geklärt, welche Menge an E-Cadherin für eine gesunde Plazentafunktion notwendig ist. Einerseits kann die Qualität der Zellverbindungen durch Fehlen des Proteins beeinträchtigt sein. ^{Übersicht in 90}

Eine diskontinuierliche Verteilung in der Basalmembran des Synzytiotrophoblasten wurde mit einem abnormalen uteroplazentalen Blutfluss in Verbindung gebracht¹²⁶. In einem Mausmodell war an verschiedenen Tagen der Schwangerschaft signifikant weniger E-Cadherin in der Plazenta übergewichtiger Muttertiere im Vergleich zu normalgewichtigen Tieren nachweisbar, was zu einer durchlässigeren Trophoblastenschicht der fetomaternalen Transferzone führen könnte.¹⁰¹ Insofern könnte sich die verringerte Proteinmenge von E-Cadherin in der Gruppe 5 negativ auf die Barrierefunktion der Plazentaschranke auswirken oder einen veränderten Blutfluss in der Plazenta hervorrufen. Zudem wird die Entstehung einer Plazenta percreta bei vermindert vorhandenem E-Cadherin begünstigt.¹⁰⁰

Andererseits ist die Invasion der Trophoblasten in die Spiralarterien der Dezidua nur durch eine Herunterregulation von E-Cadherin in den Trophoblasten möglich. Zu viel E-Cadherin erschwert die regelrechte Ausbildung der Plazenta und den Umbau der Spiralarterien und somit einen ausreichenden uteroplazentalen Blutfluss.⁹⁴ Dies wird als eine pathogenetische Ursache der Präeklampsie diskutiert.⁹⁵ Vor diesem Hintergrund könnte wiederum die signifikant erhöhte Proteinmenge von E-Cadherin in der Gruppe 4 einen Nachteil darstellen. Anzumerken ist, dass die Invasion der Trophoblasten zu Beginn der Schwangerschaft stattfindet, in der vorliegenden Studien aber reife Plazentaprobe untersucht wurden. Zudem hätte zur Beurteilung der Verbindung zwischen Plazenta und Gebärmutter eher der maternale Abschnitt der Plazenta untersucht werden müssen. Mit den Daten der vorliegenden Studie kann daher keine direkte Aussage über die Bedingungen bei der Trophoblasteninvasion getroffen werden. E-Cadherin kommt in villösen Zytotrophoblasten und in extravillösen Trophoblasten vor.^{128,129} Die physiologisch vorhandene Proteinmenge von E-Cadherin ist abhängig vom Zeitpunkt der Zelldifferenzierung: Für die Invasion der extravillösen Trophoblasten wird E-Cadherin zunächst herunter reguliert. Diese Zellen verschmelzen am Endpunkt ihrer Differenzierung zu vielzelligen Riesenzellen, die ihre invasiven Eigenschaften

verloren haben. Zum Zusammenschluss der Zellen ist kurzzeitig wieder die Expression von E-Cadherin nötig.¹²⁹ Auch in einem vorausgehenden Mausmodell wurde sowohl bei maternalem Normalgewicht, als auch unter Übergewicht ein Anstieg der Proteinmenge von E-Cadherin an Tag 15 der Schwangerschaft im Vergleich zu Tag 11 gezeigt. Dies spiegelt den invasiven Phänotyp der Trophoblasten in der frühen Schwangerschaft wieder, während im Anschluss wieder ein stabiler Zell-Zell-Kontakt benötigt wird.¹⁰¹ Bei dem Auftreten einer schwangerschaftsassozierten Hypertonie und einer Präeklampsie wurde eine fehlerhafte Fusion der interstitiellen Trophoblasten beschrieben.¹²⁹ Die in dieser Studie gesteigerte Menge an E-Cadherin im villösen Teil der Plazenta bei maternalem Übergewicht ohne einen GDM könnte für eine beeinträchtigte Fusion des Synzytiotrophoblasten sprechen.¹²⁷ Als Teil der Plazentaschranke reguliert er den Austausch von Stoffen zwischen fetalem und maternalem Blut. Durch Fusion der Zytotrophoblasten zum Synzytium wird die Plazentaschranke zum Ende der Schwangerschaft hin immer dünner⁴³ und somit durchlässiger. (aus: Aumüller G A. G., Doll A, Engele J, Kirsch J, Mense S et al. Duale Reihe Anatomie)¹³⁰ Die Fusion wird durch den Abbau von E-Cadherin in den Zytotrophoblasten möglich.¹²⁷ Somit könnte eine erhöhte Proteinmenge von E-Cadherin durch eine unzureichende Fusion des Synzytiotrophoblasten für einen beeinträchtigen Stofftransport zum Feten bei maternaler Adipositas verantwortlich sein.

Bei Vorliegen eines GDM wiederum könnte die geringere Menge an E-Cadherin im villösen Teil der Plazenta für eine sehr dünne Plazentaschranke und erhöhten Nährstofftransport sprechen. Diese könnte zumindest in Teilen das im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant gesteigerte Geburtsgewicht der Neugeborenen von Müttern mit Adipositas und GDM erklären. Die gegensätzlichen Ergebnisse bei Abwesenheit und Vorliegen eines GDM erscheint dennoch wenig intuitiv und erschweren das Aufzeigen möglicher Erklärungen.

5.2. Die plazentare VE-Cadherin Proteinmenge unter Gestationsdiabetes

In der vorliegenden Studie war in den villösen Abschnitten der Plazenten von Frauen mit Übergewicht und GDM (Gruppe 5) ein – wenn auch nicht signifikanter – Anstieg der VE-Cadherin Menge im Vergleich zu Plazenten normalgewichtiger Frauen (Gruppe 1) oder den übergewichtigen Frauen ohne einen GDM (Gruppe 4) zu beobachten. Bei einer spezifischen Untersuchung arterieller und venöser Endothelzellen durch Mühlberger wurde in diabetischen Plazenten eine signifikant erhöhte VE-Cadherin Menge detektiert¹³¹, was sich mit den Ergebnissen unserer Studie vereinbaren lässt. VE-Cadherin erleichtert die Bildung neuer Blutgefäße, indem es Endothelzellkontakte herstellt. ^{Übersicht in} ¹³² Die erhöhten Proteinlevel von VE-Cadherin in den untersuchten

Plazenten der Gruppe 5 könnten somit die bei GDM häufiger auftretende Chorangiome, die als Ausschöpfung der Plazentareserven unter hypoxischen Bedingungen anzusehen ist, erklären.⁸⁸ Das ungeborene Kind wird auf diese Art vor einer Hypoxie geschützt. Sind die funktionellen Reserven der Plazenta jedoch ausgeschöpft, scheint dieser Mechanismus nicht zu funktionieren: in einer Studie, die die relative VE-Cadherin Proteinmenge mittels histologischer Färbungen verglich, wurde bei Vorliegen eines GDM signifikant weniger VE-Cadherin in den Gefäßen beschrieben.¹¹⁴ Auch in Plazenten von Mäusen, die eine High-Fat-Diet erhielten, war eine Abnahme von VE-Cadherin zu beobachten.¹⁰¹

5.3. Keine Veränderungen von placentarem P-Cadherin, CD 31 und β -Catenin in Abhängigkeit von maternaler Adipositas oder Gestationsdiabetes

Es konnten in der vorliegenden Studie keine Veränderungen der relativen Proteinmenge von P-Cadherin, CD31 und β -Catenin in Abhängigkeit von maternaler Adipositas oder GDM festgestellt werden. Im Gegensatz dazu konnten Babawale et al mittels immunohistochemischer Färbungen signifikant weniger β -Catenin in den Gefäßen der Plazenten von Frauen mit einem GDM nachweisen.¹¹⁴ In der vorliegenden Studie wurden nicht nur die Gefäße, sondern Plazentalysate aus dem villösen Abschnitt untersucht, was eine alleinige Aussage über die Menge an β -Catenin in den Endothelzellen nicht ermöglicht. Für CD31 konnte ein verringertes Proteinlevel in Plazenten von übergewichtigen Mäusen gezeigt werden. Auch hier unterscheiden sich Methodik und untersuchter Anteil der Plazenta.¹⁰¹ Bei der Mausstudie wurden die Proben der Plazenta früher entnommen, während unsere Studie reife Plazenten untersuchte. Außerdem zeigten die Feten der Mausstudie eine IUGR, während die Neugeborenen der vorliegenden Studie bei maternaler Adipositas zu einem erhöhten Geburtsgewicht neigten.¹⁰¹ Abgesehen davon gibt es bisher nicht viele Studien, die den Einfluss von maternaler Adipositas und GDM auf die Proteinmenge von P-Cadherin, CD31 und β -Catenin in der Plazenta untersucht haben.

5.4. Inflammation in maternalem und fetalem Blut unter maternalem Übergewicht bzw. maternaler Adipositas mit und ohne Gestationsdiabetes

Ein erhöhter BMI der Mutter und das Vorliegen eines GDM wird mit einem verstärkten Entzündungsmilieu in der Plazenta und im maternalen Blutkreislauf assoziiert, was als Ursache für die placentare Dysfunktion diskutiert wird.^{53, 55, 56} So konnte bei maternaler

Adipositas erhöhte Konzentrationen von IL-6 und CRP im Serum im Vergleich zu normalgewichtigen Schwangeren gezeigt werden. ^{Übersicht in 46; 47,101}

Auch in der vorliegenden Studie sahen wir einen tendenziellen Anstieg von CRP und IL-6 in der Gruppe 3 der adipösen Schwangeren im Vergleich zu Gruppe 1 und 2, allerdings gab es keine signifikanten Unterschiede. Dieses Ergebnis kann durch eine vorausgehende Übersichtsarbeit erklärt werden: Es konnte zwar ein Anstieg der proinflammatorischen Mediatoren bei adipösen Frauen während der Schwangerschaft gezeigt werden, allerdings war dieser am Ende der Schwangerschaft nicht mehr signifikant. ^{Übersicht in 133} Andere Studien konnten dagegen auch am Ende der Schwangerschaft signifikant erhöhte Werte von sowohl CRP als auch IL-6 im Blut adipöser Schwangerer im Vergleich zu normalgewichtigen Kontrollen finden. ^{Übersicht in 46;}
⁵² Als physiologische Reaktion könnte dies einer verstärkten Immunabwehr am Ende der Schwangerschaft dienen.⁴⁷

Metainflammation umfasst neben dem hier gemessenen IL-6 und CRP noch zahlreiche weitere proinflammatorische Faktoren, die in verschiedenen Signalwegen freigesetzt werden. ^{Übersicht in 13} Viele davon, beispielsweise TNF- α , IL-8 und IL-1 scheinen sich nachteilig auf die Trophoblasteninvasion und -differenzierung auszuwirken, und damit insbesondere zu Beginn der Schwangerschaft eine wichtige Rolle zu spielen. Sie können zudem zur Apoptose der Trophoblasten des 1. Trimesters führen. Die Produktion antiinflammatorischer Faktoren wie IL-10 und des Transkriptionsfaktors PPAR- γ kann diesen Schädigungen entgegenwirken.¹³⁵ Die genauen Zusammenhänge dieser Mechanismen und deren mögliches Versagen bei Schwangerschaftskomplikationen durch Adipositas und GDM zeigen neue Fragestellungen auf. In der vorliegenden Studie wurde mit IL-6 und CRP nur ein kleiner Teil der an der Metainflammation beteiligten Faktoren untersucht, weshalb nur eine eingeschränkte Aussage möglich ist.

Ein Grund für die wenig erhöhten Entzündungsmediatoren und das gleichermaßen gute Outcome der Neugeborenen in unserer Studie könnte auch so erklärt werden, dass der Blutzuckerspiegel der Frauen mit GDM (Gruppe 5) durch Ernährungsumstellung und Insulin gut eingestellt wurde. Ihre HbA1c-Werte waren zwar im Vergleich zu Gruppe 1 signifikant höher, waren aber dennoch nicht pathologisch erhöht. Die somit fast normalisierte Stoffwechsellage hat hier möglicherweise weiteren Folgen durch verstärkte Inflammation vorgebeugt.

So, wie es viele andere Studien bereits beschrieben, ^{Übersicht in 46; 55, 57, 58} wurde auch in der vorliegenden Dissertation keine Erhöhung der proinflammatorischen Faktoren IL-6 und CRP im fetalen Kreislauf bei maternaler Adipositas beobachtet. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Plazentaschranke für Interleukine, besonders das IL-8 weitestgehend undurchlässig zu sein scheint.^{60, 61} Andere Studien kamen wiederum zu

dem Ergebnis, dass IL-6 die Plazentaschranke passieren kann, da es im Kreislauf der Feten und im Fruchtwasser von schwangeren Ratten, denen IL-6 injiziert wurde, nachgewiesen werden konnte. Die Durchlässigkeit schien zudem in der Mitte der Schwangerschaft höher zu sein als am Ende.^{136, 137}

Es wäre also denkbar, dass im Verlauf der Schwangerschaft die ungeborenen Kinder einem verstärkten Inflammationsmilieu ausgesetzt waren, welcher sich am Ende der Schwangerschaft nicht mehr nachweisen lässt. Entzündungsparameter im mütterlichen Blut während der Schwangerschaft liegen für diese Studie leider nicht vor.

5.5. Korrelation von Inflammation und AJ-assoziierten plazentaren Proteinen

In der vorliegenden Dissertation konnte ein inverser Zusammenhang zwischen der Menge an VE-Cadherin und β -Catenin in der Plazenta und der Konzentration von IL-6 im fetalen Plasma gezeigt werden. Jedoch wies keines dieser untersuchten Proteine pathologische Werte oder signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen auf.

Aus der Literatur ist bekannt, dass es durch den Einfluss von Entzündungsfaktoren wie TNF- α zu einer Abnahme von VE-Cadherin in den Endothelzellen kommt, was die Permeabilität der Zellmembran erhöht.^{138, 139} Dies lässt die Vermutung zu, dass im Gegensatz dazu das vermehrte Vorhandensein von VE-Cadherin und β -Catenin, welches die Endothelzellverbindungen mit dem Zytoskelett verbindet, zu dichteren Zellverbindungen und einer undurchlässigeren Plazentaschranke führt. So wird möglicherweise das ungeborene Kind vor dem Einfluss proinflammatorischer Faktoren geschützt. Die Vermutung wird durch die Beobachtung unterstützt, dass die detektierte VE-Cadherin Menge in der Plazenta mit steigender Konzentration von IL-6 im maternalen Blut tendenziell zunahm, auch wenn dieser Zusammenhang keine statistische Signifikanz erreichte. Dies steht eher im Gegensatz zu den Einflüssen proinflammatorischer Faktoren auf die Integrität der Endothelpermeabilität, die in anderen Studien beobachtet wurden: so kommt es durch IL-2 zu einer Störung der Endothelzellbarriere, die sich in einer verstärkten Endozytose von VE-Cadherin zeigte.¹⁴⁰ Der Transportmechanismus von IL-6 über die Plazentaschranke ist nicht vollständig geklärt, es werden ein parazellulärer Transport und eine Internalisierung über Rezeptorbindung als Möglichkeiten diskutiert. Spezifische Mechanismen scheinen aber gerade aufgrund der Undurchlässigkeit der Plazentaschranke für IL-8 notwendig zu sein.¹³⁴ Ob AJ-assoziierte Proteine wie VE-Cadherin oder β -Catenin auf diese Mechanismen tatsächlich Einfluss nehmen, bleibt weiterhin zu klären.

5.6. Zusammenfassung

Zusammenfassend kam es in der vorliegenden Studie bei maternaler Adipositas (Gruppe 3) häufiger zu einem GDM und das Geburtsgewicht der Kinder aus Gruppe 3 und 5 war im Vergleich zu den Kindern der normalgewichtigen Mütter (Gruppe 1) erhöht. Andere Komplikationen traten nicht auf, das kurzfristige Outcome der Neugeborenen war nicht beeinträchtigt. Hinweise auf eine eingeschränkte Plazentafunktion zeigten sich in Form einer verringerten E-Cadherin Menge in den Plazenten von übergewichtigen Müttern, die zusätzlich einen GDM entwickelten. Hingegen könnte auch ein übermäßiges Vorhandensein von E-Cadherin zu einer placentaren Funktionsstörung führen, wie es bei den übergewichtigen Müttern ohne GDM beobachtet wurde. Über die erhöhten Proteinlevel von Adhäsionsmolekülen, insbesondere VE-Cadherin und β -Catenin wird möglicherweise einem beeinträchtigten Outcome der Neugeborenen vorgebeugt, um über eine ausreichende Gefäßdichte den Fetus mit Sauerstoff zu versorgen und durch eine intakte Plazentaschranke vor potenziell negativen Einflüssen wie proinflammatorischen Faktoren zu schützen. Die Proteinlevel von VE-Cadherin und β -Catenin waren jedoch unter Übergewicht, Adipositas und GDM nicht signifikant verändert. Unter welchen Umständen es genau zu solchen Veränderungen kommt und unter welchen Umständen die Mechanismen möglicherweise scheitern, muss noch weiter erforscht werden. Beispielsweise sollte auch die Korrelation weiterer Entzündungsfaktoren wie IL-8, IL-2 und TNF- α auf AJ-assoziierte Proteine in der Plazenta untersucht werden, da an einem inflammatorischen Milieu stets mehrere Faktoren beteiligt sind und unter Umständen auch kleine Veränderungen zu negativen Auswirkungen auf Plazenta und Fetus führen können.

5.7. Stärken und Schwächen der Studie

Die vorliegende Studie gibt einen weiten Überblick über das Thema Adipositas und GDM in der Schwangerschaft, dessen Folgen und mögliche Erklärungsansätze sowohl auf klinischer als auch auf experimenteller Ebene. Die Verbindung aus experimenteller Laborarbeit und der klinischen Forschung mit Asservierung von humanem Material ist ein hervorstechendes Merkmal dieser Arbeit. Die Umsetzung war entsprechend herausfordernd und ist an vielen Stellen gut gelungen, gleichzeitig gibt es auch Möglichkeiten der Optimierung. Mit einer größeren Stichprobe hätten eventuell noch genauere und aussagekräftigere Ergebnisse erzielt werden können, zudem hätte ein noch strengerer Ausschluss von Proben aufgrund von Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahmen erfolgen können. Zudem wären für eine vollständigere Untersuchung des Entzündungsmilieus und dessen Einfluss auf AJ-assoziierte Proteine auch RNA- oder Proteinanalysen von Entzündungsfaktoren in der Plazenta selbst sehr

wünschenswert gewesen. Für folgende Studien sind zur besseren Entschlüsselung des Einflusses des Entzündungsmilieus auf die AJ-assoziierten Proteine zum einen die Bestimmung weiterer Entzündungsfaktoren in maternalem bzw. fetalem Plasma, zum anderen auch deren Bestimmung zu mehreren Zeitpunkten in der Schwangerschaft anzustreben. Ein direkter Einfluss der Entzündungsfaktoren auf plazentare Zellen und die AJ-assoziierten Proteine könnte in Zellkulturen untersucht werden. Darüber hinaus sollten Modelle in Zellkultur oder Tierstudien entwickelt werden, um mehr über die physiologische Menge der AJ-assoziierten Proteine in der Plazenta zu erfahren. So könnte beispielsweise durch gezielte Über- oder Unterexpression der Cadherine, CD31 und β -Catenin und anschließende Untersuchungen der Plazentaschranke und der plazentaren Gefäße ein besseres Verständnis für die physiologisch benötigten Proteinlevel gewonnen werden.

6. Literaturverzeichnis

1. NCD Risk Factor Collaboration. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *The Lancet* 2016; 387(10026): 1377-96.
2. Ng M., Fleming T., Robinson M., et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet* 2014; 384(9945): 766-81.
3. National Center for Health Statistics. National Health and Nutrition Examination Survey. NCHS Fact Sheet July 2020.
4. Schienkiewitz A, Mensink GBM, Kuhnert R, Lange C. Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen in Deutschland. *Journal of Health Monitoring* · 2017 2(2): 21-28. DOI 1017886/RKI-GBE-2017-025.
5. Mensink GB, Schienkiewitz A, Haftenberger M, Lampert T, Ziese T, Scheidt-Nave C. Overweight and obesity in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]. *Bundesgesundheitsblatt* 2013; 56(5-6): 786-794.
6. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR. Prevalence and Trends in Obesity Among US Adults, 1999-2008. *JAMA* 2010; 303(3): 235-241.
7. WHO Consultation on Obesity (1999: Geneva, Switzerland) & World Health Organization. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. World Health Organization. pp 8-9.
8. Hatzenbuehler ML, Keyes KM, Hasin DS. Associations between perceived weight discrimination and the prevalence of psychiatric disorders in the general population. *Obesity (Silver Spring)* 2009; 17(11): 2033-9.

9. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009; 9: 88.
10. Gregor L, Remington PL, Lindberg S, Ehrental D. Prevalence of Pre-pregnancy Obesity, 2011-2014. *WMJ* 2016; 115(5): 228-232.
11. Zutshi A, Santhosh J, Sheikh J, Naeem F. Implications of Early Pregnancy Obesity on Maternal, Fetal and Neonatal Health: Retrospective cohort study from Oman. *Sultan Qaboos University Medical Journal* 2018; 18(1): 47-53.
12. Bodnar LM, Ness RB, Markovic N, Roberts JM. The risk of preeclampsia rises with increasing prepregnancy body mass index. *Ann Epidemiol* 2005; 15(7): 475-82.
13. Bokslag A, van Weissenbruch M, Mol BW, de Groot CJM. Preeclampsia; short and long-term consequences for mother and neonate. *Early Hum Dev* 2016; 102: 47-50.
14. Marchi J, Berg M, Dencker A, Olander EK, Begley C. Risks associated with obesity in pregnancy, for the mother and baby: a systematic review of reviews. *Obes Rev* 2015; 16(8): 621-38.
15. Starling AP, Brinton JT, Glueck DH, Shapiro AL, Harrod CS, Lynch AM et al. Associations of maternal BMI and gestational weight gain with neonatal adiposity in the Healthy Start study. *Am J Clin Nutr* 2015; 101(2): 302-9.
16. Cunningham SA, Kramer MR, Narayan KM. Incidence of childhood obesity in the United States. *N Engl J Med* 2014; 370(5): 403-11.
17. Chiefari E, Arcidiacono B, Foti D, Brunetti A. Gestational diabetes mellitus: an updated overview. *J Endocrinol Invest* 2017; 40(9): 899-909.
18. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care* 2018; 41(Supplement_1): S13-S27. <https://doi.org/10.2337/dc18-S002>.
19. Schäfer-Graf UM, Laubner K, Hummel S, Gembruch U, Groten T, Kainer F et al. Gestationsdiabetes mellitus (GDM), Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Leitlinie der DDG und DGGG S3-Niveau, AWMF-Registernummer 057/008, 2018.
20. Valsamakis G, Kyriazi EL, Mouslech Z, Siristatidis C. Effect of maternal obesity on pregnancy outcomes and long-term metabolic consequences. *Hormones* 2015, 14(3):345-357.
21. Di Cianni G, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Del Prato S. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes/Metab Res Rev* 2003; 19(4): 259-70.
22. Catalano PM, Shankar K. Obesity and pregnancy: mechanisms of short term and long term adverse consequences for mother and child. *BMJ* 2017; 356: j1.

- 23.** Aune D, Sen A, Henriksen T, Saugstad OD, Tonstad S. Physical activity and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review and dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Eur J Epidemiol* 2016; 31(10): 967-97.
- 24.** Kim C, Berger DK, Chamany S. Recurrence of Gestational Diabetes Mellitus: A systematic review. *Diabetes Care* 2007; 30(5): 1314-19.
- 25.** Zhang C, Bao W, Rong Y, Yang H, Bowers K, Yeung E et al. Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2013; 19(4): 376-90.
- 26.** The HAPO Study Cooperative Research Group. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. *N Engl J Med* 2018; 358: 1991-2002.
- 27.** Wahabi HA, Fayed AA, Alzeidan RA, Mandil AA. The independent effects of maternal obesity and gestational diabetes on the pregnancy outcomes. *BMC Endocr Disord* 2014; 14: 47.
- 28.** Zhang X, Decker A, Platt RW, Kramer MS. How big is too big? The perinatal consequences of fetal macrosomia. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198(5): 517.e1-6.
- 29.** Sullivan SD, Umans JG, Ratner R. Gestational diabetes: implications for cardiovascular health. *Curr Diab Rep* 2012; 12(1): 43-52.
- 30.** Lapolla A, Dalfrà MG, Fedele D. Management of gestational diabetes mellitus. *Diabet Metab Syndr* 2009; 2: 73-82.1. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *The Lancet* 2016; 387(10026): 1377-96.
- 31.** Hyer S., Balani J. and Shehata H. Metformin in Pregnancy: Mechanisms and Clinical Applications. *Int J Mol Sci* 2018; 19(7).
- 32.** Zhangbin Yu S. H., Jingai Zhu, Xiaofan Sun, Chenbo Ji, Xirong Guo. Pre-Pregnancy Body Mass Index in Relation to Infant Birth Weight and Offspring Overweight/Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE* April 2013 Volume 8(April 2013 | Volume 8 | Issue 4 | e61627).
- 33.** Gaudet L., Ferraro Z. M., Wen S. W. and Walker M. Maternal obesity and occurrence of fetal macrosomia: a systematic review and meta-analysis. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 640291.
- 34.** Boulet S. L., Alexander G. R., Salihu H. M. and Pass M. Macrosomic births in the united states: determinants, outcomes, and proposed grades of risk. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188(5): 1372-8.
- 35.** Stotland N. E., Caughey A. B., Breed E. M. and Escobar G. J. Risk factors and obstetric complications associated with macrosomia. *Int J Gynaecol Obstet* 2004; 87(3): 220-6.

36. Bamberg C., Hinkson L. and Henrich W. Prenatal detection and consequences of fetal macrosomia. *Fetal Diagn Ther* 2013; 33(3): 143-8.
37. Slabuszewska-Jozwiak A., Szymanski J. K., Ciebiera M., Sarecka-Hujar B. and Jakiel G. Pediatrics Consequences of Caesarean Section-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17(21).
38. Oken E, Gillman MW. Fetal Origins of Obesity. *Obesity Research* 2012; 11(4): 496-506.
39. Radulescu L* M. O., Popa F***, Cirstoiu M****, Carol Davila. The implications and consequences of maternal obesity on fetal intrauterine growth restriction. *Journal of Medicine and Life* 2013; Vol. 6 (Issue 3).
40. Janoschek R., Bae-Gartz I., Vohlen C., et al. Dietary intervention in obese dams protects male offspring from WAT induction of TRPV4, adiposity, and hyperinsulinemia. *Obesity (Silver Spring)* 2016; 24(6): 1266-73.
41. Gardosi J., Madurasinghe V., Williams M., Malik A. and Francis A. Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. *BMJ* 2013; 346: f108.
42. Nohr EA, Bech BH, Vaeth M, Rasmussen KM, Hendriksen TB, Olsen J. Obesity, gestational weight gain and preterm birth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2007; 21(1): 5-14.
43. Lüllmann-Rauch R, Paulsen F. *Taschenlehrbuch Histologie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart 2012.
44. Moser G, Gauster M, Orendi K, Glasner A, Theuerkauf R, Huppertz B: Endoglandular trophoblast, an alternative route of trophoblast invasion? Analysis with novel confrontation co-culture models. *Hum Reprod* (2010) 25: 1127-1136
45. Howell K. R. and Powell T. L. Effects of maternal obesity on placental function and fetal development. *Reproduction* 2017; 153(3): R97-R108.
46. Pantham P., Aye I. L. M. H. and Powell T. L. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus. *Placenta* 2015; 36(7): 709-15.
47. Pavlov O. V., Niauri D. A., Selutin A. V. and Selkov S. A. Coordinated expression of TNFalpha- and VEGF-mediated signaling components by placental macrophages in early and late pregnancy. *Placenta* 2016; 42: 28-36.
48. Christian L. M. and Porter K. Longitudinal changes in serum proinflammatory markers across pregnancy and postpartum: effects of maternal body mass index. *Cytokine* 2014; 70(2): 134-40.
49. Klein K., Satler M., Elhenicky M., et al. Circulating levels of MCP-1 are increased in women with gestational diabetes. *Prenat Diagn* 2008; 28(9): 845-51.
50. Hauguel-de Mouzon S. and Guerre-Millo M. The placenta cytokine network and inflammatory signals. *Placenta* 2006; 27(8): 794-8.

- 51.** Fischer-Posovszky P W. M., Hochberg Z. Endocrinology of Adipose Tissue- An Update. *Horm Metab Res* 2007; 39: 314-21.
- 52.** Stewart F. M., Freeman D. J., Ramsay J. E., Greer I. A., Caslake M. and Ferrell W. R. Longitudinal assessment of maternal endothelial function and markers of inflammation and placental function throughout pregnancy in lean and obese mothers. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(3): 969-75.
- 53.** Challier J. C., Basu S., Bintein T., et al. Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. *Placenta* 2008; 29(3): 274-81.
- 54.** Roberts K. A., Riley S. C., Reynolds R. M., et al. Placental structure and inflammation in pregnancies associated with obesity. *Placenta* 2011; 32(3): 247-54.
- 55.** Stirm L., Kovarova M., Perschbacher S., et al. BMI-Independent Effects of Gestational Diabetes on Human Placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2018; 103(9): 3299-309.
- 56.** Marseille-Tremblay C., Ethier-Chiasson M., Forest J. C., et al. Impact of maternal circulating cholesterol and gestational diabetes mellitus on lipid metabolism in human term placenta. *Mol Reprod Dev* 2008; 75(6): 1054-62.
- 57.** van der Burg J. W., Allred E. N., McElrath T. F., et al. Is maternal obesity associated with sustained inflammation in extremely low gestational age newborns? *Early Hum Dev* 2013; 89(12): 949-55.
- 58.** Atègbo J. M., Grissa O., Yessoufou A., et al. Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(10): 4137-43.
- 59.** Carbo N L.-S. F., Argiles JM. Tumor necrosis factor-alpha does not cross the rat placenta. *Cancer letters* 1998; 128(1): 101-4.
- 60.** Egarter C, Friese K. Immunologische Diagnostik bei vorzeitigen Wehen. *Gynäkologie* 2000 33, 351-55 Springer Verlag.
- 61.** Reisenberger K, Egarter C, Vogl, S Sternberger B, Kiss H, Husslein P. The transfer of interleukin-8 across the human placenta perfused in vitro. *Obstetrics & Gynecology* 1996. 87 (4) 613-16.
- 62.** Muralimanoharan S., Guo C., Myatt L. and Maloyan A. Sexual dimorphism in miR-210 expression and mitochondrial dysfunction in the placenta with maternal obesity. *Int J Obes (Lond)* 2015; 39(8): 1274-81.
- 63.** Jones H. N., Jansson T. and Powell T. L. IL-6 stimulates system A amino acid transporter activity in trophoblast cells through STAT3 and increased expression of SNAT2. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 297(5): C1228-35.

- 64.** Crocker IP, Cooper S, Ong SC, Baker PN. Differences in Apoptotic Susceptibility of Cytotrophoblasts and Syncytiotrophoblasts in Normal Pregnancy to Those Complicated with Preeclampsie and Intrauterine Growth Restriction. *Am J Pathol* 2003; 162(2): 637-43.
- 65.** Sadowsky D. W., Adams K. M., Gravett M. G., Witkin S. S. and Novy M. J. Preterm labor is induced by intraamniotic infusions of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha but not by interleukin-6 or interleukin-8 in a nonhuman primate model. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195(6): 1578-89.
- 66.** Burton G. J., Charnock-Jones D. S. and Jauniaux E. Regulation of vascular growth and function in the human placenta. *Reproduction* 2009; 138(6): 895-902.
- 67.** Jauniaux E, Jurkovic D, Campbell S. In vivo investigations of the anatomy and the physiology of early human placental circulations. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1991; 1(6): 435-45.
- 68.** Hustin J, Schaaps JP, Lambotte R. (1998) Anatomical Studies of the Utero-Placental Vascularization in the First Trimester of Pregnancy. pp 49-60 In: Kaufmann P., Miller R.K. (eds) *Placental Vascularization and Blood Flow. Trophoblast Research*, vol 3. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8109-3_4.
- 69.** Jauniaux E, Burton GJ, Moscoso GJ, Hustin J. Development of the Early Human Placenta: A Morphometric Study. *Placenta* 1991; 12(3): 269-76.
- 70.** Chau K., Hennessy A. and Makris A. Placental growth factor and pre-eclampsia. *J Hum Hypertens* 2017; 31(12): 782-6.
- 71.** Zhang L, Yuan JM, Zhao RH, Wang LM, Tu ZB. Correlation of MiR-152 expression with VEGF expression in placental tissue of preeclampsia rat and its influence on apoptosis of throphoblast cells. *Eur Rev med Pharmacol Sci* 2019; 23(9): 3553-60.
- 72.** Schlembach D, Stepan H, Groten T, Maul H, Pecks U, Verlohren S et al. Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen: Diagnostik und Therapie. Leitlinienprogramm der DGGG, OEGGG und SGGG, S2k, AWMF-Registernummer 015/018. 2019 Version 1.1.
- 73.** Poon L. C., Zaragoza E., Akolekar R., Anagnostopoulos E. and Nicolaides K. H. Maternal serum placental growth factor (PIGF) in small for gestational age pregnancy at 11(+0) to 13(+6) weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2008; 28(12): 1110-5.
- 74.** Mutter W. P. and Karumanchi S. A. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res* 2008; 75(1): 1-8.
- 75.** Kuzmina I. Y., Hubina-Vakulik G. I. and Burton G. J. Placental morphometry and Doppler flow velocimetry in cases of chronic human fetal hypoxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 120(2): 139-45.

- 76.** Hayes E. K., Tessier D. R., Percival M. E., et al. Trophoblast invasion and blood vessel remodeling are altered in a rat model of lifelong maternal obesity. *Reprod Sci* 2014; 21(5): 648-57.
- 77.** Harris LK K. R., Wareing M, Baker PN, Cartwright JE, Aplin JD et al. Invasive Throphoblasts Stimulate Vascular Smooth Muscle Cell Apoptosis by a Fas Ligand-Dependent Mechanism. *The American Journal of Pathology* 2006; 169(5): 1863-74.
- 78.** Hayes E. K., Lechowicz A., Petrik J. J., et al. Adverse fetal and neonatal outcomes associated with a life-long high fat diet: role of altered development of the placental vasculature. *PLoS One* 2012; 7(3): e33370.
- 79.** Cimpean AM, Raica M, Suciu C (2007) CD105/smooth muscle actin double immunostaining discriminate between immature and mature tumor blood vessels. *Rom J Morphol Embryol* 48: 41–45.
- 80.** Loardi C., Falchetti M., Prefumo F., Facchetti F. and Frusca T. Placental morphology in pregnancies associated with pregravid obesity. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29(16): 2611-6.
- 81.** Ma Y., Zhu M. J., Zhang L., Hein S. M., Nathanielsz P. W. and Ford S. P. Maternal obesity and overnutrition alter fetal growth rate and cotyledonary vascularity and angiogenic factor expression in the ewe. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 299(1): R249-58.
- 82.** Maynard S. E., Min J.-Y., Merchan J., et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *Journal of Clinical Investigation* 2003; 111(5): 649-58.
- 83.** Zera CA, Seely EW, Wilkins-Haug LE, Lim KH, Parry SI, McElrath TF. The association of body mass index with serum angiogenic markers in normal and abnormal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211(3): 247.e1-247-e7.
- 84.** Taricco E., Radaelli T., Nobile de Santis M. S. and Cetin I. Foetal and placental weights in relation to maternal characteristics in gestational diabetes. *Placenta* 2003; 24(4): 343-7.
- 85.** Cetin I., de Santis M. S., Taricco E., et al. Maternal and fetal amino acid concentrations in normal pregnancies and in pregnancies with gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192(2): 610-7.
- 86.** Taricco E., Radaelli T., Rossi G., et al. Effects of gestational diabetes on fetal oxygen and glucose levels in vivo. *BJOG* 2009; 116(13): 1729-35.
- 87.** Madazli R., Tuten A., Calay Z., Uzun H., Uludag S. and Ocak V. The incidence of placental abnormalities, maternal and cord plasma malondialdehyde and vascular endothelial growth factor levels in women with gestational diabetes mellitus and nondiabetic controls. *Gynecol Obstet Invest* 2008; 65(4): 227-32.

- 88.** Stanek J. Chorangiogenesis of Chorionic Villi: What does it really mean? *Arch Pathol Lab Med* 2016; 140(6): 588-93.
- 89.** Stanek J. Hypoxic Patterns of Placental Injury: A Review. *Arch Pathol Lab Med* 2013; 137(5): 706-20.
- 90.** Wheelock M. J. and Johnson K. R. Cadherins as modulators of cellular phenotype. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003; 19: 207-35.
- 91.** Coutifaris C, Kao LC, Sehdev HM, Chin U, Babalola GO, Blaschuk OW et al. E-cadherin expression during the differentiation of human trophoblasts. *Development* 1991; 113: 767-77.
- 92.** Moser G., Windsperger K., Pollheimer J., de Sousa Lopes S. C. and Huppertz B. Human trophoblast invasion: new and unexpected routes and functions. *Histochem Cell Biol* 2018; 150(4): 361-70.
- 93.** Batistatou A., Makrydimas G., Zagorianakou N., et al. Expression of dysadherin and E-cadherin in trophoblastic tissue in normal and abnormal pregnancies. *Placenta* 2007; 28(5-6): 590-2.
- 94.** Shih I.-M., Hsu M.-Y., Oldt R. J., Herlyn M., Gearhart J. D. and Kurman R. J. The Role of E-cadherin in the Motility and Invasion of Implantation Site Intermediate Trophoblast. *Placenta* 2002; 23(10): 706-15.
- 95.** Zhou Y., Damsky C. H. and Fisher S. J. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *The Journal Of Clinical Investigation* 1997; 99(9): 2152-64.
- 96.** Roberts J. M. and Lain K. Y. Recent Insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta* 2002; 23(5): 359-72.
- 97.** Gerretsen G, Huisjes HJ, Elema JD. Morphological changes of the spiral arteries in the placental bed in Relation to pre-eclampsia and fetal growth retardation. *BJOG* 1981; 88(9): 876-81.
- 98.** Lam C., Lim K. H. and Karumanchi S. A. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension* 2005; 46(5): 1077-85.
- 99.** Sircar M., Thadhani R. and Karumanchi S. A. Pathogenesis of preeclampsia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2015; 24(2): 131-8.
- 100.** Incebiyik A., Kocarslan S., Camuzcuoglu A., Hilali N. G., Incebiyik H. and Camuzcuoglu H. Trophoblastic E-cadherin and TGF-beta expression in placenta percreta and normal pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29(1): 126-9.
- 101.** Kretschmer T. Maternal High Fat Nutrition is Associated with Placental Dysfunction: Insight in Pathophysiology and Potential Mechanisms. Inaugural Dissertation K., 2020.

- 102.** Nose A, Takeichi M. A novel cadherin cell adhesion molecule: its expression patterns associated with implantation and organogenesis of mouse embryos. *J Cell Biol* 1986; 103(6): 2649-58.
- 103.** Shimoyama Y. Molecular cloning of a human Ca²⁺-dependent cell-cell adhesion molecule homologous to mouse placental cadherin: its low expression in human placental tissues. *The Journal of Cell Biology* 1989; 109(4): 1787-94.
- 104.** Sahin H., Akpak Y. K., Berber U., Gun I., Demirel D. and Ergur A. R. Expression of P-cadherin (cadherin-3) and E-selectin in the villous trophoblast of first trimester human placenta. *J Turk Ger Gynecol Assoc* 2014; 15(1): 13-7.
- 105.** Dejana E. and Orsenigo F. Endothelial adherens junctions at a glance. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 12): 2545-9.
- 106.** Groten T., Gebhard N., Kreienberg R., Schleussner E., Reister F. and Huppertz B. Differential expression of VE-cadherin and VEGFR2 in placental syncytiotrophoblast during preeclampsia - New perspectives to explain the pathophysiology. *Placenta* 2010; 31(4): 339-43.
- 107.** Vestweber D. VE-cadherin: the major endothelial adhesion molecule controlling cellular junctions and blood vessel formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(2): 223-32.
- 108.** Flemming S., Burkard N., Renschler M., et al. Soluble VE-cadherin is involved in endothelial barrier breakdown in systemic inflammation and sepsis. *Cardiovasc Res* 2015; 107(1): 32-44.
- 109.** Sung DC C. X., Chem M, Yang J, Schultz S, Babu A et al. VE-cadherin enables trophoblast endovascular invasion and spiral artery remodeling during placental development. *eLife* 2022;11:e77241.
- 110.** Wang Y., Gu Y., Granger D. N., Roberts J. M. and Alexander J. S. Endothelial junctional protein redistribution and increased monolayer permeability in human umbilical vein endothelial cells isolated during preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186(2): 214-20.
- 111.** Zhao J., Gu Y., Fan R., Groome L. J. and Wang Y. Factors derived from preeclamptic placentas perturb polarity protein PAR3 expression and distribution in endothelial cells. *Reprod Sci* 2011; 18(2): 164-71.
- 112.** Gu Y., Lewis D. F., Alexander J. S. and Wang Y. Placenta-derived chymotrypsin-like protease (CLP) disturbs endothelial junctional structure in preeclampsia. *Reprod Sci* 2009; 16(5): 479-88.
- 113.** Pang V., Bates D. O. and Leach L. Regulation of human feto-placental endothelial barrier integrity by vascular endothelial growth factors: competitive interplay between

VEGF-A165a, VEGF-A165b, PlGF and VE-cadherin. *Clin Sci (Lond)* 2017; 131(23): 2763-75.

114. Babawale MO, Lovat S, Mayhew M, Lammiman MJ, James DK, Leach L. Effects of gestational diabetes on junctional adhesion molecules in human term placental vasculature. *Diabetologia* 2000; 43: 1185-96.

115. Chistiakov D. A., Orekhov A. N. and Bobryshev Y. V. Endothelial PECAM-1 and its function in vascular physiology and atherogenic pathology. *Exp Mol Pathol* 2016; 100(3): 409-15.

116. Woodfin A., Voisin M. B. and Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27(12): 2514-23.

117. Lertkiatmongkol P., Liao D., Mei H., Hu Y. and Newman P. J. Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31). *Curr Opin Hematol* 2016; 23(3): 253-9.

118. Cheung K., Ma L., Wang G., et al. CD31 signals confer immune privilege to the vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(43): E5815-24.

119. Ma B, Hottiger MO. Crosstalk between Wnt/ β -Catenin and NF- κ B Signaling Pathway during Inflammation. *Front Immunol* 2016; 7(378).

120. Sonderegger S., Husslein H., Leisser C. and Knofler M. Complex expression pattern of Wnt ligands and frizzled receptors in human placenta and its trophoblast subtypes. *Placenta* 2007; 28 Suppl A: S97-102.

121. Pollheimer J, Loregger T, Sonderegger S et al. Activation of the canonical wntless/T-cell factor signaling pathway promotes invasive differentiation of human trophoblast. *Am J Pathol* 2006; 168(4): 1134-47.

122. Chen Y., Zhang Y., Deng Q., et al. Wnt5a inhibited human trophoblast cell line HTR8/SVneo invasion: implications for early placentation and preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29(21): 3532-8.

123. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76(9): 4350-54.

124. Kamana K.C., Shakya S, Zhang H. Gestational Diabetes Mellitus and Macrosomia: A Literature Review. *Nutrition and Metabolism* 2015; 66: 14-20.

125. Mnatzaganian G., Woodward M., McIntyre H.D et al. Trends in percentages of gestational diabetes mellitus attributable to overweight, obesity, and morbid obesity in regional Victoria: an eight-year population-based panel study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2022; 22: 95.

- 126.** Peksa M K. A., Gabrych A, Lew-Tusk A, Preis K, Swiatkowska-Freund M. loss of E-Cadherin Staining Continuity in the Trophoblastic Basal Membrane Correlates with Increased Resistance in Uterine Arteries and Proteinuria in Patients with Pregnancy-Induced Hypertension. *Journal of Clinical Medicine* 2022; 11: 668. .
- 127.** Aghababaei M. H K, Perdu S, Robinson WP, Beristain AG. ADAM12-directed ectodomain shedding of E-Cadherin potentiates trophoblast fusion. *Cell Death and Differentiation* 2015; 22: 1970-84. .
- 128.** Floridon C N. O., Holund B, Sunde L, Westergaard JG, Thomsen SG et al. Localization of E-cadherin in vilious, extravillous and vascular trophoblasts during intrauterine, ectopic and molar pregnancy. *Molecular Human Reproduction* 2000; 6(10): 943-50. .
- 129.** Al-Nasiry S V. L., Hanssens M, Luyten C, Pijnenborg R. Interstitial Trophoblastic Cell Fusion and E-Cadherin Immunostaining in the Placental Bed of Normal and Hypertensive Pregnancies. *Placenta* 2009; 30: 719-25.
- 130.** Aumüller G A. G., Doll A, Engele J, Kirsch J, Mense S et al. *Duale Reihe Anatomie*. Thieme 2010.
- 131.** Mühlberger M. *Veränderte Barrierefunktion des Plazentaendothels bei Gestationsdiabetes: Rolle von Zytoskelett und Zell-Zellkontakten*. Graz D.
- 132.** Kokkinos MI M. P., Wafai R, Thompson EW, Newgreen DF. Cadherins in the human placenta-epithelial-mesenchymal transition (EMT) and placental development. *Placenta* 2010;31: 747-55. .
- 133.** Friis C. M., Paasche Roland M. C., Godang K., et al. Adiposity-related inflammation: effects of pregnancy. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21(1): E124-30.
- 134.** Aravindhan V. and Madhumitha H. Metainflammation in Diabetic Coronary Artery Disease: Emerging Role of Innate and Adaptive Immune Responses. *J Diabetes Res* 2016; 2016: 6264149.
- 135.** Kadam L., Kilburn B., Baczyk D., Kohan-Ghadr H. R., Kingdom J. and Drewlo S. Rosiglitazone blocks first trimester in-vitro placental injury caused by NF-kappaB-mediated inflammation. *Sci Rep* 2019; 9(1): 2018.
- 136.** Dahlgren J, Samuelsson A, Jansson T, Holmäng A. Interleukin-6 in the Maternal Circulation Reaches the Rat Fetus in Mid-gestation. *Pediatric Research* 2006; 60(2): 147-51.
- 137.** Zaretsky MV, Alexander JM, Byrd W, Bawdon RE. Transfer of Inflammatory Cytokines Across the Placenta. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* 2004; 103(4): 546-50.
- 138.** Seynhaeve ALB R. J., Schipper D, Eggermont AMM, ten Hagen TLM. Exposing endothelial cells to tumor necrosis factor- α and peripheral blood mononuclear cells

damage endothelial integrity via interleukin 1β by degradation of vascular endothelial-cadherin. *Surgery* 2014; 155(3): 545-53.

139. Nwariaku FE L. Z., Zhu X, Turnage RH, Sarosi GA, Terada LS. Tyrosine phosphorylation of vascular endothelial cadherin and the regulation of microvascular permeability. *Surgery* 2002; 132(2): 180-4.

140. Kim DW Z. A., Broucek J, Schenkel JM, Ruby C, Samaha G et al. Interleukin-2 alters distribution of CD144(VE-Cadherin) in endothelial cells. *Journal of Translational Medicine* 2014; 12(113).

7. Anhang

7.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Arbeitshypothese	21
Abbildung 2: Patientenkollektiv und Gruppeneinteilung	23
Abbildung 3: Präparation der Plazenta	25
Abbildung 4: Korrelation zwischen dem fetalen Interleukin-6 und dem maternalen Nüchtern-Blutzucker	39
Abbildung 5: Proteinlevel von E-Cadherin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen	44
Abbildung 6: Exemplarischer Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung zur Darstellung der Lokalisation von E-Cadherin in der humanen Plazenta	45
Abbildung 7: Proteinlevel von P-Cadherin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen	47
Abbildung 8: Proteinlevel von VE-Cadherin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen	48
Abbildung 9: Korrelation zwischen dem Interleukin-6 im Nabelschnurblut und der relativen Proteinmenge von VE-Cadherin in der Plazenta	49
Abbildung 10: Exemplarischer Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung zur Darstellung der Lokalisation von VE-Cadherin in der humanen Plazenta	50
Abbildung 11: Proteinlevel von CD31 in den Plazenten der verschiedenen Gruppen	51
Abbildung 12: Exemplarischer Ausschnitt einer immunhistochemischen Färbung zur Darstellung der Lokalisation von CD31 in der humanen Plazenta	52
Abbildung 13: Proteinlevel von β -Catenin in den Plazenten der verschiedenen Gruppen	53
Abbildung 14: Korrelation zwischen dem Interleukin-6 im Nabelschnurblut und der relativen Proteinmenge von β -Catenin in der Plazenta	52

7.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Primär- und Sekundärantikörper für die Immunhistologie	26
Tabelle 2: Primär- und Sekundärantikörper für den Western Blot	29
Tabelle 3: Angaben zur Mutter nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft.	32
Tabelle 4: Angaben zur Mutter nach GDM.	33
Tabelle 5: Angaben zum Kind nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft.	36
Tabelle 6: Angaben zur Plazenta nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft.	36
Tabelle 7: Angaben zum Kind und zur Plazenta nach GDM.	38

Tabelle 8: Angaben zur Plazenta nach GDM.	38
Tabelle 9: Maternale und fetale Laborwerte nach maternalem BMI vor der Schwangerschaft.	41
Tabelle 10: Maternale und fetale Laborwerte nach GDM.	42

7.3. Chemikalien

Produkt	Firma	Methode
Natriumchlorid	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Plazentapräparation
Roti Histofix 4 % Formaldehyd, pH 7, säurefrei	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Gewebsfixierung
ROTIPURAN® ≥99,8 %, p.a., ACS, ISO	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Gewebsfixierung
Ethanol mit 1% MEK, vergällt	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Immunhistochemie
Neoclear®	Merck Millipore, Billerica Massachusetts, USA	Immunhistochemie
Neomount®	Merck Millipore, Billerica Massachusetts, USA	Immunhistochemie
Harnstoff Wasserstoffperoxid Tabletten	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Immunhistochemie
Hämalaunlösung sauer nach Mayer	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Immunhistochemie
Citratpuffer (Target Retrieval Solution) pH 6	Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland	Immunhistochemie
PBS Puffer Pulver	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland	Immunhistochemie
Trishydroxymethylaminomethan	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Proteininsolation, Western Blot
Salzsäure	Merck Millipore, Billerica Massachusetts, USA	pH-Einstellung
Natriumdesoxycholat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Igepal CA-360	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Phenylmethylsulfonylfourid (PMSF)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Leupeptin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung

Aprotinin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Pepstatin A	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Natriumfluorid (NaF)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Natriumorthovanadat (Na ₃ VO ₄)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Proteinbestimmung
Acrylamide Mix Gel 30 (Rotiphorese)	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Sodiumdodecylsulfat (SDS)	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Ammoniumpersulfat (APS)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Western Blot
1,4-Dithiothreit (DTT)	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Glycerin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Western Blot
Bromphenolblau	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
β-Mercaptoethanol	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Glycin, Elphograde	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Methanol	Merck Millipore, Billerica Massachusetts, USA	Western Blot
Milchpulver Blotting grade	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Ponceau S	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Bovines Serumalbumin (BSA) Fraktion V	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Tween 20 / Polyethylensorbitmonolaurate	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland	Western Blot

7.4. Material

Produkt	Hersteller	Methode
Tissue-Tek® Compound	O.C.T.™ Sakura AJ, Alphen aan den Rijn, Niederlande	Gewebeinbettung
S-Monovette EDTA	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	Blutentnahme
S-Monovette Serum	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	Blutentnahme
S-Monovette Heparin Plasma	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	Blutentnahme
Eppendorf Tube	Eppendorf, Hamburg, Deutschland	Probenkonservierung, Proteinisolation, Western Blot
Pierce™ DAB Substrate Kit	Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, USA	Immunhistochemie
Menzel-Gläser Superfrost Plus	Menzel GmbH & CoKG, Braunschweig, Deutschland	Immunhistochemie
Dako Antikörper Diluent	Agilent, Santa Clara, USA	Immunhistochemie
SEA BLOCK Blocking Buffer	Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, USA	Immunhistochemie
Pierce™ BCA Protein Assay Kit	Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, USA	Proteinbestimmung
96 Well Platte Nunc	Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, USA	Proteinbestimmung
PageRuler Prestained Protein Ladder	Thermo Fisher Scientific, Waltham Massachusetts, USA	Western Blot
Transfermembran Amersham™ Protran® NC 0,45 µm	Carl-Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland	Western Blot
Amersham™ ECL™ Prime Western Blotting Detection Reagent	GE Healthcare Life Sciences Solingen, Deutschland	Western Blot

7.5. Puffer

Name	Zusammensetzung	Methode
1x Citratpuffer	- 10 % (v/v) Dako Citrat pH 6 - Ad Milli Q Wasser	Immunhistochemie
1x PBS (nach Herstellerangaben)	- 9,55g/L Phosphate Buffered Saline: 1,47 mM Kaliumdihydrogenphosphat 8,1 mM Di-Natriumhydrogenphosphat 2,68 mM Kaliumchlorid 136,89 mM Natriumchlorid - Ad VE-Wasser	Immunhistochemie
RIPA Puffer	- 50 mM (m/v) Tris-HCl - 150 mM (m/v) Natriumchlorid - 1% (v/v) Igepal CA-360 - 0,25% (m/v) Natriumdesoxycholat	Proteinisolation

	<ul style="list-style-type: none"> - 1 mM (m/v) EDTA - 1 mM (v/v) PMSF (in Isopropanol) - 1 µg/ml Leupeptin - 1 µg/ml Aprotinin - 1 µg/ml Pepstatin A - 1 mM NaF - 1 mM Na₃VO₄ 	
Trenngel 8%	<ul style="list-style-type: none"> - 8,1% (v/v) Acrylamid Mix - 0,375 M (v/v) Tris, pH 8,8 (Trenngelpuffer) - 0,1% (v/v) SDS - 0,1% (v/v) APS - 0,06% (v/v) Tetramethylenediamine - Ad VE-Wasser - 	Western Blot
Trenngel 10%	<ul style="list-style-type: none"> - 9,9% (v/v) Acrylamid Mix - 0,375 M (v/v) Tris pH 8,8 (Trenngelpuffer) - 0,1% (v/v) SDS - 0,11% (v/v) APS - 0,04% (v/v) Tetramethylenediamine - Ad VE-Wasser 	Western Blot
Sammelgel	<ul style="list-style-type: none"> - 5,1% Acrylamid Mix - 0,13 M Tris pH 6,8 (Sammelgelpuffer) - 0,1 % SDS - 0,1% (v/v) APS - 0,1 % (v/v) Tetramethylenediamine - Ad VE-Wasser 	Western Blot
5x Probenpuffer	<ul style="list-style-type: none"> - 0,082 M (v/v) Sammelgelpuffer - 2,06% (v/v) SDS - 10% (v/v) Glycerin - 0,1% (v/v) Bromphenolblau - 25% (v/v) β-Mercaptoethanol - Ad VE-Wasser 	Western Blot
1x Laemmli-Puffer (Elektrophorese), pH 8,3	<ul style="list-style-type: none"> - 24 mM (m/v) Tris - 191mM (m/v) Glycin, - 0,1% (m/v) SDS - Ad VE-Wasser 	Western Blot
1x Towbin-Puffer für den Elektrotransfer im Semi-Dry-Blot-System	<ul style="list-style-type: none"> - 25 mM (m/v) Tris - 192 mM (m/v) Glycin - 10 % (v/v) Methanol - Ad VE-H₂O 	Western Blot
Ponceau-Färbung	<ul style="list-style-type: none"> - 0,2% (m/v) Ponceau - 3% Trichloressigsäure (v/v) 	Western Blot
1xTBST	<ul style="list-style-type: none"> - 10mM (m/v) NaCl - 1mM (m/v) Tris pH mit HCl auf 7,5 eingestellt - 0,1 % (v/v) Tween 20 - Ad VE-H₂O 	Western Blot
Blocking Solution	<ul style="list-style-type: none"> - 5% (m/v) Milchpulver - 2% (m/v) BSA - ad 1x TBST 	Western Blot

Antikörper- Verdünnung Milch	- 5% (m/v) Milchpulver - ad 1x TBST	Western Blot
Antikörper- Verdünnung BSA	- 5% (m/v) BSA - ad 1x TBST	Western Blot

7.6. Geräte

Name	Firma	Methode
Gewebeinfiltrationsautomat Leica ASP 300	Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nußloch, Deutschland	Gewebeinbettung
Paraffinausgussstation Leica EG1150 H	Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nußloch, Deutschland	Gewebeinbettung
Mikrotom Leica RM2	Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nußloch, Deutschland	Schnittanfertigung
Wasserbad TFB 45	Medite Medical GmbH, Burgdorf, Deutschland	Schnittanfertigung
Wärmeschrank	Binder GmbH, Tuttlingen, Deutschland	Schnittanfertigung
Dampfgarer FS 10 / FS 20 3216	Braun Procter & Gamble Service GmbH, Kronenberg im Taunus, Deutschland	Immunhistologie
Mikroskop BX43	Olympus K.K., Tokio, Japan	Einscannen der Immunhistologie
Kamera DP80	Olympus K.K., Tokio, Japan	Einscannen der Immunhistologie
Zentrifuge Rotina 420R	Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland	Zentrifugation Blut
Sonoplus	BANDELN electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland	Proteinisolation
Zentrifuge 5424 R	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland	Proteinisolation
Skyline Shaker DTS-4 6DE0949	LTF Labortechnik GmbH&Co KG, Wasserburg, Deutschland	Proteinbestimmung
Platten Reader Infinite M200 pro	Tecan, Männedorf, Schweiz	Proteinbestimmung
Thermomixer Comfort 5355	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland	Western Blot
PerfectBlue™ Double Gel System Twin M	Peqlab Biotechnologie GbmH, Darmstadt, Deutschland	Western Blot
EV202 und EV231. PowerPack Electrophoresis Power supply	Peqlab Biotechnologie GbmH, Darmstadt, Deutschland	Western Blot

Blotting Kammer Semi Dry	Peqlab Biotechnologie GbmH Darmstadt, Deutschland	Western Blot
Duomax 1030	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland	Western Blot
Molecular Imager ChemiDoc XRS+	Bio-Rad Laboratories GmbH, Feldkirchen, Deutschland	Western Blot
Vortex MixerV-1 plus	Kisker Biotech GmbH & Co. KG, Steinfurt, Deutschland	diverse

7.7. Software

Name	Firma	Methode
ImageLab v5.2.1	Bio-Rad Laboratories GmbH, Feldkirchen Deutschland	Bildanalyse Software
SPSS 25	IBM New York, USA	Statistische Analyse
i-Control™	Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria	Proteinbestimmung
Excel	Microsoft®, Washington, USA	Auswertung Proteinbestimmung, Western Blot