Medizinische Fakultät der Universität Duisburg-Essen

Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Evaluation der CEACAM1-Level im Serum von Schwangeren im ersten Trimester bei hohem Risiko für eine Präeklampsie

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin durch die

Medizinische Fakultät der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von Dimitrios Andrikos

aus Thessaloniki, Griechenland

2020

DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT DUISBURG ESSEN

Offen im Denken

ub universitäts bibliothek

Diese Dissertation wird über DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt und liegt auch als Print-Version vor.

DOI: 10.17185/duepublico/72772
URN: urn:nbn:de:hbz:464-20201007-123050-4

Alle Rechte vorbehalten.

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. J. Buer

1. Gutachter: Herr Priv.-Doz. Dr. med. P. Mach

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. M. Schmidt

Tag der mündlichen Prüfung: 5. August 2020

1. Inhaltsverzeichnis

1. Inhaltsverzeichnis **3**

2. Einleitung **5**

2.1 Immuntoleranz in der Schwangerschaft **5**

2.2 Normale Plazentation **6**

2.3 Präeklampsie **6**

2.3.1 Pathophysiologie der Präeklampsie und immunologischer Hintergrund **8**

2.3.2 SFlt-1 und PlGF **10**

2.3.3 Makroskopische Veränderungen der Plazenta bei Präeklampsie **11**

2.3.4 Prävention und Detektion der Hochrisikopatientinnen **11**

2.4 Das CEACAM1 Protein **13**

2.4.1 Allgemeine Informationen zu CEACAM1 ..... **13**

2.4.2 CEACAM1-Expression auf Immunzellen und deren Funktion **14**

2.4.3 CEACAM1 in der Schwangerschaft **14**

2.5 Zielsetzung der Arbeit **16**

3. Material und Methoden **17**

3.1 Studienpopulation **17**

3.2 Aufarbeitung der Blutproben **19**

3.3 Sandwich-ELISA CEACAM1 ..... **20**

3.4 Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel **21**

3.4.1 Laborgeräte **21**

3.4.2 Verbrauchsmaterial **22**

3.5 Durchführung des CEACAM1-ELISA **23**

3.6 Statistik **24**

4. Ergebnisse **26**

4.1 Deskriptive Statistik Hochrisikogruppe versus Kontrollgruppe **26**

4.2 Vergleich der sCEACAM1-Konzentration: Hochrisikogruppe versus Kontrollgruppe **29**

4.3 Vergleich der sCEACAM1-Konzentration: Hochrisikogruppe ohne PE-Entwicklung versus Hochrisikogruppe mit PE-Entwicklung versus Kontrollgruppe **30**

4.4 Vergleich der sCEACAM1-Konzentration nach Adjustierung für Gestationsalter bei Blutentnahme und mütterliches Alter **31**

4.5 ROC-Analyse und Hochrisikodiskriminierung **32**

4.6 Korrelation sCEACAM1-Konzentration mit Alter, BMI, PAPP-A, PlGF.....**33**

5. Diskussion **36**

6. Zusammenfassung **43**

7. Anhang **44**

7.1 Literaturverzeichnis **44**

7.2 Abkürzungsverzeichnis **54**

7.3 Abbildungsverzeichnis **56**

7.4 Tabellenverzeichnis **57**

8. Danksagung **58**

9. Lebenslauf **59**

2. Einleitung

2.1 Immuntoleranz in der Schwangerschaft

Eine Schwangerschaft ist immunologisch eine einzigartige Situation, da der Organismus der Mutter den hemiallogenen Fötus im Normalfall über einen Zeitraum von 9 Monaten tolerieren muss. Hochkomplexe Interaktionen zwischen fetalem Trophoblasten und mütterlichen dezidualen Immunzellen befähigen den Embryo bzw. den Fötus, sich im Endometrium zu implantieren und zu entwickeln, während das Immunsystem der Mutter keine Abstoßungsreaktion auslöst. Eine Dysregulation dieses Vorganges kann zu Schwangerschaftskomplikationen führen, wie eine Frühgeburtlichkeit als Folge von vorzeitiger Wehentätigkeit, einen Fruchtblasensprung oder eine Trophoblastinvasionsstörung und demzufolge eine Präeklampsie (PE) (Steinborn et al., 2004). Diese Komplikationen spielen heutzutage trotz der medizinischen Entwicklung eine vorrangige Rolle bezüglich Mortalität und Morbidität von Neugeborenen und Frauen (Khan et al., 2006). Daher ist die Entwicklung von neuen präventiven und therapeutischen Konzepten von großer Bedeutung, um Komplikationen zu reduzieren. Ein solches Konzept könnte darin bestehen, das Immungleichgewicht an der fetomaternalen Grenzzone bei Dysregulation wiederherzustellen.

Die mütterliche Immuntoleranz gegenüber dem Fötus, einem intrauterinen Allotransplantat, erfolgt durch die Herstellung eines Gleichgewichts zwischen der Stimulation und der Hemmung der Immunantwort an der fetomaternalen Grenzzone. In den 1950er-Jahren hat Medawar mögliche Mechanismen vorgeschlagen, z.B., dass das Immunsystem während der Schwangerschaft inaktiviert wird, oder dass der Fet antigenetisch unreif sei (Medawar, 1953).

Vor circa 20 Jahren wurde suggeriert, dass eine erfolgreiche Schwangerschaft abhängig von einer besonderen Antwort der T-Helfer-2(Th2)-Lymphozyten ist. Diese hemmen Angriffe des mütterlichen Immunsystems auf den Trophoblasten (Wegmann, 1993). Diese Theorien werden kontinuierlich verfolgt und teilweise auch bestätigt. Derzeit wird diskutiert, dass das Immunsystem während der Schwangerschaft nicht gehemmt wird, sondern im Gegenteil sehr aktiv ist, aber einer ständigen Kontrolle unterliegt (Mor, Cardenas, 2010). Diese geschieht nach aktuellen immunologischen Kenntnissen durch eine Reihe von molekularen Mechanismen sowohl des angeborenen als auch des erworbenen Immunsystems (Apps et al., 2009; Favier et al., 2007). Die Funktionen der

verschiedenen Immunzellen an der fetomaternalen Grenzfläche sind sehr vielfältig. Neben den uterinen natürlichen Killerzellen (uNK-Zellen), Makrophagen und dendritischen Zellen, spielen T-Zellen (insbesondere CD8+, CD4+ T-Zellen, regulatorische T-Zellen (Treg), γδ-T-Zellen und CD4+ HLA-G+ T-Suppressor-Zellen) eine entscheidende Rolle und machen etwa 10% der Deziduaimmunzellen aus (Sindram-Trujillo et al., 2003; Liu, 2017).

2.2 Normale Plazentation

Bei der normalen Plazentaentwicklung wird die mütterliche Immuntoleranz gefordert. Die Trophoblastinvasion in die mütterlichen Spiralarterien ist der ausschlaggebende Prozess für die ausreichende Blutversorgung des sich entwickelnden Feten und der Plazenta. Dies führt zum Remodelling der maternalen Gefäße mit geringem Widerstand und hoher Kapazität, in dem das Endothel und die Tunica muscularis media umgewandelt werden (Robertson et al., 1967; Zhou et al., 1997). Das Remodelling beginnt im späten ersten Trimenon und ist bis zur 20. Schwangerschaftswoche abgeschlossen (Lam et al., 2005). Die Zytotrophoblastzellen differenzieren durch Änderung ihrer Zytokin- und Adhäsionsmolekülmuster (Pseudovaskulogenese oder vascular mimicry) von ihrem epithelialen zu einem endothelialen Phänotyp und invadieren durch die Dezidua hindurch in das maternale Endothel. So werden die Spiralarterien in großlumige Gefäße transformiert und die ausreichende Blutversorgung des Fetus sichergestellt (Burton et al., 2009). Gleichzeitig muss eine massive und unkontrollierte deziduale Invasion durch Trophoblastzellen vermieden werden. Dieser hochkomplexe Prozess wird durch molekulare Komponenten, z.B. Zytokinmilieu (Saito, 2000), Adhäsionsmoleküle (CAM), extrazelluläre Matrix (ECM) und Matrix Metalloproteinasen (MMP) und zelluläre Komponenten, z.B. deziduale NK-Zellen und Treg-Zellen, kontrolliert (Burrows et al., 1996).

2.3 Präeklampsie

Präeklampsie (PE) ist eine Erkrankung, die über eine längere Zeit durch Gestationshypertonie (>140/90 mmHg) und Proteinurie (≥ 300 mg/24h nachgewiesen im 24-h-Sammelurin oder > 30mg/mmol Protein-Kreatinin-Ratio im Spontanurin), die nach der abgeschlossenen 20. Schwangerschaftswoche (SSW) aufgetreten sind,

charakterisiert worden ist. Seit 2019 wird die PE als erhöhter Blutdruck in der Schwangerschaft definiert, auch vorbestehend, mit mindestens einer neu auftretenden Organmanifestation, welche keiner anderen Ursache zugeordnet werden kann (Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, DGGG 2019). Symptomatik und laborchemische Veränderungen, wie z.B. Visusstörung, Kopfschmerzen, Oberbauchschmerzen, Thrombozytopenie und abnormale Leberfunktion können auch auftreten. Die o.g. Symptomatik ist die Folge von milder bis zu schwerer Mikroangiopathie, die die entsprechenden Organe betrifft, z.B. Gehirn, Leber, Nieren, Plazenta (Lain, Roberts, 2002). PE und andere hypertensive Störungen sind die führende Ursache von fetaler und maternaler Morbidität und Mortalität und kommen bei circa 2% bis 8% aller Schwangeren vor (Purde et al., 2015). Die PE wird in 2 Subtypen unterteilt; die Early-Onset Präeklampsie (EO-PE) < 34. SSW und die Late-Onset Präeklampsie (LO-PE) ≥ 34. SSW. EO-PE ist die Folge einer gestörten Trophoblastinvasion, während LO-PE eher durch maternale Bedingungen hervorgerufen wird (Valensise et al., 2008). Die Erkrankung manifestiert sich klinisch in der Regel spät im Verlauf der Schwangerschaft. Die initiale pathologische Störung findet jedoch im ersten oder im frühen zweiten Trimester statt (Borzychowski et al., 2006).

2.3.1 Pathophysiologie der Präeklampsie und immunologischer Hintergrund

Im Fall einer PE ändern die Trophoblastzellen ihren Phänotyp nicht, was zur ausbleibenden endovaskulären Trophoblastinvasion führt (Huppertz, 2008) (Abbildung 1).

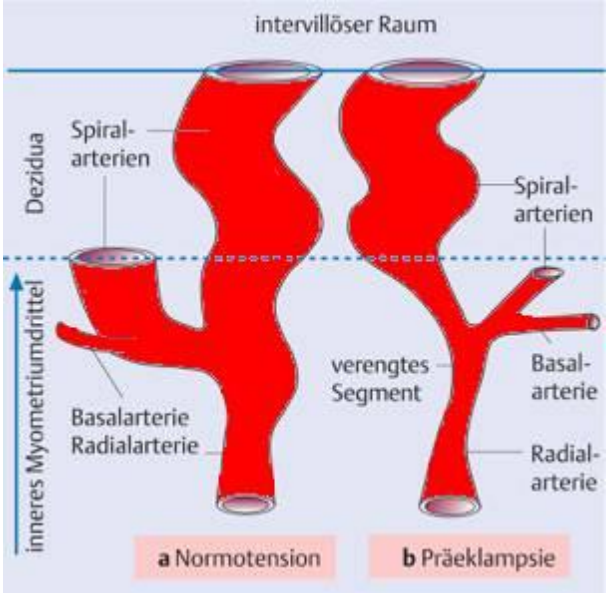

Abbildung 1. Pathophysiologie der Präeklampsie

Quelle: Hutter, S., Steldinger, R., Beham, A. Kardiovaskuläre Erkrankungen. In: Weyerstahl, T., Stauber, M., Hrsg. Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe. 4. vollständig überarbeitete Auflage. Thieme, 2013.

Der Mechanismus ist noch nicht vollkommen geklärt. Aufgrund familiärer Häufung sind hereditäre Faktoren nicht auszuschließen (Mütze et al., 2008), jedoch ist die aktuelle Hypothese die mütterliche immunologische Maladaptation und eine übermäßige Reaktion gegenüber den trophoblastären Zellen (Redman et al., 1999). Viele Studien haben sich damit hinsichtlich verschiedener immunologischer Aspekte beschäftigt und unterstützen diese Hypothese. Früher wurde angenommen, dass eine PE die Folge einer übermäßigen systemischen Entzündungsreaktion der Mutter ist mit einer Vorherrschaft der T-Helfer-1 (Th1)-Immunität (Redman et al., 1999). Heutzutage wird zunehmend die These unterstützt, dass die immunologische Maladaptation komplizierter ist. Die Th1-Antwort ist während einer Implantation und direkt vor der Geburt normal, nicht aber im zweiten Trimester oder zu Beginn des dritten Trimesters, dann wenn sich eine PE klinisch manifestiert (Mor, 2008; Figueiredo, Schumacher, 2016). Mehrere Studien konnten zeigen, dass das Immunsystem, einschließlich der

Treg-Zellen und der Th17-Zellen, eine wichtige Rolle bei dem Beginn einer PE spielt (Figueiredo, Schumacher, 2016). Die Interaktion zwischen extravillösen Trophoblastzellen und uterinen NK-Zellen in der Dezidua kontrolliert vermutlich die plazentare Invasion, sodass überaktivierte NK-Zellen zu einer abnormalen Implantation durch Toxizität gegenüber den Trophoblastzellen führen (Loke, King, 2000).

Huang et al. haben gezeigt, dass die vermehrte Infiltration der dendritischen Zellen in der Dezidua bei Patientinnen mit PE zu einer geänderten maternalen immunologischen Reaktion gegenüber fetalen Antigenen führt (Huang et al., 2008).

Außerdem herrschen in Präeklampsiefällen M1-Makrophagen in der Dezidua vor, die proinflammatorische Zytokine sezernieren, wie z.B. Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-12 (IL-12), Tumornekrosefaktor-a (TNFa). Im Gegensatz dazu stellen in einer normalen Schwangerschaft immunmodulatorische M2-Makrophagen die Hauptpopulation der Makrophagen (Faas et al., 2014).

Der stattgefundene Kontakt mit den paternalen Antigenen verringert das Risiko für eine PE, während Nulliparae, Frauen mit neuem Partner, Frauen die Barrieremethoden zur Verhütung benutzen und wenig Kontakt mit paternalen Antigenen hatten, ein Kollektiv mit höherem Risiko für PE darstellen (Koelman et al., 2000; Wang et al., 2002; Einarsson et al., 2003).

Alle diese molekularen und zellulären Veränderungen in der fetomaternalen Grenzzone führen bei der PE, als Folge einer immunologischen Maladaptation, zu einer gestörten Trophoblastinvasion.

Die abnormale Trophoblastinvasion führt zu eingeengten Spiralarterien und konsekutiv zu einem Ischämiezustand der Plazenta. Die Spiralarterien sind im Verlauf der Schwangerschaft unfähig, den erhöhten Blutbedarf der fetoplazentaren Einheit zu decken (Robertson et al., 1967; Gerretsen et al., 1981). Maternale Vorerkrankungen, die gehäuft mit einer schlechten plazentaren Perfusion einhergehen, wie z.B. arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Autoimmunerkrankungen, erhöhte Trophoblastmenge sind auch mit erhöhtem Risiko einer PE assoziiert (Dekker, 1999). Die Hypoperfusion führt zur vermehrten Apoptose des Trophoblasten und Freigabe von Membranfragmenten (Huppertz, 2008) und zum Ungleichgewicht zwischen angiogenetischen und antiangiogenetischen Faktoren, wie sFlt-1 und PlGF, die im maternalen Kreisslauf die endotheliale Funktion beeinflussen (Maynard et al., 2003). Die Abbildung 2 zeigt schematisch die Hypothese der Pathogenese der PE.

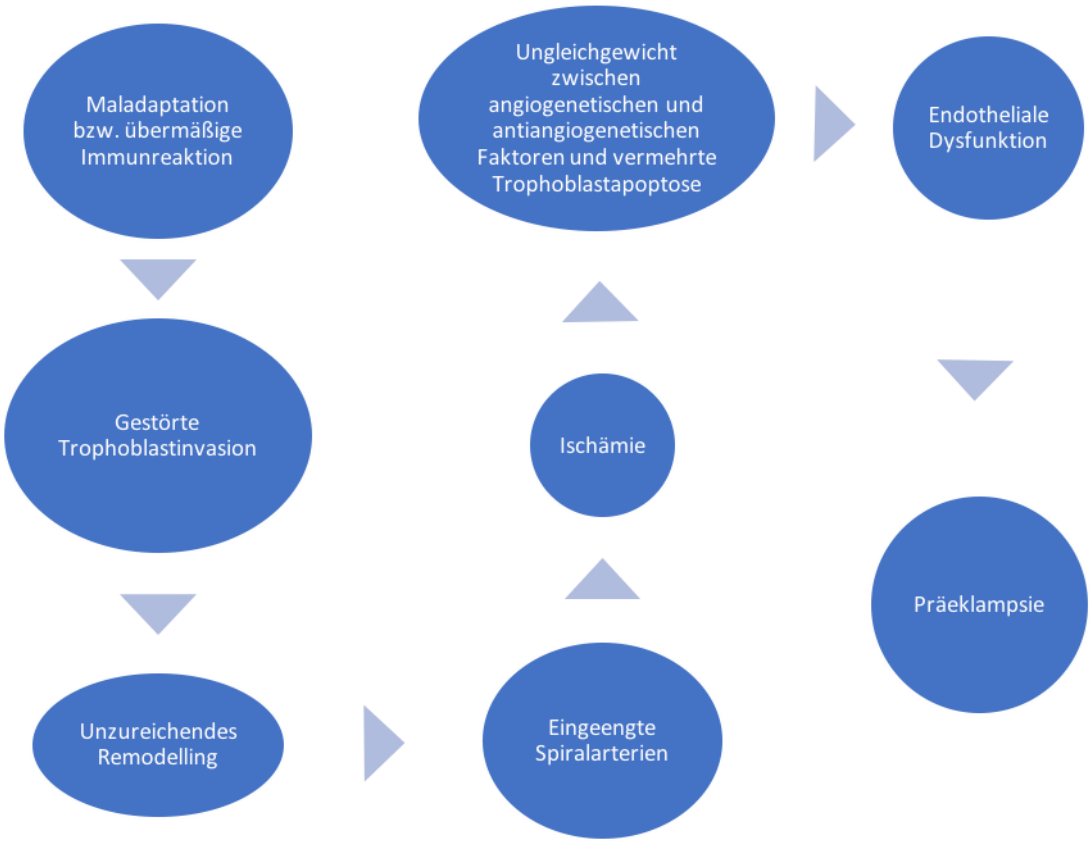

Abbildung 2. Hypothese der Pathogenese der Präeklampsie

2.3.2 SFlt-1 und PlGF

Die Plazenta sezerniert sowohl proangiogenetische als auch antiangiogenetische Faktoren, deren Gleichgewicht ausschlaggebend für den normalen Schwangerschaftsverlauf ist, da sonst eine endotheliale Dysfunktion ausgelöst werden kann (Maynard et al., 2003).

Der proangiogenetische placental growth factor (PlGF) ist ein Mitglied der Vascular endothelial growth factor (VEGF)-Familie. PlGF wird vom villösen und extravillösen Trophoblasten produziert und leitet nach Bindung mit dem VEGF-Rezeptor-1 angiogenetische Signale in die Zelle weiter (Zhou et al., 2002). Antagonismus des VEGF-Rezeptors-1 durch den bei hypoxischen Zuständen stark sezernierenden antiangiogenetischen Faktor soluble FMS-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1), oder löslichen

VEGF-Rezeptor-1, führt zu niedrigen Konzentrationen des VEGF und PlGF und zu einer endothelialen Dysfunktion (Mac Gabhann, Popel, 2004).
Bevor die klinische Symptomatik der PE sich manifestiert, sind die Serum Konzentrationen von sFlt-1 erhöht, während Konzentrationen von PlGF niedrig sind, was zu einer erhöhten sFlt-1/PlGF Ratio führt (Levine et al., 2004). Unabhängig vom Gestationsalter kann eine sFlt-1/PlGF Ratio < 38 den Beginn einer PE innerhalb von einer Woche mit einem negativen prädiktiven Wert von 99,3 % ausschließen (Zeisler et al., 2016).

2.3.3 Makroskopische Veränderungen der Plazenta bei Präeklampsie

1967 haben Robertson et al. beschrieben, dass morphologische Veränderungen der plazentaren Gefäße, wie z.B. die Gefäßatherose, den morphologischen Veränderungen einer Transplantatabstoßung ähneln. Es wurde damals behauptet, dass die PE auf dem Boden einer gestörten Immuntoleranz entsteht. Diese Veränderungen sind bei PE zu beobachten und korrelieren mit der Erkrankungsschwere, obwohl diese Merkmale nicht pathognomonisch für die PE sind (Zhou et al., 1997; Robertson et al., 1967; Gerretsen et al., 1981; De Wolf et al., 1975).

2.3.4 Prävention und Detektion der Hochrisikopatientinnen

Nach Diagnose kann bis dato keine Therapie den Progress der Erkrankung verringern, wobei es einige Fälle gibt, wo die Schwangerschaft mittels Plasmapherese und extrakorporale Entnahme von sFlt-1 prolongiert wurde (Iannaccone et al., 2017). Die einzige etablierte kausale Therapie ist die Beendigung der Schwangerschaft, meistens vorzeitig. Allerdings kann das Vorkommen einer PE durch die Einnahme von Aspirin® (Acetylsalicylsäure, kurz ASS), vor der 16. SSW, bei Hochrisiko gescreenten Frauen verringert werden (Poon et al., 2017). Screeningmethoden haben zum Ziel, Patientinnen vor der 16. SSW zu identifizieren, die von ASS profitieren können.
Viele Studien haben sich mit Biomarkerdetektion und Algorithmenentwicklung für die Risikoberechnung der plazentaren Dysfunktion in der Schwangerschaft beschäftigt. Es wird derzeit für die Risikoberechnung ein Algorithmus benutzt, der maternale demographische Charakteristika, Eigen- bzw. geburtshilfliche Anamnese, mittleren arteriellen Blutdruck (MAP), Pulsatilitätsindex (PI) der Aae. uterinae beidseits,

maternales PlGF und PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) im Serum zwischen der 11. und der 14. Schwangerschaftswoche einbezieht.

PAPP-A ist ein Metalloprotein welches in der Schwangerschaft vor allem vom Synzytiotrophoblasten synthetisiert und anschließend in die maternale Zirkulation sezerniert wird. In der Plazenta führt die proteolytische Spaltung von IGFBP-4 (Insulin-like-Growth-Factor-Binding-Protein 4) durch PAPP-A zu einem Anstieg der IGF- (Insulin-like-Growth-Factor) Bioverfügbarkeit (Sun et al., 2002). Durch IGF-II wird die Trophoblastinvasion in die maternale Dezidua sowie das plazentare Wachstum gefördert (Han et al., 1996).

Mit Hilfe des oben genannten Algorithmus kann bereits ab dem ersten Trimenon vorhergesagt werden, welche Patientinnen ein hohes Risiko für EO-PE (<34 SSW), LO-PE (≥34 SSW) und intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) <37 SSW haben (Akolekar et al., 2013). Der Algorithmus für die Risikoberechnung der EO-PE hat eine Detektionsrate von über 90% mit einer falsch positiven Rate von 5% bei einem cut-off Wert von 1:128 (Akolekar et al., 2011). Wird der cut-off als 1:269 definiert, erreicht man eine Detektionsrate für EO-PE von 96% mit einer falsch positiven Rate von 10% (Akolekar et al., 2013).

Die Vorbeugung und die Vorhersage der EO-PE ist erfolgreicher als die der LO-PE, was die unterschiedliche Pathophysiologie der beiden Krankheitsbilder verdeutlicht (Poon et al., 2017; Roberge et al., 2012; Akolekar et al., 2013; Redman et al., 2014). Die EO-PE ist die Folge einer gestörten Trophoblastinvasion, während die LO-PE eher durch schlechte maternale Bedingungen hervorgerufen wird (Valensise et al., 2008; Köninger et al., 2018). Die gestörte maternale Adaptation an das wachsende Plazentavolumen führt zur relativen Minderperfusion. Die LO-PE lässt sich schlecht identifizieren und lässt sich nicht mit ASS-Einnahme beeinflussen (Lan et al., 2019).

Obwohl sehr viel an der Detektion der PE geforscht wurde, bleibt die genaue Ätiologie wie oben erwähnt bis dato unklar. Viele Studien haben sich mit endogenen Immunmodulatoren beschäftigt, trotzdem sind die Ergebnisse sehr umstritten (Szarka et al., 2010; Sharma et al., 2007; Bernardi et al., 2012). Die Erzielung vom Immungleichgewicht scheint einen klinischen Nutzen zu haben, gerade bei Patientinnen, die trotz ASS eine PE entwickeln. Daher beschäftigt sich unsere Arbeit mit dem Immunmodulator CEACAM1.

2.4 Das CEACAM1 Protein

2.4.1 Allgemeine Informationen zu CEACAM1

Das Protein CEACAM1, Initialwort " carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1" ist der aktuelle Name dieses Adhäsionmoleküles nach einer Nomenklaturneuordnung 1999 (Beauchemin et al., 1999). Früher ist dieses Protein als CD66a, C-CAM, BGP beschrieben worden. CEACAM1 ist Mitglied der CEA-Familie, eine Subgruppe der Immunglobulin-Superfamilie und kommt mit vielen Isoformen vor, hauptsächlich als CEACAM1-L und CEACAM1-S (Ölbrink, 1997). Beim CEACAM1-L besteht die zytoplasmatische Domäne aus 71 Aminosäuren, während das CEACAM1-S 10 besitzt. CEACAM1 besteht meist aus vier extrazellulären, tandem-ähnlich hintereinander angeordneten Immunglobulin-ähnlichen Domänen (N-A1-B1-A2), einer transmembranen Domäne und einer zytoplasmatischen Domäne und fungiert als homologe aber auch als heterologe Zell-Zell-Verbinder (Markel et al., 2002).

CEACAM1 kommt entweder als zellgebundenes Oberflächenprotein (Ölbrink, 1997) oder sezerniert vor (Kuroki et al., 1991).

Beim Menschen wurden 11 unterschiedliche CEACAM1-Variationen beschrieben, abhängig von der Anzahl der extrazellulären Immunoglobulin-like-Domänen, der Membranverankerung und der Länge der zytoplasmatischen Domäne.

Die Analogie zwischen CEACAM1-S und CEACAM1-L kann unterschiedlich sein, abhängig vom Zelltyp und Zellphase (Singer et al., 2000).

CEACAM1 kann von Epithel-, Endothelzellen und hämatopoetischen Zellen (Leukozyten) exprimiert werden (Prall et al., 1996).

CEACAM1 ist ein multipotentes homophiles Adhäsionsmolekül und spielt bei vielen zellulären Aktivitäten wie z.B. bei der Regulation der Zellproliferation (Singer et al., 2000), Tumorwachstum (Kunath et al., 1995), Apoptose (Singer et al., 2005; Huang et al., 1999), Angiogenese (Ergün et al., 2000), T-Zell-Zytotoxizität (Morales et al., 1999), Funktion der dendritischen Zellen (Kammerer et al., 2001), Granulozytenaktivität (Skubitz et al., 1996), B- und T-Zell Funktionen (Kammerer et al., 1998; Greicius et al., 2003; Khairnar et al., 2015; Khairnar et al., 2018), epitheliale Polarisation (Huang et al., 1999) und Pathogenbindung wie etwa Escherichia Coli eine große Rolle (Leusch et al., 1991).

2.4.2. CEACAM1-Expression auf Immunzellen und deren Funktion

Leukozyten reagieren auf verschiedenste kostimulatorische oder koinhibitorische Signale und werden entsprechend aktiviert bzw. deaktiviert. Ein sehr wichtiger Rezeptor in diesem Prozess ist das CEACAM1 Protein. Verschiedene Studien haben versucht, die Funktion des CEACAM1 zu klären. Es ist davon auszugehen, dass die Funktion des CEACAM1 eher zellspezifisch ist. Auf die Epithelzellen scheint CEACAM1 eine inhibitorische Funktion zu haben (Kunath et al., 1995), während CEACAM1 in Granulozyten kostimulatorische Signale liefert (Skubitz et al., 1996).

Kammerer et al. 1998 haben gezeigt, dass man eine Up-Regulation der CEACAM1-Sekretion auf die T-Lymphozyten nach IL-2 Stimulation beobachtet. Nach IL-2 Aktivierung ändern sich die Lymphozyten auch morphologisch; sie werden größer und länglicher. Neben der Teilnahme in der morphologischen Veränderung ist die CEACAM1-Überexpression auch wichtig für die Proliferation der T-Zellen (Kammerer et al., 1998).

CEACAM1 kann sowohl kostimulatorisch als auch koinhibitorisch auf die B-Zellen wirken (Gray-Owen, Blumberg, 2006; Greicius et al., 2003). Welche Kriterien dies bestimmen ist unklar. Hypothetisch könnten die CEACAM1-S/CEACAM1-L Ratio, die Calmodulin-Bindung, CEACAM1-dimere Interaktionen oder die Serine/Threonine-Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne des CEACAM1 die entscheidenden Faktoren sein (Greicius et al., 2003).

2.4.3. CEACAM1 in der Schwangerschaft

Durch immunhistochemische Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass CEACAM1 während der Schwangerschaft in glandulären Zellen sowie im Endothel von kleineren Gefäßen exprimiert wird, während Stroma bzw. Deziduazellen keine Expression aufweisen (Bamberger et al., 2000). Im plazentaren Gewebe wird CEACAM1 vom extravillösen Trophoblast exprimiert, der villöse Zyto- und Synzytiotrophoblast sind CEACAM1-negativ (Bamberger et al., 2000). Es wird angenommen, dass CEACAM1 homophile und heterophile Bindungen zu anderen Proteinen vermittelt und konsekutiv die Zelladhäsion fördert (Bamberger et al., 2000). CEACAM1 könnte eine Rolle bei der Angiogenese endometrialer und plazentarer Gefäße als ein möglicher Angiogenesefaktor spielen (Ergün et al., 2000).

Das Molekül könnte aber auch eine immunmodulatorische Rolle während der Schwangerschaft haben. CEACAM1 ist auf der Oberfläche von den deziduellen CD4+CD45+RO T-Zellen in der fetomaternalen Grenzzone im ersten Trimester als Folge eines Kontakts zwischen Trophoblasten und Monozyten überexprimiert (Xie et al., 2013). Da CEACAM1 die T-Zell Funktionen beeinflusst und nach T-Zell Aktivierung auf die Zelloberfläche exprimiert wird, könnte CEACAM1 auch so indirekt eine immunmodulatorische Wirkung im ersten Trimester innehaben. In unserer Klinik konnte um PD Dr. Mach ebenfalls festgestellt werden, dass physiologisch die Konzentration des löslichen CEACAM1 (sCEACAM1) bei Schwangeren signifikant niedriger im Vergleich zur sCEACAM1-Konzentration von nicht Schwangeren ist, was die potentielle negative Wirkung einer erhöhten Konzentration dieses Moleküls für die Schwangerschaft impliziert (Mach et al., 2017).

Generell kann ein Immunungleichgewicht bzw. eine Abwehrreaktion gegenüber dem infiltrierenden Trophoblasten zu einer PE führen. Daher stellt sich die Frage nach der Existenz eines potentiell prädiktiven Immunbiomarkers, der gezielt auf dieser frühen Veränderung des Immunsystems beruht.

2.5 Zielsetzung der Arbeit

Eine erfolgreiche Schwangerschaft benötigt eine Toleranz des mütterlichen Immunsystems gegenüber den fremden Antigenen des Feten durch T-Zell Suppression (Petroff, Perchellet, 2010). Allerdings ist ein gewisses inflammatorisches Milieu bei der Implantation und unter der Geburt von großer Bedeutung. Ein Gleichgewicht zwischen Aktivierung und Hemmung des Immunsystems ist für die normale Entwicklung des Feten und den unauffälligen Schwangerschaftsverlauf ausschlaggebend, während eine gestörte Immuntoleranz zu Schwangerschaftskomplikationen wie z.B. der PE führen kann (Koelman et al., 2000; Mach et al., 2018).

CEACAM1 ist ein multifunktionelles Protein, das als wichtiger Regulator von zellulären Prozessen fungiert, wie z.B. Zelladhäsion, Inflammation, Differenzierung, Aktivierung von Leukozyten, Apoptose, Proliferation, Pathogenbindung (Singer et al., 2002; Gray-Owen, Blumberg, 2006). Darüber hinaus ist das sCEACAM1 in die Modulation des Immunsystems während einer physiologischen Schwangerschaft involviert (Mach et al., 2017). Die Rolle des sCEACAM1 ist bei der Plazentadysfunktion bis dato nicht bekannt.

Das Ziel der Arbeit war es daher zu untersuchen, ob schwangere Patientinnen, die im Ersttrimesterscreening als Hochrisikopatientinnen für die Entwicklung einer EO-PE (vor 34. SSW auftretend) gescreent wurden, eine andere sCEACAM1-Konzentration im Blut aufweisen als Schwangere, die als unauffällig gescreent wurden. Eine unterschiedliche sCEACAM1-Konzentration zwischen den Gruppen würde die Rolle dieses Moleküls bei der Plazentadysfunktion signalisieren.

3. Material und Methoden

3.1. Studienpopulation

Es wurden 126 schwangere Patientinnen retrospektiv zwischen 2013 und 2016 in der Frauenklinik im Universitätsklinikum Essen in die Analyse eingeschlossen. Von jeder Patientin wurde Blut zwischen der 11+1 und der 14+1 SSW abgenommen, um lösliche Proteine wie CEACAM1 im Serum zu bestimmen. Dafür wurde eine schriftliche Einverständniserklärung jeder Patientin, dass das Blut zu Forschungszwecken benutzt werden darf, erteilt. Eine Genehmigung für diese Studie liegt bei der zuständigen Ethikkommission der Universität Duisburg-Essen vor (Nr. 12-5212-BO).

Alle Patientinnen wurden im Rahmen einer Untersuchung im ersten Trimester (sog. 1. Trimester Screening) untersucht. Dabei wird das Risiko für eine EO-PE (< 34. SSW), LO-PE (≥ 34. SSW) sowie für eine IUGR < 37. SSW berechnet. Das Risiko basiert auf mütterlichen demographischen Charakteristika, allgemeiner und geburtshilflicher Anamnese, Doppleruntersuchung der Aae. uterinae, mittlerem arteriellem Blutdruck (MAP) sowie Laborparametern wie das PAPP-A und der PlGF (Akolekar et al., 2011).

Das Ersttrimesterscreening kann durchgeführt werden, wenn die Scheitel-Steiß-Länge (SSL) des Feten 45-84 mm beträgt. Es wurde das Programm View Point nach der Fetal Medicine Foundation (FMF)-London Algorithmus 2012 zur Risikokalkulation benutzt.

Die Dopplermessung der Aae. uterinae wurde mit einem Schallfenster von 2 mm durchgeführt. Der Insonationswinkel betrug <30°, die Flussgeschwindigkeit der Gefäße war mindestens 60 cm/s. Die Untersuchungen wurden von 4 verschiedenen Ultraschallexperten vorgenommen. Die Expertise wurde von der Institution: Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in Medizin e.V. (DEGUM) zertifiziert. 3 Ultraschallgeräte wurden benutzt: Voluson S8 (GE Healthcare, Chicago, Illinois), Voluson E8 (GE Healthcare, Chicago, Illinois) und Phillips iU22 (Phillips, Seattle, Washington). Der arterielle Blutdruck wurde in sitzender Position gemessen, die Arme dabei auf Herzhöhe positioniert. Es erfolgten sowohl am rechten als auch am linken Arm zwei Messungen mit 10 Minuten Pause.

Um die Risikostratifizierung vorzunehmen, wird zunächst das a priori Risiko einer Patientin für eine EO-PE, LO-PE sowie IUGR anhand der Anamnese und der mütterlichen Charakteristika definiert. Dies wird mit Wahrscheinlichkeitsquotienten multipliziert, nämlich mit dem arteriellen Blutdruck, dem Widerstand (Pulsatilitätsindex, PI) der Aae. uterinae, dem PAPP-A und dem PlGF. Um eine

Standarisierung dieser Parameter zu schaffen, werden sie in MoM-Werte (multiple of median) umgewandelt. Der MoM-Wert beschreibt, um wieviel höher oder niedriger ein Wert im Vergleich zu einem Durchschnittswert ist. Die Parameter werden mit Durchschnittswerten aus dem gleichen Gestationsalter verglichen, da diese Parameter sich im Verlauf der Schwangerschaft ändern.

Laut Bayes-Theorem würde jede Schwangere eine PE bekommen, wenn die Schwangerschaft nicht zeitlich begrenzt wäre. Je nach Werten (arterieller Blutdruck, Biomarker, Anamnese, PI der Aae. uterinae) kombiniert mit mütterlichen Charakteristika, schiebt sich die Gausssche Kurve entweder nach rechts oder links, wobei die x-Achse dem Gestationsalter entspricht. So bekommt man ein individuelles Risiko für jede Patientin, wann diese Patientin theoretisch eine PE entwickeln würde. Je rechts die Kurve, desto wahrscheinlicher findet die Entbindung vor der Entwicklung einer PE statt. Je weiter sich die Kurve nach links verschiebt, desto wahrscheinlicher ist die Entwicklung einer PE im frühen Gestationsalter, also vor der Entbindung.

Patientinnen, die ein Risiko >1 in 300 für EO-PE hatten (n=62), wurden in die Studie eingeschlossen, und wurden mit Patientinnen ohne erhöhtes Risiko für Plazentadysfunktion verglichen (n=64). Der cut-off wurde als 1:300 definiert. Auf diese Weise wird eine Detektionsrate für EO-PE von 96% mit einer falsch positiven Rate von 10% erreicht (Akolekar et al., 2013).

Von den 62 Hochrisikopatientinnen entwickelten 14 Patientinnen (22,6%) im Verlauf der Schwangerschaft eine PE. Die 2 Subgruppen, die Hochrisikopatientinnen mit oder ohne PE-Entwicklung, wurden miteinander bezüglich der sCEACAM1-Konzentration verglichen.

Die Kontrollgruppe (n=64) bestand aus gesunden Patientinnen, die ein unauffälliges 1. Trimester Screening und einen komplikationslosen Schwangerschaftsverlauf hatten. Diese Frauen wurden zufällig ausgewählt.

Alle Patientinnen dieser Studie haben im Universitätsklinikum Essen entbunden.

3.2 Aufarbeitung der Blutproben

9 ml Blut Serum wurde von jeder Patientin mit der S-Monovette Blood Collection System (Sarstedt AG and Co., Nürnbrecht, Deutschland) abgenommen. Die Blutproben wurden bei 4 °C gelagert und innerhalb von 4 Stunden zur Vorbeugung einer Zelllyse bearbeitet. Nach Zentrifugation wurde das Serum bei -80 °C eingefroren. Am Tag der Sandwich-ELISA-Untersuchung wurden die Proben langsam aufgetaut, und ca. 100 µL Blut von jeder Patientin wurde zur Bestimmung der sCEACAM1-Konzentration verwendet. Bei allen Serum Proben wurde der ELISA zweimal durchgeführt.

Die Serum Proben wurden ebenfalls im Rahmen des 1. Trimester Screenings für PAPP-A (BRAHMS PAPP-A, 866.075) und PlGF (BRAHMS PlGF plus, 859.075) mit einem BRAHMS KRYPTOR Immunanalyzator (BRAHMS Kryptor Compact, Thermo Fischer Scientific, BRAHMS GmbH, Henningsdorf, Deutschland) untersucht. Die Nachweisgrenzen lagen bei: 3,6 pg/mL für PlGF und 0,004 IU/L für PAPP-A.

3.3 Sandwich-ELISA CEACAM1

Zunächst wurde humanes lösliches CEACAM1, CEACAM3, CEACAM4, CEACAM5, CEACAM6, CEACAM7 und CEACAM8 von einem Festphase-gekoppeltem Erstantikörper (Kaninchen anti-CEA, Dako) gebunden. In Kombination dann mit dem Maus monoklonalen Antikörper (Maus mAK), der spezifisch gegen CEACAM1 gerichtet war, wurde das nachzuweisende CEACAM aus der Serumprobe gebunden. Der Nachweis erfolgte über ein Peroxidase-konjugiertes (HRP) Ziege anti-Maus IgG, der als Detektor fungierte. Es erfolgte anschließend die Messung der Peroxidase-bedingten Farbstoffumsetzung als Endpunktbestimmung.

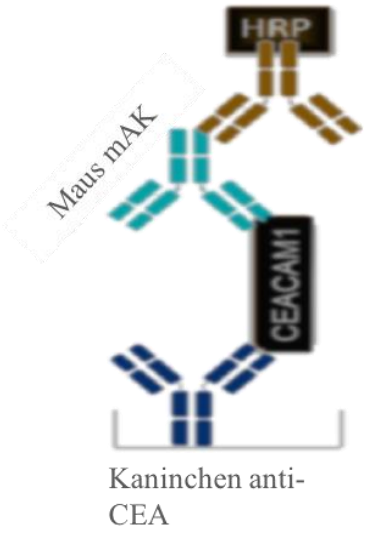

Abbildung 3: Modell der Sandwich-ELISA-Methode

3.4 Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel

3.4.1 Laborgeräte

Geräte	**Hersteller**
Pipette für 0,5 - 10µl, 10-100 µl und 100-1000 µl Volumina	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Multipipette für 100µl Volumina	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
8-Kanal-Pipette für 350 µl Volumina	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Photometer für Mikrotiterplatten	Sunrise-ELISA Reader, Tecan, Männedorf, Schweiz
Schüttler GFL3006	Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel, Deutschland
Zentrifuge Mikro 200R	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland
Vortex Genie 2	Scientific Industries, Bohemia, USA
Pipetus	Hirschmann Laborgeräte Eberstadt, Deutschland

Tabelle 1. Geräte und Hersteller

3.4.2 Verbrauchsmaterial

- Mikrotiterplatte (Flat-bottomed 96-well Universal Bindung Thermo Scientific No. 9502227).
- Reagenzientrog (jeweils 1x für Waschpuffer, 1x Blockierungspuffer) zum Pipettieren mit Mehrkanalpipette.
- 10/25 ml Pipetten, Greiner bio-one.
- Verdünnungspuffer (PBS mit 0,5 % BSA), PBS Dulbecco instamed 9,55 g/L Merck. Cat-No: L182-50.
- Blockierungspuffer (PBS mit 1 % BSA), sterile Stammlösung PAN Biotech Cat-No P06-139250.
- Waschpuffer, PBS Dulbecco instamed 9,55 g/L Merck. VE Wasser pH 7,41.
- Festphasenantikörper Kaninchen anti-CEA, Dako A0115 (bestellt über Biomol).
- Detektionsantikörper für CEACAM1 (B3-17, hergestellt von B. B. Singer, Anatomie, Uniklinikum Essen), Maus IgG1 kappa.
- HRP-Antikörper (Peroxidase-konjugiertes AffiniPure Ziege anti-Maus; Dako P0447, 25 µg/ml Konzentration).
- Blut Serum. Als Standard oder Positiv-Kontrolle wurde gereinigtes CEACAM1-Fc Protein (hergestellt von B. B. Singer, Anatomie, Uniklinikum Essen) verwendet. Anhand dieses Antigen/Protein-Standards kann die absolute Menge des in einer Probe vorhandenen Antigens ermittelt werden.
- Es wurde immer eine vorhandene Probe (Kontrollserum P1m) als Referenzprobe mitgerechnet.
- Substratlösung: Gebrauchsfertige TMB-Lösung für den Peroxidase-Nachweis. TMB X-tra REF 4800L, Eco-Tek, Kem-En-Tec Diagnostics. TMB ist lichtempfindlich.
- Stopplösung 0,2 M H2SO4 Cat-No: A0655, 2500 PE, Schwefelsäure 95-97% Applichem.

3.5 Durchführung des CEACAM1-ELISA

Alle Proben wurden 1:10 in Verdünnungspuffer verdünnt. Die ELISA Platte wurde zwischen den einzelnen Schritten ausgeschlagen. Zunächst wurde ein Festphase-gekoppelter Antikörper Kaninchen anti-CEA mit einer Konzentration von 2,5 µg/ml in PBS ohne BSA benutzt, jeweils 100 µl pro Well. Es erfolgte die Inkubation für 2 Stunden in Raumtemperatur. Anschließend erfolgte die Zugabe von jeweils 350 µl (2x 175 µl) Blockierungspuffer pro Well 1% BSA/PBS und die Inkubation über Nacht bei 4°C. Anschließend wurde die Platte 2x mit je 350 µl pro ’Well’ Waschpuffer gewaschen. Es erfolgte dann die Zugabe von 100 µl/’Well’ der zuvor verdünnten Proben (1:10 in 0,5 % BSA/PBS) bzw. der verschiedenen CEACAM1–Standardkonzentrationen und die Inkubation für 2 Stunden bei Raumtemperatur. Jede Probe wurde dreifach angesetzt. Im weiteren Verlauf wurde die Platte 3x mit je 350 µl pro ’Well’ Waschpuffer gewaschen. Anschließend erfolgte die Zugabe von 100 µl pro ’Well’ vom Detektionsantikörper Maus anti-CEACAM1 B3-17 mit einer finalen Konzentration von 5 µg/ml in Verdünnungspuffer und die Inkubation für weiteren 2 Stunden bei Raumtemperatur. Danach wurde die Platte erneut 3x mit je 350 µl pro ’Well’ Waschpuffer gewaschen. Desweiteren erfolgte die Zugabe von 100 µl pro ’Well’ vom polyklonalem Ziege Anti-Maus IgG-HRP Antikörper mit einer Konzentration von 25 µg/ml und die Inkubation für 90 Minuten bei Raumtemperatur. Dann wurde die Platte 4x mit je 350 µl pro ’Well’ Waschpuffer gewaschen und wurde gut ausgeschlagen, damit kein Verdünnungsfehler entsteht. Dann erfolgte die Zugabe von 100 µl pro ’Well’ von der Substratlösung (TMB) und die Inkubation für 15 Minuten bei leichtem Schütteln im Dunkeln. Anschließend erfolgte die Zugabe von 100 µl pro ’Well’ von der Stopplösung 0,2 M H2SO4 ohne die Platte vorher auszuschlagen. Als Letztes erfolgte nach 30 Minuten die photometrische Messung der ELISA Platte bei 450 nm mit einer Referenz von 620 nm.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,0 ng/mL			Proben in			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓
B	0,625 ng/mL			Triplikaten			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓
C	1,25 ng/mL			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓
D	2,5 ng/mL			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓
E	5,0 ng/mL			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓
F	10,0 ng/mL			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓
G	15,0 ng/mL			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓
H	20,0 ng/mL			⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	⇓	Kontrollserum P1m		

Tabelle 2. Pipettierschema für den ELISA

3.6 Statistik

Deskriptive Statistik wurde bei der Studienpopulation durchgeführt und als Mittelwert ± Standardabweichung (SD), Median mit Interquartilabstand (IQR) oder Anzahl (%) ermittelt. Differenzen bei nicht normal verteilten Daten zwischen den beiden Gruppen wurden durch den Mann-Whitney Test analysiert, Differenzen bei normal verteilten Daten durch T-Test und Häufigkeitszählungen durch den Chi-Quadrat Test ermittelt.

Die sCEACAM1-Konzentration wurde im Anschluss durch lineare Regression nach Gestationsalter bei Blutentnahme und nach mütterlichem Alter adjustiert. Der adjustierte Mittelwert ist mit 95% Konfidenzintervall (KI) angegeben. Dies wurde durch Herrn Dr. Boerge Schmidt aus dem Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie, Universität Duisburg-Essen gerechnet.

Die ROC (Receiver of Operating Characteristic)-Kurve wurde genutzt um zu überprüfen, ob die sCEACAM1-Konzentration im ersten Trimenon die Hochrisikopatientinnen für Präeklampsieentwicklung von den nicht Hochrisikopatientinnen unterscheiden kann.

Die Fläche unter der Kurve (AUC) schätzt wie wahrscheinlich es ist, richtig zwischen Hochrisikopatientinnen und Kontrollpatientinnen anhand der sCEACAM1-Konzentration zu diskriminieren.

Die Spearman-Rang-Korrelation zwischen sCEACAM1-Konzentration und Alter, BMI, PAPP-A, PlGF wurde durchgeführt, um monoton korrelierte Daten zu identifizieren.

Bei einem p-Wert von ≤0,05 wurde die durchgeführte Analyse als statistisch signifikant gewertet. Alle statistischen Analysen wurden mithilfe des Programms Medcalc, Version 17.9.7 und des R statistischen Pakets Version 3.4.0 durchgeführt (Medcalc Software, Ostend, Belgium).

4. Ergebnisse

4.1. Deskriptive Statistik Hochrisikogruppe versus Kontrollgruppe

In Tabelle 3 werden die klinischen und laborchemischen maternalen und neonatalen Charakteristika sowie die sCEACAM1-Konzentration im mütterlichen Serum bei Hochrisikopatientinnen für PE-Entwicklung und bei nicht Hochrisikopatientinnen dargestellt. Die mediane lösliche CEACAM1-Konzentration im ersten Trimenon bei Hochrisikopatientinnen betrug 67,26 ng/mL (IQR 56,75-76,06). Dieser Wert ist signifikant höher als die mediane sCEACAM1-Konzentration bei der Kontrollgruppe, die 61,38 ng/mL (IQR 57,36- 67,75) (p=0,02) betrug.

Die klinischen (mittlerer arterieller Blutdruck, PI der Aae. uterinae, BMI) und die laborchemischen Parameter (PAPP-A, PlGF) unterscheiden sich hochsignifikant bei beiden Gruppen. Demzufolge beobachtet man bei den Hochrisikopatientinnen eine frühere Entbindung mit einem kindlichen Geburtsgewicht von durchschnittlich 3,01 kg, während die Kontrollpatientinnen im Durchschnitt 10 Tage später, mit einem kindlichen Geburtsgewicht von 3,44 kg, geboren haben. Darüber hinaus sieht man eine große Differenz, was den Entbindungsmodus angeht. Bei der Hochrisikogruppe wurde eine Sectio bei 67% durchgeführt, davon waren 58% primäre Sectiones. Die Kontrollgruppe hat hauptsächlich spontan geboren (63%), circa 20% waren primäre Sectiones. Die Differenzen zwischen den beiden Gruppen wurden je nach Verteilung der Daten mit Median (IQR), Mittelwert (±SD) oder Anzahl (%) errechnet. Neben dem Parameter steht jeweils was man benutzt hat, um den p-Wert zu ermitteln.

Parameter	Hochrisikogruppe	Kontrollgruppe	p-Wert
Gravidität, Median (IQR)	2 (±1,19) 2 (1-3)	2 (±1,40) 2 (1-3)	0,65
Parität, Median (IQR)	1 (±0,84) 0 (0-1)	1 (±0,79) 0 (0-1)	0,35
Maternales Alter bei Entbindung (Jahre), Mittelwert (±SD)	34 (±5,29) 33 (31-38)	34 (±4,56) 34 (31-37)	0,68
Schwangerschafts-BMI (kg/m²), Median (IQR)	29,97 (±8,06) 28,70 (23,25 - 35,60)	24,69 (±5,70) 23,80 (21,90 - 26,20)	<0,001
Raucher, Anzahl (%)	6,45%	6,25%	0,96
Kaukasische ethnische Gruppe, Anzahl (%)	95,16%	98,43%	0,29
Mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg), Mittelwert (±SD)	102 (±10) 102 (94-108)	90 (±8) 92 (83-95)	<0,001
A. ut. PI, Mittelwert (±SD)	1,76 (±0,57) 1,69 (1,38-2,10)	1,42 (±0,42) 1,45 (1,10-1,70)	<0,001
PAPP-A (IU/L), Median (IQR)	3,02 (±2,46) 2,25 (1,21 - 3,87)	3,96 (±2,25) 3,40 (2,44 - 4,83)	<0,001
PlGF (pg/mL), Median (IQR)	32,03 (±16,03) 26,32 (21,05 - 37,91)	40,61 (±15,49) 38,31 (31,09 - 45,91)	<0,001
GA bei Entbindung (Tage), Median (IQR)	259 (±18) 263 (254 - 270)	270 (±14) 272 (266 - 280)	<0,001
Geburtsgewicht (g), Median (IQR)	2851 (±687) 3013 (2489 - 3349)	3375 (±569) 3445 (3075-3805)	<0,001
Spontanpartus, Anzahl (%)	32%	63%	<0,001

Sectio ceasarea, Anzahl (%)	68%	37%	<0,001
Primäre Sectio, Anzahl (%)	58,06%	20,31%	<0,001
Sekundäre Sectio, Anzahl (%)	9,67%	17,18%	0,21
Apgar Score 5´, Median (IQR)	9,39 (±1,17) 10 (9 - 10)	9,76 (±0,55) 10 (10-10)	0,09
pH, arteriell, Median (IQR)	7,28 (±0,58) 7,30 (7,25 - 7,32)	7,28 (±0,62) 7,29 (7,26 - 7,32)	0,78
GA bei Blutentnahme (Tage), Median (IQR)	88 (±4,72) 89 (85 - 91)	86 (±4,70) 86 (83 - 89)	0,01
sCEACAM1(ng/mL), Median (IQR)	67,84 (±14,32) 67,26 (56,69 - 76,09)	63,24 (±11,32) 61,38 (57,34 - 67,79)	0,02

Tabelle 3. Vergleich Hochrisikogruppe (n=62) versus Kontrollgruppe (n=64)

BMI=Body Mass Index, kg/m2=Körpergewicht (kg) dividiert durch das Quadrat der Körpergröße (m2), PlGF=Placenta like Growth Factor, GA=Gestationsalter, PI=Pulsatilitätsindex, A. Ut=Arteria Uterina, mmHg=Millimeter Quecksilbersäule, sCEACAM1=lösliches CEA related cell adhesion molecule 1, PAPP-A=Pregnancy-associated plasma protein A, g= Gramm

4.2 Vergleich der sCEACAM1-Konzentration: Hochrisikogruppe versus Kontrollgruppe

Die sCEACAM1-Verteilung beider Gruppen im ersten Trimenon wird schematisch dargestellt (Abbildung 4). Die mediane sCEACAM1-Konzentration bei Hochrisikopatientinnen (n=62) betrug 67,26 ng/mL (IQR 56,75-76,06). In der Kontrollgruppe (n=64) betrug diese 61,38 ng/mL (IQR 57,36- 67,75) mit einem p-Wert von 0,02.

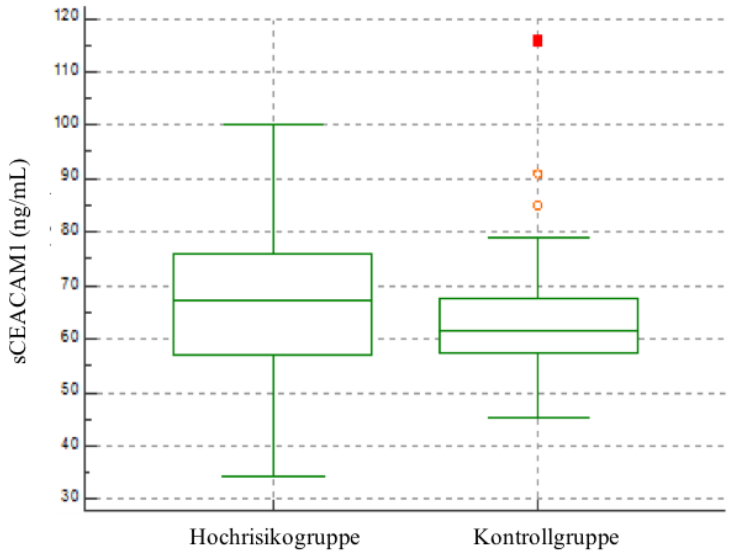

Abbildung 4. Box Plots zur Darstellung der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) in der Hochrisikogruppe versus Kontrollgruppe (p=0,02)

4.3 Vergleich der sCEACAM1-Konzentration: Hochrisikogruppe ohne PE-Entwicklung versus Hochrisikogruppe mit PE-Entwicklung versus Kontrollgruppe

Es wurde im Anschluss die sCEACAM1-Konzentration zwischen Hochrisikopatientinnen, die keine PE entwickelt haben (n=48) versus Hochrisikopatientinnen mit PE-Entwicklung (n=14) versus Kontrollgruppe (n=64) verglichen (Abbildung 5). Die mediane sCEACAM1-Konzentration bei der Hochrisikogruppe ohne PE betrug 66,61 ng/mL (IQR 56,95-75,44). In der Hochrisikogruppe mit PE betrug diese 71,65 ng/mL (IQR 55,42-85,65). In der Kontrollgruppe lag die mediane sCEACAM1-Konzentration bei 61,38 ng/mL (IQR 57,36- 67,75) (p= 0,06).

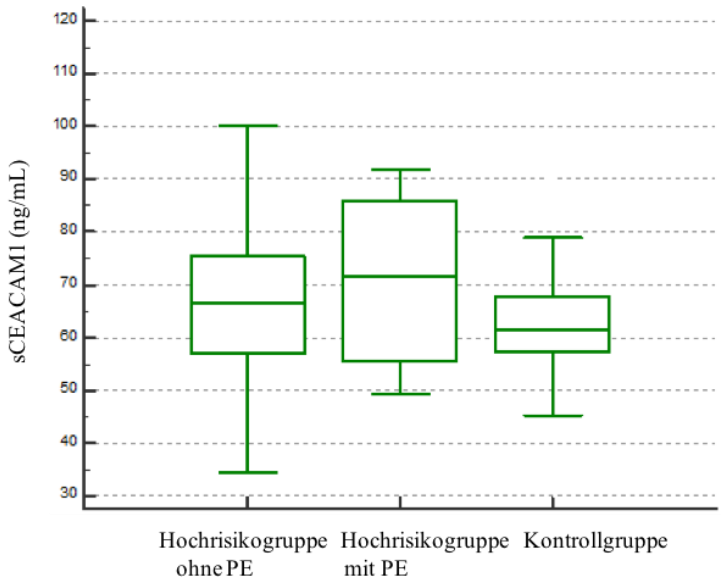

Abbildung 5. Box Plots zur Darstellung der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) in der Hochrisikogruppe ohne PE-Entwicklung versus Hochrisikogruppe mit PE-Entwicklung versus Kontrollgruppe (p=0,06)

4.4 Vergleich der sCEACAM1-Konzentration nach Adjustierung für Gestationsalter bei Blutentnahme und mütterliches Alter

Es wurde im Weiteren die sCEACAM1-Konzentration zwischen Hochrisikopatientinnen, die keine PE entwickelt haben (n=48) versus Hochrisikopatientinnen mit PE-Entwicklung (n=14) versus Kontrollgruppe (n=64) nach Adjustierung für Gestationsalter bei Blutentnahme und mütterliches Alter verglichen. Dafür wurde eine lineare Regression benutzt, mit sCEACAM1 als abhängige Variable und allen anderen Variablen als unabhängige Parameter. Der adjustierte Mittelwert der sCEACAM1-Konzentration betrug bei der Kontrollgruppe 62,9 ng/mL (95% Konfidenzintervall, KI 59,7-66,1), bei der Hochrisikogruppe ohne PE 67,5 ng/mL (95% KI 63,7-71,2) und bei der Hochrisikogruppe mit PE 70,8 ng/mL (95% KI 64,0-77,6). Wenn die Kontrollgruppe mit der Hochrisikogruppe ohne PE verglichen wird, ergibt sich ein p-Wert von 0,07. Allerdings ist die adjustierte sCEACAM1-Konzentration höher in der Hochrisikogruppe mit PE als in der Kontrollgruppe mit einem p-Wert von 0,04.

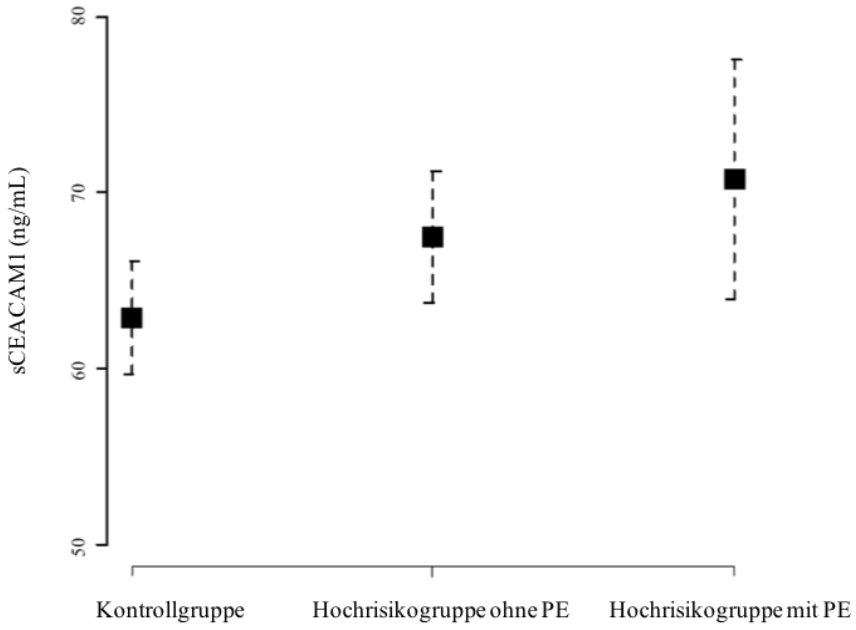

Abbildung 6. Darstellung der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) nach Adjustierung für Gestationsalter bei Blutentnahme und mütterliches Alter: Kontrollgruppe versus Hochrisikogruppe ohne PE-Entwicklung versus Hochrisikogruppe mit PE-Entwicklung

4.5 ROC-Analyse und Hochrisikodiskriminierung

Im Weiteren wurde eine ROC (Receiver of operating Characteristics)-Analyse durchgeführt. Es wurde geprüft, inwiefern die sCEACAM1-Konzentration die Hochrisiko- von der Kontrollgruppe diskriminieren kann. Die Analyse der ROC-Kurve ergab eine Fläche unter der Kurve (AUC) von 0,61 (p-Wert=0,02) mit einer Sensitivität von 45,2% und einer Spezifität von 82,8%.

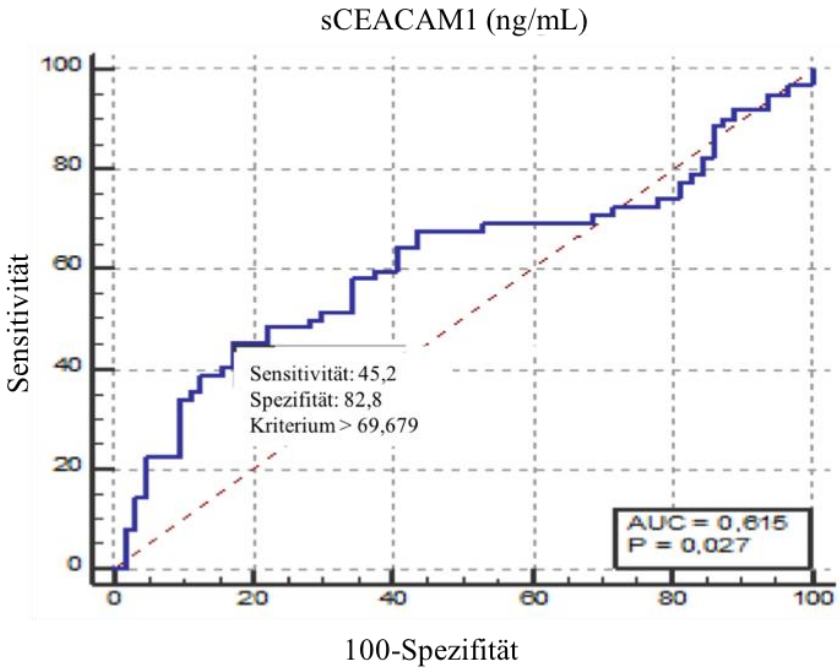

Abbildung 7. ROC-Kurve zum Zusammenhang zwischen Sensitivität und Spezifität für die Diskriminierung zwischen Hochrisikogruppe und Kontrollgruppe anhand der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL)

4.6 Korrelation sCEACAM1-Konzentration mit Alter, BMI, PAPP-A, PlGF

Im Anschluss wurde überprüft, ob die sCEACAM1-Konzentration mit klinischen und laborchemischen Parametern der Patientinnen korreliert. Dies wurde für das gesamte Patientinnenkollektiv untersucht. Insbesondere wurde geprüft, ob die sCEACAM1-Konzentration mit dem maternalen Alter, BMI, PAPP-A oder PlGF korreliert. Die sCEACAM1-Konzentration korreliert positiv mit dem maternalen Alter, BMI, PAPP-A und negativ mit dem PlGF, ohne eine statistische Signifikanz zu erreichen.

		Maternales Alter (Jahre)	Schwangerschaft BMI (kg/m2)	PAPP-A (IU/L)	PlGF (pg/mL)
sCEACAM 1 (ng/mL)	Korrelationskoeffizient	0,063	0,120	0,006	-0,136
	Signifikanzniveau P	0,48	0,18	0,95	0,13
	N	126	124	126	124

Tabelle 4. Korrelation sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) mit Alter (Jahre), BMI (kg/m2), PAPP-A (IU/L), PlGF (pg/mL)

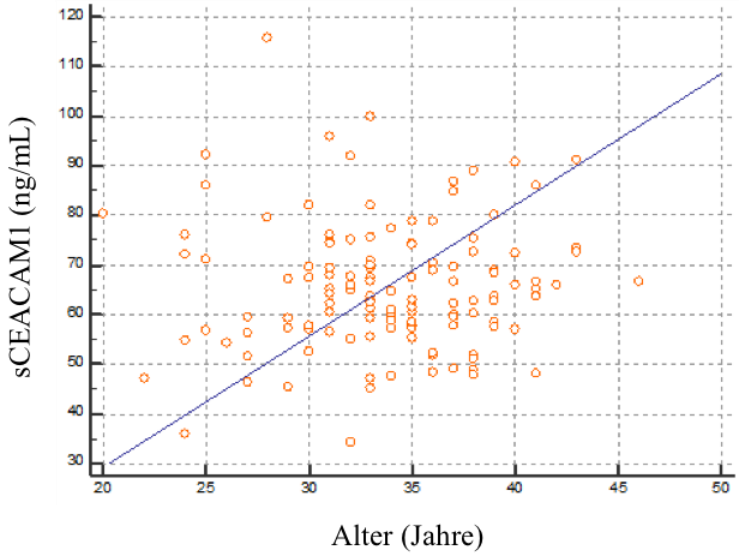

Abbildung 8. Korrelation zwischen sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) und maternalem Alter (Jahre) in der Gesamtgruppe

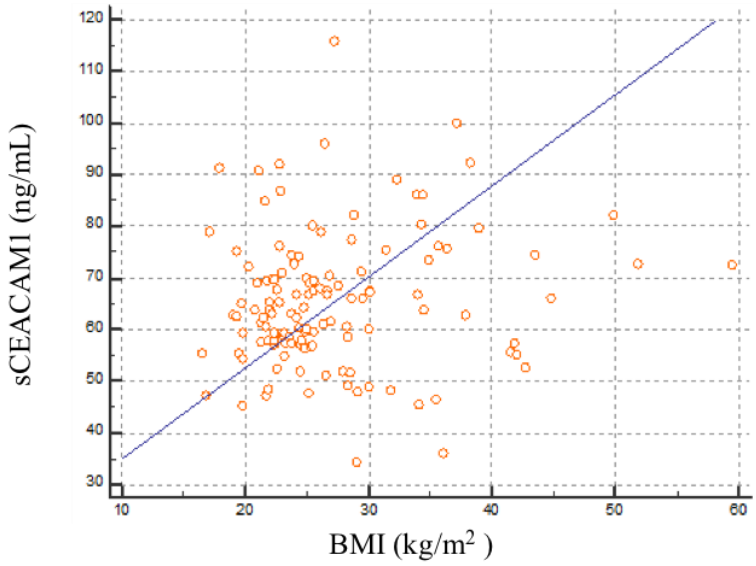

Abbildung 9. Korrelation zwischen sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) und BMI (kg/m2) in der Gesamtgruppe

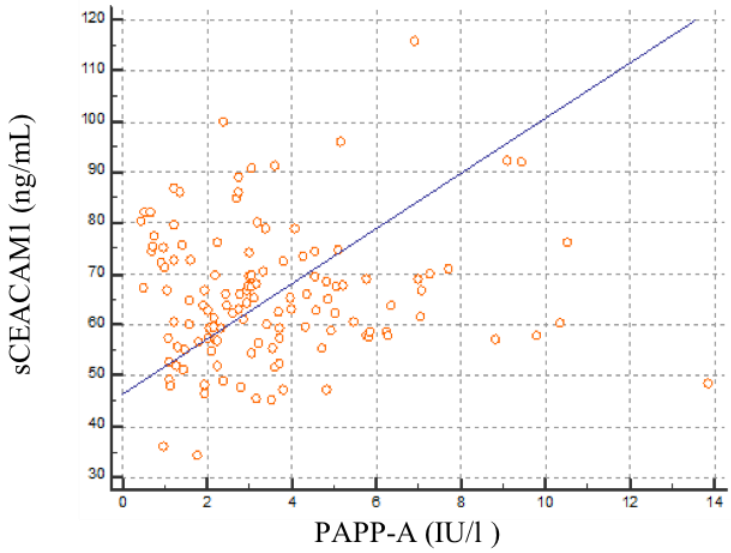

Abbildung 10. Korrelation zwischen sCEACAM1- (ng/mL) und PAPP-A- (IU/l) Konzentration in der Gesamtgruppe

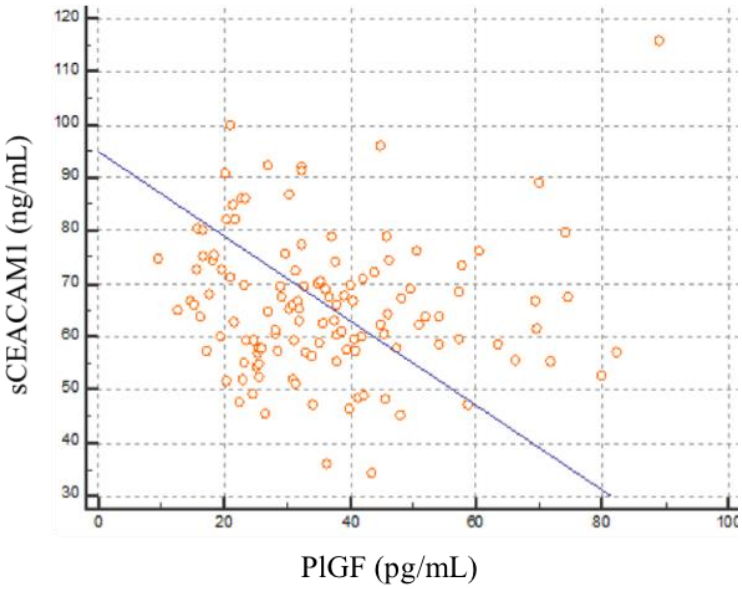

Abbildung 11. Korrelation zwischen sCEACAM1- (ng/mL) und PlGF- (pg/mL) Konzentration in der Gesamtgruppe

5. Diskussion

Die genaue Ätiologie der PE ist weiterhin unklar. Es gibt viele Risikofaktoren für die Präeklampsieentwicklung, sowohl anamnestische (Antiphospholipidsyndrom, Z.n. PE, BMI>30, vorbestehender insulinpflichtiger Diabetes mellitus, familiäre Belastung, vorbestehende Nierenerkrankung, Erstparität, Alter>40, chronische Hypertonie, Autoimmunerkrankungen, Ethnizität) (Duckitt, Harrington, 2005) als auch schwangerschaftsassoziierte (Erstparität, Mehrlingsschwangerschaft, IVF/Eizellspende) (Bartsch et al., 2019). Behandelt man mit niedrig dosierter ASS alle Frauen mit Risikofaktoren, so hat man weniger als die Hälfte der Patientinnen, die eine PE bekommen, identifiziert (O' Gorman et al., 2017). Deshalb wird heutzutage das umfangreichere, durch Akolekar und Nicolaides entwickelte Ersttrimesterscreeening, benutzt. Diese Untersuchung wird bei einer fetalen SSL von 45-84 mm durchgeführt und umfasst sowohl anamnestische als auch dopplersonographische und biochemische Parameter zur Risikoberechnung. Sie kann vorhersagen, welche Patientin zum Hochrisikokollektiv für eine EO-PE, LO-PE, IUGR gehört. Ziel dieser Untersuchung ist die Hochrisikopatientinnen früh zu detektieren und das Vorkommen einer EO-PE durch regelmäßige ASS-Einnahme vor der 16. SSW entsprechend zu verhindern. Bei unserer Studie wird die Hochrisikopatientin als eine Patientin mit Risiko > 1:300 für die Entwicklung einer EO-PE definiert, da mit diesem cut-off Wert eine Detektionsrate von 96% mit einer falsch positiven Rate von 10% erreicht werden kann. Trotz guter Detektionsmethoden bleibt der genaue Mechanismus der PE-Entwicklung unklar, daher beschäftigt sich die Forschung heutzutage intensiv mit der mütterlichen immunologischen Maladaptation.

Der Misserfolg der Induktion einer adäquaten Immuntoleranz ist mit der Präeklampsieentwicklung assoziiert (Redman et al., 1999). Es ist bis dato viel über dieses Thema geforscht worden, es bleibt aber noch einiges pathophysiologisch unklar. CEACAM1 ist ein immunmodulatorisches Molekül und spielt eine entscheidende Rolle bei der T-Zell Aktivierung (Kammerer et al., 1998). Seine Konzentration im mütterlichen Blut schwankt im Verlauf der Schwangerschaft. Die niedrigste Konzentration des sCEACAM1 ist im 2. Trimenon zu beobachten, wo ein antiinflammatorischer Zustand bei gleichzeitig fetalem Wachstum herrscht, weil die Th2-Antwort dominiert (Mor, 2008). Die klinischen Beschwerden wie Müdigkeit und Übelkeit (Koga, Mor, 2010), die durch das inflammatorische Milieu zu Beginn der

Schwangerschaft mit Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen (z.B. TNFa) und Chemokinen im Endometrium durch die Th1-CD4+ T-Zellen erklärbar sind, lassen im 2. Trimenon in der Regel nach.

Die sCEACAM1-Konzentration ist insgesamt niedriger bei Schwangeren als bei nicht Schwangeren (Mach et al., 2017), was die aktive immunmodulatorische Rolle dieses Proteins in der Schwangerschaft signalisiert. sCEACAM1 und andere immunmodulatorische Moleküle könnten daher pathogenetisch eine wichtige Rolle für die PE spielen. Nach unserem Wissen gibt es bis dato in der Literatur keine Daten, dass das sCEACAM1 Protein in der Präeklampsieentwicklung involviert ist.

Aus den o.g. Gründen wurde diese Arbeit konzipiert und die sCEACAM1-Konzentrationen im mütterlichen Blut im ersten Trimenon bei Hochrisikopatientinnen für PE-Entwicklung und bei Kontrollpatientinnen bestimmt. Anschließend wurde die Hochrisikogruppe in 2 Subgruppen unterteilt: eine mit PE- und eine ohne PE-Entwicklung im Schwangerschaftverlauf. Ziel dieser Arbeit war zu erforschen, ob und inwiefern sich die sCEACAM1-Konzentration zwischen einer Hochrisikogruppe für PE-Entwicklung und einer Kontrollgruppe unterscheidet. Dies ist schon anhand anderer immunmodulatorischen Proteine, die ebenso die Funktion von T-Zellen regulieren, wie das lösliche B7-H4 (sB7-H4) untersucht worden (Mach et al., 2018). B7-H4 gehört zur B7-Familie, was kostimulierend die T-Zell-Antwort herunterreguliert (Choi et al., 2003). sB7-H4 Konzentrationen sind antagonistisch erhöht bei Hochrisikopatientinnen im 1. Trimenon als Reaktion eines überaktivierten Immunsystems.

Als Hauptergebnis dieser Arbeit konnten wir bei Hochrisikopatientinnen für eine PE signifikant höhere sCEACAM1-Konzentrationen im ersten Trimenon nachweisen als bei gesunden schwangeren Frauen (p-Wert von 0,02). Dieses Ergebnis unterstützt die Hypothese der immunologischen Maladaptation und der erhöhten Aktivität des Immunsystems bei PE im 1. Trimenon. In dieser Schwangerschaftsphase spielen viele Immunzellen eine Rolle, unter anderen die T-Zellen. Eins der endogenen Immunmodulatoren mit regulatorischer Wirkung auf die T-Zellen ist das CEACAM1.

CEACAM1 wirkt als kostimulatorisches sowie koinhibitorisches Molekül, wobei das Membran verankerte CEACAM1 überwiegend kostimulatorisch auf die T- und B-Zellen nach Ligandbindung wirkt (Kammerer et al., 1998; Khairnar et al., 2015). Niedrigere sCEACAM1-Konzentration im Serum würde auch weniger Ligandenbindung für den membranverankerten Rezeptor und konsekutiv potenziell niedrigere kostimulatorische Aktivität der T- und B-Zellen bedeuten, was für den

Schwangerschaftsverlauf von großer Bedeutung ist (Mach et al., 2017). Höhere kostimulatorische Aktivität könnte die Schwangerschaft negativ beeinflussen im Sinne einer unzureichenden immunologischen Toleranz und konsekutiv einer PE.

CEACAM1 als Rezeptor kann aber auch durch Hemmung der durch Toll-Like Rezeptor 2 (TLR-2) ausgelösten Immunantwort koinhibitorisch wirken, wenn er mit CEACAM8 als Ligand interagiert (Singer et al., 2014). Der TLR-2 erkennt hauptsächlich Oberflächenmoleküle mehrerer Pathogene und leitet Signale in die Zelle weiter (Koga, Mor, 2010). Außerdem erkennt der TLR-2 den hemiallogenen Fet und kann in der Pathophysiologie mancher Schwangerschaftskomplikationen wie Frühgeburtlichkeit, Abort und PE involviert sein (Riley, Nelson, 2010; Koga, Mor, 2010). Bindung des TLR-2 im ersten Trimenon führt zur Apoptose des Trophoblasten (Abrahams et al., 2004). Die inhibitorische Wirkung des CEACAM1 an die TLR-2 bedingte Immunantwort signalisiert also die Multipotenz dieses Moleküls in der Immunmodulation.

Des Weiteren wurde die Diskriminationsfähigkeit des gemessenen Parameters (sCEACAM1) überprüft, das heißt die Fähigkeit der sCEACAM1-Konzentration zwischen Hochrisikopatientinnen und Kontrollpatientinnen zu unterscheiden. Die durchgeführte ROC-Kurve ergab eine AUC von 0,615 mit einer Sensitivität von unter 50%. Dies bedeutet, dass sCEACAM1 kein guter prädiktiver Marker für ein erhöhtes PE-Risiko im Vergleich zur Kontrollgruppe ist.

Da schwangere Frauen mit erhöhtem PE-Risiko oft eine sehr heterogene Gruppe sind, scheint die Charakterisierung der Patientinnenpopulation von großer Bedeutung zu sein. Zwischen der Hochrisikogruppe und der Kontrollgruppe gab es außer der sCEACAM1-Konzentration auch andere signifikante Unterschiede, unter anderen den Body Mass Index (BMI). Der mediane Wert des BMI betrug in der Hochrisikogruppe 28,7 während bei der Kontrollgruppe der Wert bei 23,8 lag. Dies ist natürlich plausibel, da der BMI unter anderen auch ein Kriterium für die Hochrisikostratifizierung ist.

Die Prävalenz der adipösen schwangeren Frauen nimmt weltweit die letzten Jahre stetig zu (Heslehurst et al., 2007). Adipositas führt zu einer Schwangerschaftsentwicklung unter suboptimalen Bedingungen, da diese von der chronischen Inflammation, vom oxidativen Stress, von der metabolischen Insuffizienz und der Insulinresistenz stark beeinflusst werden (Alcala et al., 2018). Die durch Adipositas verursachte chronische Inflammation dereguliert die Immuntoleranz zwischen Mutter und Fetus und könnte eine mögliche Erklärung der sCEACAM1-Konzentration Erhöhung bei den

Hochrisikopatientinnen sein. Dafür spricht auch die positive Korrelation zwischen sCEACAM1 und BMI im gesamten Patientenkollektiv, auch wenn diese nicht statistisch signifikant ist. In diesem Bereich wären zukünftige Studien mit größeren Patientinnenkollektiven, in 4 Gruppen unterteilt (Hochrisikopatientinnen für PE-Entwicklung mit normalem BMI, Hochrisikopatientinnen mit Adipositas, Kontrollgruppe mit normalem BMI, Kontrollgruppe mit Adipositas) und sCEACAM1-Bestimmung im mütterlichen Serum während des ersten Trimenons von großem Interesse. Man würde aber unabhängig vom unterschiedlichen BMI eine erhöhte sCEACAM1-Konzentration in der Hochrisikogruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe erwarten.

In unserem Kollektiv wurde nach weiteren Faktoren wie Gestationsalter im ersten Trimenon bei Blutentnahme und nach mütterlichem Alter adjustiert und trotzdem ist die sCEACAM1-Konzentration höher in der Hochrisikogruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe geblieben, was die immunmodulatorische Wirkung des Moleküls in der Schwangerschaft unabhängig von anderen Variablen signalisiert.

Es wurde zudem festgestellt, dass die sCEACAM1-Konzentration im gesamten Patientinnenkollektiv positiv mit dem maternalen Alter und mit dem PAPP-A und negativ mit dem PlGF-Molekül korreliert, ohne dabei eine statistische Signifikanz zu erreichen. Das maternale Alter, insbesondere über 40 Jahre, erhöht exponentiell das Risiko für die PE-Entwicklung (Khalil et al., 2013) und die positive Korrelation unterstützt unsere Arbeitshypothese, dass erhöhte sCEACAM1-Konzentration auch ein hohes Risiko für die PE-Entwicklung darstellt. Die negative Korrelation des sCEACAM1 mit dem PlGF ist auch plausibel, da die niedrige PlGF-Konzentration im ersten Trimester ein höheres Risiko für eine PE birgt. Allerdings können wir über die Gründe der positiven Korrelation des sCEACAM1 mit PAPP-A nur spekulieren, weitere Studien in diesem Bereich könnten sowohl das Ergebnis bestätigen als auch die Mechanismen erklären.

Der frühen plazentaren Dysfunktion oder EO-PE kann effektiv vorgebeugt werden. Durch die ASPRE Studie (Rolnik, Nicolaides et al., 2017) ist bewiesen, dass ASS die EO-PE verhindern kann, wenn das Medikament konsequent vor der 16. SSW eingenommen wird. Dies führt zu einer Risikoreduktion der EO-PE um 82%, das Risiko für LO-PE bleibt unbeeinflusst. Die tägliche Dosierung von ASS betrug in dieser Studie 150 mg. ASS wirkt antiapoptotisch auf die Trophoblasten und unterstützt daher die Trophoblastinvasion (Bose et al., 2005). Die Trophoblastinvasion ist bis zur 20. SSW

abgeschlossen, deshalb muss ASS vor der 16. SSW eingenommen werden (Bujold et al., 2010; Roberge et al., 2013). ASS bewirkt eine höhere Risikoreduktion, wenn die Tablette zur Nacht eingenommen wird (Ayala et al., 2013).

Obwohl ASS bei vielen Patientinnen die PE verhindert, gibt es immer noch eine Zahl von Patientinnen, die eine EO-PE trotz ASS-Einnahme entwickeln. Neben der inkonsequenten ASS-Einnahme könnte auch die sogenannte ASS-Resistenz (Hankey, Eikelboom, 2006) eine Rolle spielen. Viele internistische Studien haben das Phänomen der ASS-Resistenz untersucht. Es gibt verschiedene Mechanismen, die zu diesem Phänomen führen, wie z.B. die inadäquate Dosierung, der Gebrauch von NSAID (nichtsteroidalen antiinflammatorischen Medikamenten), alternative Stoffwechselwege der Thromboxane-Synthese, erhöhter Thrombozytenumsatz und genetische Faktoren (Poulsen et al., 2005). Diese möglichen Ursachen könnten auch bei Schwangeren untersucht werden. Caron et al. 2009 haben das Phänomen der ASS-Resistenz bei Schwangeren beforscht. Es zeigte sich, dass 28% der Patientinnen auf 81 mg ASS nicht ansprachen, wobei die Ansprechraten dosierungsabhängig waren (Caron et al., 2009). In unserer Studie haben 14 Patientinnen (22%) trotz ASS-Einnahme eine PE entwickelt. Unsere Ergebnisse sind vergleichbar mit der ASPRE Studie, wo 18% der Patientinnen trotz ASS-Prophylaxe eine PE entwickelten (Rolnik, Nicolaides et al., 2017). Die Tatsache, dass unser Kollektiv aus Patientinnen mit Komorbiditäten besteht, unter anderem bestehendem Hypertonus, wo die ASS-Prophylaxe nicht effektiv wirkt (Poon et al., 2017) könnte eine mögliche Erklärung für die leicht erhöhte PE-Inzidenz unseres Kollektivs im Vergleich zur ASPRE Studie sein.

ASS bewirkt neben der Verhinderung der Trophoblastapoptose auch eine relative Immunmodulation, da ASS das Enzym Cyclooxygenase (COX) inhibiert und somit die Prostaglandinbildung hemmt. Prostaglandine spielen eine wichtige Rolle bei entzündlichen Vorgängen. Neben der ASS-Prophylaxe wäre die Identifikation von neuen Ansatzpunkten, die das Immunsystem modulieren und damit eine kausale Therapie darstellen würden, von großer klinischer Bedeutung, insbesondere bei Patientinnen, die nicht vom prophylaktischem Einsatz von ASS profitieren.

Bei PE beobachtet man neben dem Ungleichgewicht zwischen angiogenetischen und antiangiogenetischen Faktoren (Verlohren et al., 2012) eindeutige molekulare und zelluläre Veränderungen in der fetomaternalen Grenzzone, unter anderem ein unterschiedliches Zytokinmilieu (Redman et al., 1999), Ungleichgewicht zwischen Th17/Tregs zugunsten der Th17-Zellen (Figueiredo, Schumacher, 2016), vermehrte

dendritische Zellen (Huang et al., 2008) und M1-Makrophagen (Faas et al., 2014). Immunologische Abnormalitäten ähnlich wie bei GVHD (graft versus host disease) sind in Präeklampsiefällen beschrieben worden (Gleicher, 2007). Diese Abnormalitäten signalisieren einen immunologischen Hintergrund der Erkrankung. Die aktuelle Hypothese lautet, dass das Ausmaß der immunologischen Maladaptation mit dem Grad der Störung der Trophoblastinvasion und möglicherweise der nachweisbaren sCEACAM1-Konzentration korreliert. Tatsächlich unterstützen unsere Ergebnisse diese Spekulation, da die sCEACAM1-Konzentration sich in der Hochrisikogruppe von der Kontrollgruppe unterscheidet. Analog zur Hypothese ist die sCEACAM1-Konzentration am höchsten in der Subgruppe mit Hochrisikopatientinnen, die eine PE trotz ASS-Prophylaxe entwickelt haben. Bei 14 Patientinnen mit PE-Entwicklung, trotz ASS-Einnahme, können keine sicheren Rückschlüsse gezogen werden, aber hypothetisch korreliert die sCEACAM1-Konzentration mit dem Ausmaß der immunologischen Maladaptation und daher mit der Wahrscheinlichkeit des Aspirinversagens. Ein größeres Patientinnenkollektiv wäre wissenschaftlich vom großen Interesse, da genau diese Patientinnen die klinischen Manifestationen erleiden und ihre Kinder ggf. eine hohe Morbidität und Mortalität aufweisen. Dieses Kollektiv braucht vor allem eine immunologisch basierte kausale Therapie. Allerdings hat CEACAM1 eine sehr komplexe Biologie und unterschiedliche Funktionen. CEACAM1 wird zurzeit als ein mögliches Behandlungsziel einer Immuntherapie bei verschiedenen Karzinomen beforscht, da z.B. Melanom, Kolorektal-, Lungen-, Pankreas- und Urothelkarzinom in den meisten Fällen eine positive CEACAM1-Expression auf den Tumorzellen in der metastasierten Situation aufweisen. Bis dato ist jedoch keine dieser Therapien offiziell zugelassen (Dankner et al., 2017). Es ist anzunehmen, dass eine zielgerichtetete CEACAM1-Therapie solange nicht benutzt wird, bis alle Interaktionen dieses Proteins mit anderen Proteinen und Zellen geklärt sind. Theoretisch könnte aber eine anti-CEACAM1-gerichtete Therapie als Vorbeugung einer PE wirksam sein, wobei die Frage nach Applikation einer gezielten Immuntherapie zur Verhinderung einer PE bei Schwangeren sehr komplex ist. Schwangere stellen eine Studienpopulation dar, bei der eine solche Immuntherapie mit unvorhersehbaren Wirkungen auf den Fetus und auf die Schwangerschaft zumindest nach aktuellem Wissen ethisch nicht vertretbar ist.

Zu den grundsätzlichen Störfaktoren für die Aussagefähigkeit unserer Analyse zählt sicherlich die Tatsache, dass es sich um eine geringe Zahl an Patientinnen (n=126) handelt. Ein größeres Patientinnenkollektiv ist erforderlich, um zu bestätigen, ob die

sCEACAM1-Konzentration im ersten Trimenon tatsächlich immer höher ist bei Hochrisikopatientinnen für eine PE-Entwicklung im Vergleich zu Patientinnen, die als unauffällig gescreent wurden. Wenn dies der Fall wäre, hätten wir einen neuen prognostischen Biomarker detektiert, der bereits früh in der Schwangerschaft im ersten Trimester, und früher als sFlt-1, Verwendung finden könnte. Die diagnostische Ungenauigkeit eines einzigen Markers, selbst des sFlt-1/PlGF-Quotienten, der in der Klinik im späteren Verlauf der Schwangerschaft täglich für die Präeklampsiedetektion benutzt wird, ist mittlerweile bekannt. Zeisler et al. 2016 haben gezeigt, dass das sFlt-1/PlGF-Verhältnis eher einen negativen prädiktiven Wert als einen positiven aufweist (Zeisler et al., 2016). Würde man aber die sCEACAM1-Konzentrationen mit Konzentrationen von anderen Immunmodulatoren wie das sB7-H4 kombinieren, so hätte man eine ergänzende Screeningmaßnahme zum etablierten Ersttrimesterscreening. Somit wäre die Aussagekraft der kombinierten Marker zusammen mit dem klassischen Ersttrimesterscreening möglicherweise für das Präeklampsierisiko noch höher als die aktuelle 90% Detektionsrate.

Zusammenfassend korrelieren unsere Ergebnisse mit der primären Arbeitshypothese, da wir die höchste sCEACAM1-Konzentration bei Patientinnen mit PE-Entwicklung trotz ASS-Prophylaxe nachgewiesen haben, gefolgt von Hochrisikopatientinnen ohne PE und von der Kontrollgruppe. Die Tatsache, dass das Blut von den Patientinnen im späten ersten Trimester abgenommen wurde, wo die Th2-Immunität herrscht, könnte eine mögliche Erklärung für den nicht großen Unterschied zwischen den Gruppen darstellen. Um diese Spekulation zu beantworten, braucht man ein Patientinnenkollektiv, wo man Blut im frühen oder mittleren ersten Trimester abnimmt und die lösliche CEACAM1-Konzentration bei beiden Gruppen bestimmt und vergleicht. Anhand unserer Ergebnisse können wir jedoch davon ausgehen, dass die Patientinnen mit hohen sCEACAM1-Konzentrationen im ersten Trimenon zu einer Gruppe gehören, wo eine engmaschige Kontrolle der Schwangerschaft erforderlich ist.

6. Zusammenfassung

Für eine erfolgreiche Schwangerschaft wird eine adäquate Immuntoleranz vorausgesetzt. Eine gestörte Immuntoleranz führt zur Plazentadysfunktion und demzufolge zu Schwangerschaftskomplikationen, wie einer Präeklampsie (PE) oder einer Wachstumsretardierung (IUGR). Man kann nach aktuellem Wissen durch das Ersttrimesterscreening frühzeitig die Plazentadysfunktion bzw. die am meisten gefährdeten Patientinnen identifizieren und durch Einnahme von Aspirin® (ASS) das Risiko für frühe plazentare Dysfunktion reduzieren. Trotzdem bleiben die genauen zugrundeliegenden Mechanismen, die eine PE hervorrufen, unklar. Es war daher unser Ziel, die immunologische Aktivität und die inflammatorischen Abläufe bei der Pathogenese der PE besser zu begreifen. Das Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) ist ein immunmodulatorisches Molekül mit sehr komplexen Funktionen auf die Immunzellen. Aus anderen Studien ist bekannt, dass die Serumkonzentration des löslichen CEACAM1 (sCEACAM1) im Verlauf der Schwangerschaft schwankt, insgesamt aber niedriger als bei nicht schwangeren Patientinnen ist. In dieser Arbeit haben wir retrospektiv die Konzentration von sCEACAM1 im Blut aus Schwangeren im ersten Trimenon (n=126) mittels Sandwich-ELISA gemessen. In der Hochrisikogruppe mit einem Risiko > 1:300 für eine early-onset Präeklampsie (EO-PE)-Entwicklung konnte eine signifikant höhere sCEACAM1-Konzentration im Vergleich zu der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (p=0,02). Am höchsten ist die sCEACAM1-Konzentration bei der Subgruppe, die im Verlauf der Schwangerschaft eine PE trotz prophylaktischer ASS-Einnahme entwickelt hat. Jedoch kann anhand der sCEACAM1-Konzentration nicht unterschieden werden, ob eine Patientin zur Hochrisikogruppe gehört oder nicht. Ebenfalls war die Korrelation zwischen sCEACAM1-Konzentration und anderen Parametern, wie dem Body Mass Index (BMI), maternalem Alter, PAPP-A, PlGF nicht statistisch signifikant. Trotz der Einschränkungen durch das relativ kleine Patientenkollektiv mit 126 Patientinnen implizieren die vorliegenden Daten, dass immunologische Faktoren eine wichtige Rolle in der Pathogenese der PE spielen. sCEACAM1 könnte in Zukunft als prognostischer Marker für die Entwicklung einer PE genutzt werden, bereits im 1. Trimenon und früher als sFlt-1. Nach Vertiefung des Wissens auf diesem Gebiet wäre die Entwicklung zielgerichteter immunmodulatorischer Therapien für die PE die nächste wissenschaftliche Herausforderung.

7. Anhang

7.1 Literaturverzeichnis

1. Abrahams, V. M., Bole-Aldo, P., Kim, Y. M., Straszewski-Chavez, S. L., Chaiworapongsa, T., Romero, R., Mor, G. (2004): Divergent trophoblast responses to bacterial products mediated by TLRs. J. Immunol. 173, 4286-4296.
2. Akolekar, R., Syngelaki, A., Poon, L. C.,Wright, D., Nicolaides, K. H. (2013): Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. Fetal Diagn. Ther. 33, 8–15.
3. Akolekar, R., Syngelaki, A., Sarquis, R., Zvanca, M., Nicolaides, K. H. (2011): Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11–13 weeks. Prenat. Diagn. 31, 66–74.
4. Alcala, M., Gutierrez-Vega, S., Castro, E., Guzman-Gutiérrez, E., Ramos-Álvarez, M. P., Viana, M. (2018): Antioxidants and oxidative Stress: focus in obese pregnancies. Front Physiol. 9, 1569.
5. Apps, R., Murphy, S. P., Fernando, R., Gardner, L., Ahad, T., Moffett, A. (2009): Human leucocyte antigen (hla) expression of primary trophoblast cells and placental cell lines, determined using single antigen beads to characterize allotype specificities of anti-hla antibodies. Immunology 127, 26–39.
6. Ayala, D. E., Ucieda, R., Hermida, R. C. (2013): Chronotherapy with low-dose aspirin for prevention of complications in pregnancy. Chronobiol. Int. 30(1-2), 260-279.
7. Bamberger, A. M., Sudahl, S., Löning, T., Wagener, C., Bamberger, C. M., Drakakis, P., Coutifaris, C., Makrigiannakis, A. (2000): The adhesion molecule CEACAM1(CD66a, C-CAM, BGP) is specifically expressed by the extravillous intermediate trophoblast. Am. J. Path. 156(4), 1165-1170.
8. Bartsch, E., Medcalf, K. E., Park, A. L., Ray, J. G., & High Risk of Pre-eclampsia Identification Group (2016): Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. BMJ 353, i1753.

9. Beauchemin, N., Draber, P., Dveksler, G., Gold, P., Gray-Owen, S., Grunert, F., Hammarström, S., Holmes, K. V., Karlsson, A., Kuroki, M., Lin, S. H., Lucka, L., Najjar, S. M., Neumaier, M., Obrink, B., Shively, J. E., Skubitz, K. M., Stanners, C. P., Thomas, P., Thompson, J. A., Virji, M., von Kleist, S., Wagener, C., Watt, S., Zimmermann, W. (1999): Redefined nomenclature for members of the carcinoembryonic antigen family. Exp. Cell Res. 252(2), 243-9.
10. Bernardi, F. C., Felisberto, F., Vuolo, F., Petronilho, F., Souza, D. R., Luciano, T. F., de Souza, C. T., Ritter, C., Dal-Pizzol, F. (2012): Oxidative damage, inflammation, and Toll-like receptor 4 pathway are increased in preeclamptic patients: a case-control study. Oxid. Med. Cell Longev. 2012, ID 636419.
11. Borzychowski, A. M., Sargent, I. L., Redman, C. W. (2006): Inflammation and preeclampsia. Semin. Fetal Neonatal Med. 11, 309-316.
12. Bose, P., Black, S., Kadyrov, M., Weissenborn, U., Neulen, J., Regan, L., Huppertz, B. (2005): Heparin and aspirin attenuate placental apoptosis in vitro: Implications for early pregnancy failure, Am. J. Obstet. Gynecol. 192(1), 23 – 30.
13. Bujold, E., Roberge, S., Lacasse, Y., Bureau, M., Audibert, F., Marcoux, S., Forest, J. C., Giguère, Y. (2010): Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. Obstet. Gynecol. 116, 402-414.
14. Burrows, T. D., King, A., Loke, Y. W. (1996): Trophoblast migration during human placental implantation. Human Reproduction Update. 2(4), 307-321.
15. Burton, G. J., Woods, A. W., Jauniaux, E., Kingdom, J. C. (2009): Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for utero-placental blood flow during human pregnancy. Placenta 6, 473-482.
16. Caron, N., Rivard, G. É., Michon, N., Morin, F., Pilon, D., Moutquin, J. M., Rey, É. (2009): Low-dose ASA response using the PFA-100 in women with high-risk pregnancy. J. Obstet. Gynaecol. Can. 31(11), 1022–1027.
17. Choi, I. H., Zhu, G., Sica, G. L., Strome, S. E., Cheville, J. C., Lau, J. S., Zhu, Y., Flies, D. B., Tamada, K., Chen, L. (2003): Genomic organization and expression analysis of B7-H4, an immune inhibitory molecule of the B7 family. J. Immunol. 171, 4650-4654.
18. Dankner, M., Gray-Owen, S. D., Huang, Y. H., Blumberg, R. S., Beauchemin, N. (2017): CEACAM1 as a multi-purpose target for cancer immunotherapy. Oncoimmunology 6(7), e1328336.

19. De Wolf, F., Robertson, W. B., Brosens, I. (1975): The ultrastructure of acute atherosis in hypertensive pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 123(2), 164-174.
20. Dekker, G. A. (1999): Risk factors for preeclampsia. Clin. Obstet. Gynecol. 42(3), 422-435.
21. Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) (2019): Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen: Diagnostik und Therapie.
22. Duckitt, K., Harrington, D. (2005): Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. BMJ 330(7491), 565.
23. Einarsson, J. I., Sangi-Haghpeykar, H., Gardner, M. O. (2003): Sperm exposure and development of preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol. 188(5), 1241-1243.
24. Ergün, S., Kilik, N., Ziegeler, G., Hansen, A., Nollau, P., Götze, J., Wurmbach, J. H., Horst, A., Weil, J., Fernando, M., Wagener, C. (2000): CEA-related cell adhesion molecule 1: a potent angiogenic factor and a major effector of vascular endothelial growth factor. Mol. Cell 5(2), 311-320.
25. Faas, M. M., Spaans, F., De Vos, P. (2014): Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. Front. Immunol. 5, 298.
26. Favier B., LeMaoult J., Rouas-Freiss N., Moreau P., Menier C., Carosella E. D. (2007): Research on HLA-G: an update. Tissue Antigens 69, 207-211.
27. Figueiredo A. S., Schumacher A. (2016): The T helper type 17/regulatory T cell paradigm in pregnancy. Immunology 148(1),13-21.
28. Gerretsen G., Huisjes H. J., Elema J. D. (1981): Morphological changes of the spiral arteries in the placental bed in relation to pre-eclampsia and fetal growth retardation. Br. J. Obstet. Gynaecol. 88(9), 876-881.
29. Gleicher, N. (2007): Why much of the pathophysiology of preeclampsia-eclampsia must be of an autoimmune nature. Am. J. Obstet. Gynecol. 196(1), 5.e1-7.
30. Gray-Owen, S. D., Blumberg, R. S. (2006): CEACAM1: contact-dependent control of immunity. Nat. Rev. Immunol. 6, 433-446.
31. Greicius, G., Severinson, E., Beauchemin, N., Öbrink, B., Singer, B. B. (2003): CEACAM1 is a potent regulator of B cell receptor complex-induced activation. J. Leukoc. Biol. 74(1),126-134.
32. Han, V. K., Bassett, N., Walton, J., Challis, J. R. (1996): The expression of insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding protein (IGFBP) genes in the human placenta and membranes: evidence for IGF-IGFBP interactions at the feto-maternal interface. J. Clin. Endocrinol. Metab. 81, 2680-2693.

33. Hankey, G. J., Eikelboom, J. W. (2006): Aspirin resistance. Lancet 367(9510), 606-617.
34. Heslehurst, N., Ells, L. J., Simpson, H., Batterham, A., Wilkinson, J., Summerbell, C. D. (2007): Trends in maternal obesity incidence rates, demographic predictors, and health inequalities in 36,821 women over a 15- year period. BJOG 114, 187–194.
35. Huang, J., Hardy, J. D., Sun, Y., Shively, J. E. (1999): Essential role of biliary glycoprotein (CD66a) in morphogenesis of the human mammary epithelial cell line MCF10F. J. Cell Sci. 112, 4193-4205.
36. Huang, S. J., Chen, C. P., Schatz, F., Rahman, M., Abrahams, V. M., Lockwood, C. J. (2008): Pre-eclampsia is associated with dendritic cell recruitment into the uterine decidua. J. Pathol. 214(3), 328-336.
37. Huppertz, B. (2008): Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. Hypertension 51(4), 970-975.
38. Iannaccone, A., Tyczynski, B., Gellhaus, A., Birdir, C., Enekwe, A., Kimmig, R., Köninger, A. (2017): Plasmaaustausch bei schweren Gestosen. Monozentrische Erfahrung über zwei Jahre. In Geburtsh. u Frauenheilk. 77 (4), 379–395.
39. Kammerer, R., Hahn, S., Singer, B. B., Luo, J. S., von Kleist, S. (1998): Biliary glycoprotein (CD66a), a cell adhesion molecule of the immunoglobulin superfamily, on human lymphocytes: structure, expression and involvement in T cell activation. Eur. J. Immunol. 28(11), 3664-3674.
40. Kammerer, R., Stober, D., Singer, B. B., Öbrink, B., Reimann, J. (2001): Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 on murine dendritic cells is a potent regulator of T cell stimulation. J. Immunol. 166(11), 6537-6544.
41. Khairnar, V., Duhan, V., Maney, S. K., Honke, N., Shaabani, N., Pandyra, A. A., Seifert, M., Pozdeev, V., Hu, H. C., Sharma, P., Baldin, F., Marquardsen, F., Merches, K., Lang, E., Kirschning, C., Westendorf, A. M., Häussinger, D., Lang, F., Dittmer, U., Küppers, R., Recher, M., Hardt, C., Scheffrahn, I., Beauchemin, N., Göthert, J. R., Singer, B. B., Lang, P. A., Lang, K. S. (2015): CEACAM1 induces B-cell survival and is essential for protective antiviral antibody production. Nat. Commun. 6, 6217.
42. Khairnar, V., Duhan, V., Patil, A. M., Zhou, F., Bhat, H., Thoens, C., Sharma, P., Adomati, T., Friendrich, S. K., Bezgovsek, J., Dreesen, J. D., Wennemuth, G., Westendorf, A. M., Zelinksyy, G., Dittmer, U., Hardt, C., Timm, J., Göthert, J. R.,

Lang, P. A., Singer, B. B., Lang, K. S. (2018): CEACAM1 promotes CD8+ T cell responses and improves control of a chronic viral infection. Nat. Commun. 9(1), 2561.

43. Khalil, A., Syngelaki, A., Maiz, N., Zinevich, Y., Nicolaides, K. H. (2013): Maternal age and adverse pregnancy outcome: a cohort study. Ultrasound Obstet. Gynecol. 42, 634–643.
44. Khan, K. S., Wojdyla, D., Say, L., Gülmezoglu, A. M., Van Look, P. F. A. (2006): WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. Lancet 367, 1006-1074.
45. Koelman, C. A., Coumans, A. B., Nijman, H. W., Doxiadis, I. I., Dekker, G. A., Claas, F. H. (2000): Correlation between oral sex and a low incidence of preeclampsia: a role for soluble HLA in seminal fluid? J. Reprod. Immunol. 46(2), 155-166.
46. Koga, K., Mor, G. (2010): Toll-like receptors at the maternal–fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders. Am. J. Reprod. Immunol. 63, 587-600.
47. Köninger, A., Enekwe, A., Mach, P., Andrikos, D., Schmidt, B., Frank, M., Birdir, C., Kimmig, R., Gellhaus, A., Dieplinger, H. (2018): Afamin – an early predictor of preeclampsia. Arch. Gynecol. Obstet. 298, 1009-1015.
48. Kunath, T., Ordonez-Garcia, C., Turbide, C., Beauchemin, N. (1995): Inhibition of colonic tumor cell growth by biliary glycoprotein. Oncogene 11(11), 2375-2382.
49. Kuroki, M., Arakawa, F., Matsuo, Y., Oikawa, S., Nakazato, H., Matsuoka, Y. (1991): Three novel molecular forms of biliary glycoprotein deduced from cDNA clones from a human leukocyte library. Biochem. Biophys. Res. Commun. 176(2), 578-585.
50. Lain, K. Y., Roberts, J. M. (2002): Contemporary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia. JAMA 287(24), 3183-3186.
51. Lam, C., Lim, K. H., Karumanchi, S. A. (2005): Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. Hypertension 46(5), 1077-1085.
52. Lan, P. G., Gillin, A. G., Pelosi, M., Tooher, J. Sandager, P., Hyett, J. (2019): Effect of early use of low-dose aspirin therapy on late-onset preeclampsia. J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. 32(13), 2137-2142.
53. Leusch, H. G., Drzeniek, Z., Markos, P. Z., Wagener, C. (1991): Binding of Escherichia coli and Salmonella strains to members of the carcinoembryonic antigen

family: differential binding inhibition by aromatic -glycosides of man- nose. Infect. Immun. 59, 2051-2057.

54. Levine, R. J., Maynard, S. E., Qian, C., Lim, K. H., England, L. J., Yu, K. F., Schisterman, E. F., Thadhani, R., Sachs, B. P., Epstein, F. H., Sibai, B. M., Sukhatme, V. P., Karumanchi, S. A. (2004): Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. N. Engl. J. Med. 350, 672-683.
55. Liu, S. (2017): The role of decidual immune cells on human pregnancy. J. Reprod. Immunol. 124, 44-53.
56. Loke, Y. W., King, A. (2000): Immunology of implantation. Baillieres Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 14(5), 827-837.
57. Mac Gabhann, F., Popel, A. S. (2004): Model of competitive binding of vascular endothelial growth factor and placental growth factor to VEGF receptors on endothelial cells. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 286, 153-164.
58. Mach, P., Gellhaus, A., Prager, S., Moore, T., Wennemuth, G., Kimmig, R., Köninger, A., Singer, B. B. (2017): Soluble CEACAM1 and CEACAM6 are differently expressed in blood serum of pregnant women during normal pregnancy. Am. J. Reprod. Immunol. 78(4), e12700.
59. Mach, P., Noelte-Boenigk, L., Droste, L., Fox, L., Frank, M., Schmidt, B., Herse, F., Verlohren, S., Wicherek, L., Iannaccone, A., Birdir, C., Andrikos, D., Kimmig, R., Gellhaus, A., Köninger, A. (2018): Soluble B7-H4 blood serum levels are elevated in woman at high-risk for preeclampsia in first trimester and in patients with confirmed preeclampsia. Am. J. Reprod. Immunol. 80(3), e12988.
60. Markel, G., Wolf, D., Hanna, J., Gazit, R., Goldman-Wohl, D., Lavy, Y., Yagel, S., Mandelboim, O. (2002): Pivotal role of CEACAM1 protein in the inhibition of activated decidual lymphocyte functions. J. Clin. Invest. 110(7), 943–953.
61. Maynard, S. E., Min, J. Y., Merchan, J., Lim, K. H., Li, J., Mondal, S., Libermann, T. A., Morgan, J. P., Sellke, F. W., Stillman, I. E., Epstein, F. H., Sukhatme, V. P., Karumanchi, S. A. (2003): Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. J. Clin. Invest. 111(5), 649–658.
62. Medawar, P. B. (1953): Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. Symp. Soc. Exp. Biol. 7, 320–338.
63. Mor, G. (2008): Inflammation and pregnancy: the role of toll-like receptors in trophoblast-immune interaction. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1127, 121–128.

64. Mor, G., Cardenas, I. (2010): The immune system in pregnancy: a unique complexity. Am. J. Reprod. Immunol. 63(6), 425–433.
65. Morales, V. M., Christ, A., Watt, S. M., Kim, H. S., Johnson, K. W., Utku, N., Texieira, A. M., Mizoguchi, A., Mizoguchi, E., Russell, G. J., Russel, S. E., Bhan, A. K., Freemann, G. J., Blumberg, R. S. (1999): Regulation of human intestinal intraepithelial lymphocyte cytolytic function by biliary glycoprotein (CD66a). J. Immunol. 163(3), 1363-1370.
66. Mütze, S., Rudnik-Schoneborn, S., Zerres, K., Rath, W. (2008): Genes and the preeclampsia syndrome. J. Perinat. Med. 36, 38-58.
67. O' Gorman, N., Wright, D., Poon, L. C., Rolnik, D. L., Syngelaki, A., de Alvarado, M., Carbone, I. F., Dutemeyer, V., Fiolna, M., Frick, A., Karagiotis, N., Mastrodima, S., de Paco Matallana, C., Papaioannou, G., Pazos, A., Plasencia, W., Nicolaides, K. H. (2017): Multicenter screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 11 – 13 weeks' gestation: comparison with NICE guidelines and ACOG recommendations. Ultrasound Obstet. Gynecol. 49, 756–760.
68. Ölbrink, B. (1997): CEA adhesion molecules: multifunctional proteins with signal-regulatory properties. Curr. Opin. Cell Biol. 9(5), 616-626.
69. Petroff, M. G., Perchellet, A. (2010): B7 family molecules as regulators of the maternal immune system in pregnancy. Am. J. Reprod. Immunol. 63, 506-519.
70. Poon, L. C., Wright, D., Rolnik, D. L., Syngelaki, A., Delgado, J. L., Tsokaki, T., Leipold, G., Akolekar, R., Shearing, S., De Stefani, L., Jani, J. C., Plasencia, W., Evangelinakis, N., Gonzalez-Vanegas, O., Persico, N., Nicolaides, K. H. (2017): Aspirin for evidence-based preeclampsia prevention trial: effect of aspirin in prevention of preterm preeclampsia in subgroups of women according to their characteristics and medical and obstetrical history. Am. J. Obstet. Gynecol. 217(5), 585.e1-585.e5.
71. Poulsen, T. S., Kristensen, S. R., Atarc, D., Mickleya, H. (2005): Das Phänomen der Aspirin-Resistenz: eine kritische Beurteilung der vorliegenden Evidenz. Kardiovaskuläre Medizin 8, 346–360.
72. Prall, F., Nollau, P., Neumaier, M., Haubeck, H. D., Drzeniek, Z., Helmchen, U., Löning, T., Wagener, C. (1996): CD66a (BGP), an adhesion molecule of the carcinoembryonic antigen family, is expressed in epithelium, endothelium, and

myeloid cells in a wide range of normal human tissues. J. Histochem. Cytochem. 44(1), 35–41.

73. Purde, M. T., Baumann, M., Wiedemann, U., Nydegger, U. E., Risch, L., Surbek, D., Risch, M. (2015): Incidence of preeclampsia in pregnant swiss women. Swiss Med. Wkly 145, w14175.
74. Redman, C. W., Sacks, G. P., Sargent, I. L. (1999): Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 180, 499–506.
75. Redman, C. W., Sargent, I. L., Staff, A. C. (2014): IFPA Senior Award Lecture: making sense of pre-eclampsia - two placental causes of preeclampsia? Placenta 35, 20-25.
76. Riley, J. K., Nelson, D. M. (2010): Toll-like receptors in pregnancy disorders and placental dysfunction. Clin. Rev. Allergy Immunol. 39(3), 185-193.
77. Roberge, S., Giguère, Y., Villa, P., Nicolaides, K. H., Vainio, M., Forest, J. C., von Dadelszen, P., Vaiman, D., Tapp, S., Bujold, E. (2012): Early administration of low-dose aspirin for the prevention of severe and mild preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. Am. J. Perinatol. 29(7), 551-556.
78. Roberge, S., Nicolaides, K. H., Demers, S., Villa, P., Bujold, E. (2013): Prevention of perinatal death and adverse perinatal outcome using low-dose aspirin: a meta-analysis. Ultrasound Obstet. Gynecol. 41, 491-499.
79. Robertson, W. B., Brosens, I., Dixon, H. G. (1967): The pathological response of the vessels of the placental bed to hypertensive pregnancy. J. Pathol. Bacteriol. 93(2), 581-592.
80. Rolnik, D. L., Wright, D., Poon, L. C. Y., Syngelaki, A., O'Gorman, N., de Paco Matallana, C., Akolekar, R., Cicero, S., Janga, D., Singh, M., Molina, F. S., Persico, N., Jani, J. C., Plasencia, W., Papaioannou, G., Tenenbaum-Gavish, K., Nicolaides, K. H. (2017): ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. Ultrasound Obstet. Gynecol. 50, 492 – 495.
81. Saito, S. (2000): Cytokine network at the feto-maternal interface. J. Reprod. Immunol. 47(2), 87–103.
82. Sharma, A., Satyam, A., Sharma, J. B. (2007): Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF-alpha, IL-6 and IL-8) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy non-pregnant women. Am. J. Reprod. Immunol. 58, 21–30.

83. Sindram-Trujillo, A., Scherjon, S., Kanhai, H., Roelen, D., Claas, F. (2003): Increased T-cell activation in decidua parietalis compared to decidua basalis in uncomplicated human term pregnancy. Am. J. Reprod. Immunol. 49, 261-268.
84. Singer, B. B., Klaile, E., Scheffrahn, I., Müller, M. M., Kammerer, R., Reutter, W., Obrink, B., Lucka, L. (2005): CEACAM1 (CD66a) mediates delay of spontaneous and Fas ligand-induced apoptosis in granulocytes. Eur. J. Immunol. 35(6), 1949-1959.
85. Singer, B. B., Opp, L., Heinrich, A., Schreiber, F., Binding-Liermann, R., Berrocal-Almanza, L. C., Heyl, K. A., Müller, M. M., Weimann, A., Zweigner, J., Slevogt, H. (2014): Soluble CEACAM8 interacts with CEACAM1 inhibiting TLR2-triggered immune responses. PloS one 9(4), e94106.
86. Singer, B. B., Scheffrahn, I., Obrink, B. (2000): The tumor growth-inhibiting cell adhesion molecule CEACAM1 (C-CAM) is differently expressed in proliferating and quiescent epithelial cells and regulates cell proliferation. Cancer Res. 60(5), 1236-1244.
87. Singer, B. B., Scheffrahn, I., Heymann, R., Sigmundsson, K., Kammerer, R., Öbrink, B. (2002): Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 expression and signaling in human, mouse, and rat leukocytes: Evidence for replacement of the short cytoplasmic domain isoform by glycosylphosphatidylinositol-linked proteins in human leukocytes. J. Immunol. 168, 5139-5146.
88. Skubitz, K. M., Campbell, K. D., Skubitz, A. P. (1996): CD66a, CD66b, CD66c, and CD66d each independently stimulate neutrophils. J. Leukoc. Biol. 60(1), 106-117.
89. Steinborn, A., Seidl, C., Sayehli, C., Sohn, C., Seifried, E., Kaufmann, M., Schmitt, E. (2004): Anti-fetal immune response mechanisms may be involved in the pathogenesis of placental abruption. Clin. Immunol. 110, 45–54.
90. Sun, I. Y., Overgaard, M. T., Oxvig, C., Giudice, L. C. (2002): Pregnancy-associated plasma protein A proteolytic activity is associated with the human placental trophoblast cell membrane. J. Clin. Endocrinol. Metab. 87, 5235-5240.
91. Szarka, A., Rigó Jr, J., Lázár, L., Bekő, G., Molvarec, A. (2010): Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. BMC Immunol. 11, 59.

92. Valensise, H., Vasapollo, B., Gagliardi, G., Novelli, G. P. (2008): Early and late preeclampsia: two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. Hypertension 52(5), 873-880.
93. Verlohren, S., Herraiz, I., Lapaire, O., Schlembach, D., Moertl, M., Zeisler, H., Calda, P., Holzgreve, W., Galindo, A., Engels, T., Denk, B., Stepan, H. (2012): The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. Am. J. Obstet. Gynecol. 206(1), 58.
94. Wang, J. X., Knottnerus, A. M., Schuit, G., Norman, R. J., Chan, A., Dekker, G. A. (2002): Surgically obtained sperm, and risk of gestational hypertension and pre-eclampsia. Lancet 359(9307), 673-674.
95. Wegmann, T. G., Lin, H., Guilbert, L., Mosmann, T. R. (1993): Bidirectional cytokine inter- actions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? Immunol. Today 14(7), 353–356.
96. Xie, Q., Wang, Q. J., Zhang, Y., Kong, B. H., Dong, B. H., Qu, X. (2013): Expansion of decidual CD45RO+ T cells with high expression of CEACAM1 in the early stage of pregnancy. Mol. Med. Rep. 8, 571-578.
97. Zeisler, H., Llurba, E., Chantraine, F., Vatish, M., Staff, A. C., Sennström, M., Olovsson, M., Brennecke, S. P., Stepan, H., Allegranza, D., Dilba, P., Schoedl, M., Hund, M., Verlohren, S. (2016): Predictive value of the sFlt-1:PlGF ratio in women with suspected preeclampsia. N. Engl. J. Med. 374, 13-22.
98. Zhou, Y., Damsky, C. H., Fisher, S. J. (1997): Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? J. Clin. Invest. 99(9), 2152–2164.
99. Zhou, Y., McMaster, M., Woo, K., Janatpour, M., Perry, J., Karpanen, T., Alitalo, K., Damsky, C. H., Fisher, S. J. (2002): Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. Am. J. Pathol. 160(4), 1405-1423.

7.2 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
anti-CEA	Carcinoembryonic antigen Antibody
ASS	Acetylsalicylsäure
AUC	Area under the curve
BGP	Biliary glucoprotein
BMI	Body Mass Index
BSA	Bovines serum albumin
C-CAM	Cell CAM
CAM	Cell adhesion molecule
CD4	Cluster of differentiation 4
CD45R0	Cluster of Differentiation 45 RO, Gedächtnis T-Zell Marker
CD66a	Cluster of differentiation 66a
CD8	Cluster of differentiation 8
CEACAM1	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1
CEACAM1-L	CEACAM1-Long cytoplasmin domain
CEACAM1-S	CEACAM1-Short cytoplasmic domain
COX	Cyclooxygenase
DC	Dendritic cells
DEGUM	Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in Medizin
ECM	Extrazelluläre Matrix
FMF	Fetal medicine foundation
GVHD	Graft versus host disease
HLA-G	Human leukocyte antigens-Klasse I
HRP	Horseradish peroxidase
IGF	Insulin Like Growth Factor
IGFBP4	Insulin Like Growth Faktor Binding Protein 4
IL-10	Interleukin-10
IL-12	Interleukin-12
IL-13	Interleukin-13

IL-18	Interleukin-18
IL-2	Interleukin-2
IL-4	Interleukin-4
IL-5	Interleukin-5
IL-6	Interleukin-6
IL-9	Interleukin-9
INF-γ	Interferon-gamma
IQR	Interquartilabstand
ITIMs	Immunoreceptor tyrosine- based inhibitory motifs
IUGR	Intrauterin growth retardation
IVF	In-vitro Fertilisation
mAK	monoklonaler Antikörper
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MMP	Matrix Metalloproteinasen
MoM	Multiple of median
NK-Zellen	Natural Killer-Zellen
NSAID	Nichtsteroidale antiinflammatorische Medikamente
PAPP-A	Pregnancy-associated plasma protein A
PBS	Phosphate buffered saline
PE	Präeklampsie
PI	Pulsatilitätsindex
PlGF	Placental growth factor
ROC	Receiver of operating characteristics
sB7-H4	Soluble immun-regulatory protein B7-H4
sCEACAM1	Soluble Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1
SD	Standarddeviation
sFlt-1	Soluble Fms-like thyrosinkinase-1
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
Th0	T Helferzellen vom Typ 0
Th1	T Helferzellen vom Typ 1

Th2	T Helferzellen vom Typ 2
TLR-2	Toll Like Rezeptor 2
TMB	Tetramethylbenzidin
TNFa	Tumornekrosefaktor-alpha
Treg	Regulatorische T-Zellen
VEGF	Vascular Epithelial Growth Factor

7.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Pathophysiologie der Präeklampsie 8

Quelle: Hutter, S., Steldinger, R., Beham, A. Kardiovaskuläre Erkrankungen. In: Weyerstahl, T., Stauber, M., Hrsg. Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe. 4. Vollständig überarbeitete Auflage. Thieme, 2013.

Abbildung 2 Hypothese der Pathogenese der Präeklampsie 10

Abbildung 3 Modell der Sandwich-ELISA-Methode.....20

Abbildung 4 Box Plots zur Darstellung der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) in der Hochrisikogruppe versus Kontrollgruppe (p=0,02) 29

Abbildung 5 Box Plots zur Darstellung der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) in der Hochrisikogruppe ohne PE-Entwicklung versus Hochrisikogruppe mit PE-Entwicklung versus Kontrollgruppe (p=0,06) 30

Abbildung 6 Darstellung der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) nach Adjustierung für Gestationsalter bei Blutentnahme und mütterliches Alter: Kontrollgruppe versus Hochrisikogruppe ohne PE-Entwicklung versus Hochrisikogruppe mit PE-Entwicklung.....31

Abbildung 7 ROC-Kurve zum Zusammenhang zwischen Sensitivität und Spezifität für die Diskriminierung zwischen Hochrisikogruppe und Kontrollgruppe anhand der sCEACAM1-Konzentration (ng/mL)..32

Abbildung 8 Korrelation zwischen sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) und maternalem Alter (Jahre) in der Gesamtgruppe 33

Abbildung 9 Korrelation zwischen sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) und BMI (kg/m2) in der Gesamtgruppe 34

Abbildung 10 Korrelation zwischen sCEACAM1- (ng/mL) und PAPP-A- (IU/l) Konzentration in der Gesamtgruppe 34

Abbildung 11 Korrelation zwischen sCEACAM1- (ng/mL) und PlGF- (pg/mL) Konzentration in der Gesamtgruppe.....35

7.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Geräte und Hersteller 21

Tabelle 2 Pipettierschema für den ELISA 24

Tabelle 3 Vergleich Hochrisikogruppe (n=62) versus Kontrollgruppe (n=64) 27

Tabelle 4. Korrelation sCEACAM1-Konzentration (ng/mL) mit Alter (Jahre), BMI (kg/m2), PAPP-A (IU/L), PlGF (pg/mL) 33

8. Danksagung

Ich danke insbesondere Frau PD Dr. med. Angela Köninger und Herrn PD Dr. med. Pawel Mach, meinem Doktorvater, der ab dem 17.12.2019 die Betreuung meiner Doktorarbeit von Frau PD Dr. med. Angela Köninger übernommen hat, für die hervorragende Betreuung während der Erstellung dieser Arbeit. Ihre Motivation und Hilfsbereitschaft trotz der Belastung in der Klinik war eine Inspiration für mich. Ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Rainer Kimmig für die Bereitstellung meines Themas und die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit in der Frauenklinik. Ich danke ganz herzlich Frau Professor Dr. rer. nat. Alexandra Gellhaus für Ihre Hilfsbereitschaft bei der Fertigstellung dieser Arbeit. Herrn Dr. Boerge Schmidt aus dem Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie der Universität Duisburg-Essen danke ich für die statistische Überprüfung meiner Daten. Darüber hinaus bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. rer. nat. Bernhard B. Singer und Frau Verena Schmitt aus dem Institut für Anatomie, die mir während den Versuchsdurchführungen im Labor geholfen haben. Ein besonderer Dank gilt meiner Familie und meiner Freundin für die moralische Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

9. Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.