

**Untersuchungen der Estrogen- und Progesteronrezeptor-
Konzentrationen im humanen unteren Uterinsegment
während der Geburt**

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
einer Doktorin der Medizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von
Sultana Zlatintsi
aus
Brühl

Berichter: Herr Professor
Dr.med. Matthias Winkler

Herr Universitätsprofessor
Dr.med. Thorsten Orlikowsky

Tag der mündlichen Prüfung: 11.Juli 2012

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online
verfügbar.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Lokalisation und Aufbau des Estrogen- und Progesteronrezeptors

1.1.1 Estrogenrezeptoren

1.1.2 Progesteronrezeptoren

1.2 Wirkungen der Hormone

1.2.1 Estrogene

1.2.2 Progesteron

1.3.1 Regulation der Hormone

1.4 Anatomie der Gebärmutter

1.5 Vorhandene Erkenntnisse über die Muttermundseröffnung

1.5.1 Biochemische Zusammensetzung der Cervix uteri

1.5.2 Biochemische Veränderungen der Cervix uteri während der Schwangerschaft

1.5.3. Die Cervix uteri unter der Geburt

1.5.4 Estrogene und Muttermundseröffnung

1.5.5 Progesteron und Muttermundseröffnung

1.5.6 Die Muttermundseröffnung als akute Entzündungsreaktion

2. Ziel der Arbeit

3. Patientinnen und Methoden

3.1 Beschreibung der Patientinnen

3.2 Probengewinnung

3.3 Probenaufbereitung

3.4 Rezeptorbestimmung im Zytosol

3.5 Materialien und Geräte

3.6 Bestimmung der Proteinkonzentration im Zytosol

3.7 Statistische Methoden

4. Ergebnisse

4.1 Konzentrationen des Estrogenrezeptors

4.2 Konzentrationen des Progesteronrezeptors

5. Diskussion

6. Zusammenfassung

7. Literaturverzeichnis

8. Danksagung

9. Erklärung zur Datenaufbewahrung

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Aqua ad	Aqua ad injectabilia
COX	Zyclooxygenase
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
CTG	Cardiotokogramm
DHEA-S	Dehydroepiandrosteronsulfat
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELAM	endothelial leukocyte adhesion molecule
ER	Östrogenrezeptor
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
GM-CSF	Granulozyten/Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
ICAM	intercellular adhesion molecule
IkBA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha
IL	Interleukin
LH	luteinisierendes Hormon
LPS	Lipopolysaccharide
MCP-1	monocyte chemotactic protein-1
MMP	Matrixmetalloproteinasen
MMW	Muttermundsweite
NF-κB	Nuklearfaktor κB
NNR	Nebennierenrinde
NO	Stickstoffmonoxyd
OPD	O-Phenylendiamin
p.a.	pro analysi
PCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
PGE	Prostaglandine
PR	Progesteronrezeptor

RANTES	Chemokine ligand 5
SSW	Schwangerschaftswoche
SPA	Surfactant Protein A
TIMP	tissue inhibitors of matrix metalloproteinases
TNF	Tumornekrosefaktor
VCAM	vascular cell adhesion molecule
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Die Frühgeburt ist eine der wichtigsten klinischen Herausforderungen in der perinatalen Medizin.

6-15% aller Schwangerschaften enden vorzeitig mit einer Frühgeburt, welche in den entwickelten Ländern die wichtigste Ursache der perinatalen Morbidität und Mortalität ist (Slattery et al, 2002).

In den letzten Jahren ist die Inzidenz in den meisten europäischen Ländern und in den USA mit 6-10% trotz aller Bemühungen konstant geblieben (Keirse, 1995).

Traditionelle Methoden um eine drohende Frühgeburt zu erkennen wie die geburtshilfliche Anamnese, Analyse der soziodemographische Faktoren, der klinische Untersuchungsbefund, vorzeitige Wehentätigkeit im CTG und verschiedene Risikoscores, bei denen Anamnese und klinische Symptomatik zusammengefasst werden, haben eine geringe Sensivität und Spezifität (Mercer et al, 1996).

So ist es besonders wichtig die Mechanismen, die dem Geburtsbeginn beim Menschen zugrunde liegen und noch weitgehend unbekannt sind, zu untersuchen. Verschiedene Arbeitsgruppen fahnden in den letzten Jahren nach neuen Markern, die das Frühgeburtsrisiko anzeigen können. Die möglichen Entstehungsursachen einer Frühgeburt und die damit in Zusammenhang stehenden Marker wurden 1998 von Lockwood zusammengefasst (Lockwood and Kuczynski, 1998). Nach seinem hypothetischen Modell sind mögliche Ursachen einer Frühgeburt die Aktivierung der mütterlich-fetalen Hypophysen-Hypothalamus-Nebennieren-Achse, die Infektion, die deziduale Blutung und die pathologische Dehnung der Gebärmutter.

Neben der Funktion des Corticotropin Releasing Hormons als Triggersubstanz für die vorzeitige sowie für die rechtzeitige Geburtsauslösung (Majzoub et al, 1999), sollen eine wesentliche Rolle bei der Regulation der Gebärmutterkontraktionen und der Muttermundseröffnung unter der Geburt die Konzentrationsveränderungen von Estrogenen und Progesteron spielen.

Die Wirkung der Estrogene und des Progesterons in den Zielzellen wird hauptsächlich über die Bindung mit ihren Rezeptoren erreicht (Gronemeyer, 1992). Demzufolge könnten die Veränderungen der Estrogen- und Progesteronkonzentrationen im Gewebe des Uterus eine wichtige Rolle bei der Regulation der Gebärmutterkontraktionen und der Muttermundseröffnung unter der Geburt spielen.

1984 untersuchten Khan-Dawood die Sexualsteroid-Rezeptor Konzentrationen im unteren Uterinsegment am Termin vor Geburtsbeginn (Khan-Dawood, 1984). Padayachi und seine Mitarbeiter maßen und verglichen die Estrogen- und Progesteron- Rezeptor- Konzentrationen bei nicht schwangeren Frauen, in der frühen Schwangerschaft und bei Termingeburt (Padayachi et al, 1987, 1990). Die Arbeitsgruppe von Stjernholm untersuchten diese im Gewebe der Zervix von schwangeren Frauen unmittelbar vor der Geburt und postpartal und verglichen diese mit den Konzentrationen im Zervixgewebe von nicht schwangeren Frauen (Stjernholm et al 1996, 1997).

Ein Vergleich der Progesteron-Rezeptor-Konzentrationen bei Patientinnen mit Oxytozin-resistenter Wehenschwäche mit Patientinnen bei normaler Wehentätigkeit und vor Beginn der Wehen zeigte erniedrigte Konzentrationen in der ersten Patientinnengruppe (Rezapour et al, 1997).

Untersuchungen der Estrogen- und Progesteron-Rezeptor- Konzentrationen im unteren Uterinsegment in Abhängigkeit von der Muttermundsweite unter der Geburt liegen bislang noch nicht vor.

1.1 Lokalisation und Aufbau der Rezeptoren

1.1.1 Estrogenrezeptoren

Estrogene erreichen ihre Wirkung über die Interaktion mit den zwei ER-Subtypen, die zur Familie der Nuklearrezeptoren gehören (Mangelsdorf et al, 1995). Es sind zwei Estrogenrezeptoren bekannt, der „klassische“ ER- α der 1987 entdeckt wurde (Koike et al, 1987) und der ER- β , der weit später erstmals

beschrieben wurde (Kuiper et al 1996). Verschiedene Isoformen des ER- β wurden seitdem gefunden: ER- β 2, ER- β cx und ER- β - Varianten, die sich nur gering in der DNA-bindenden Domäne unterscheiden (ER- β 1 δ 3 und ER- β 2 δ 3) (Moore et al, 1998, Warner et al, 1999).

Der Rezeptor ist in vier strukturell verschiedene, funktionelle Domänen aufgeteilt: die N-terminale A/B-Region, welche die Aktivationsfunktion 1 (AF-1) beinhaltet und für die Transkription verantwortlich ist; die DNA-bindende Domäne, welche die spezifische DNA-Bindung vermittelt und C-Region genannt wird; die wenig charakterisierte D-Domäne und die Liganden-bindende-Domäne, welche den Ligandenbindungsplatz, die Aktivationsfunktion 2, beinhaltet und Platz für die Bindung der Kofaktoren und Interaktion mit den Hitzeschockproteinen erlaubt (Weihua et al., 2003).

Beide Estrogenrezeptoren sind estrogenabhängige Nukleartranskriptionsfaktoren, welche verschiedene Gewebeverteilungen aufweisen und verschiedene Transkriptions-Regulations-Effekte auf eine große Anzahl an Zielgenen besitzen. Die Gene der zwei Rezeptoren sind auf verschiedenen Chromosomen codiert und dies bedeutet, dass es sich nicht um „Splicing“ Varianten handelt, sondern um voneinander unabhängige Rezeptoren.

Der ER- α befindet sich vorwiegend in Uterus, Zervix, Vagina und Ovarien. Jedoch findet man den ER- α auch in Mamma, Hypothalamus, Testis, Leber, Milz, Herz und Skelettmuskulatur (Kuiper et al, 1996, Couse et al, 1999). Der ER- β befindet sich vorwiegend in der Prostata und in den Ovarien, mit geringerer Exprimierung in der Lunge, im Gehirn, den Knochen und Gefäßen. Viele Zellen exprimieren sowohl ER- α als auch ER- β .

In der Zervix wurden beide Rezeptoren nachgewiesen (Wang, 2000).

Beide Rezeptoren werden von einem Liganden aktiviert und steigern oder reduzieren so die Transkription der Zielgene. Nach dem Eindringen des Hormons durch Diffusion über die Zellmembran, bindet dieses an den ER im Kern. Es folgt ein Strukturwandel des Rezeptors und es bilden sich Dimere. Diese binden an die spezifische DNA Sequenz in den Regulationszentren der Zielgene und modulieren deren Transkription (Parker, 1995, Murdoch et al,

1991). Neben dem Liganden-abhängigen, klassischen Transduktionsweg, wurde auch eine schnelle, direkte Wirkung des 17 β - Estradiols beschrieben, welche durch direkte Interaktion des Liganden mit DNA-gebundenen Transkriptionsfaktoren stattfindet (Sukovich et al, 1994).

Die Estrogenrezeptoren können jedoch auch Liganden-unabhängig über Veränderungen von zellulären Kinasen und Phosphatasen aktiviert werden (Weigel and Zhang, 1998).

1.1.2 Progesteronrezeptoren

Die meisten physiologischen Effekte des Progesterons werden über den PR vermittelt.

Der Progesteronrezeptor gehört ebenfalls zur Familie der Nuklearrezeptoren und teilt sich mit ihnen strukturelle Ähnlichkeiten und Domänen mit Schlüsselfunktion (Tsai and O'malley, 1994, Evans, 1988). Der PR besitzt wie alle Nuklearrezeptoren drei Hauptdomänen. Die Liganden-bindende Domäne bestimmt den spezifischen Liganden, der die Aktivierung der Transkription reguliert. Die DNA-bindende Domäne bestimmt, welche DNA-Sequenz vom Rezeptor erkannt wird, während die aktivierende Domäne die Aktivierung der Transkription des Rezeptors auf den Transkriptionskomplex des Kernes überträgt (Ribeiro et al, 1995).

Der PR ist auf einem Gen kodiert und es existieren verschiedene Isoformen, von denen bisher der PR A, PR B und der PR C beschrieben worden sind.

Die PR A Isoform unterscheidet sich von der PR B Isoform durch das Fehlen der ersten 164 Aminosäuren, wobei die PR C eine noch kleinere Isoform ist, welche von einer verkürzten DNA-bindenden Domäne und einer vollkommenen ligandenbindenden Domäne charakterisiert ist (Wei et al, 1996).

Die Aktivierung der PR kann sowohl ligandenabhängig als auch ligandenunabhängig geschehen. Während des ligandenabhängigen Mechanismus wird der Rezeptor durch Binden des Liganden an die ligandenbindende Domäne aktiviert. Es kommt zu einer Konformationsänderung, die eine Dimerisierung des Liganden- Rezeptor-

Komplexes bedingt und die Translokation in den Kern erlaubt. Die entstandenen Rezeptor-Dimere binden dann an hormonabhängige DNA-Elemente in der Promotorregion der Zielgene, deren Transkription so initiiert wird (Tsai and O'malley, 1994).

Die Aktivierung des Rezeptors ohne die Bindung eines Liganden kann über eine Vielzahl verschiedener Signalwege geschehen (Lee et al, 2006).

1.2 Wirkungen der Hormone

1.2.1 Estrogene

Die Estrogene sind neben den Gestagenen die wichtigsten weiblichen Geschlechtshormone.

Die Estrogenproduktion findet während der Follikelphase hauptsächlich in Theka- und Follikelepithelzellen und während der Lutealphase in den Zellen des Corpus luteum statt. Neben der Bildung in den Ovarien werden Estrogene während der Schwangerschaft von der Plazenta produziert und in geringen Mengen in der Nebennierenrinde und auch in den Leydig-Zellen des Hodens gebildet.

Das wichtigste und physiologisch am stärksten wirksame Estrogen ist das 17- β -Estradiol. Durch Aromatisierung von Androgenen am A- Ring und durch Abspalten eines Methylrestes können aus Androgenen Estrogene entstehen.

Die Bildung von Estrogenen wird durch das follikelstimulierende Hormon stimuliert. Die biologische Halbwertszeit beträgt ca. 60-90 Minuten. Alle Vorgänge der weiblichen Reproduktion werden durch Estrogene und Gestagene gesteuert, wobei im Allgemeinen zunächst Estrogene wirksam werden (Estrogen-Priming). Noch während der Menstruation nimmt die Estrogenausschüttung durch das Ovar zu. Sie erreicht maximale Werte kurz vor der Ovulation und in der Mitte der 2. Zyklushälfte. Nach dem 22. Zyklustag kommt es dann zu einem starken Abfall.

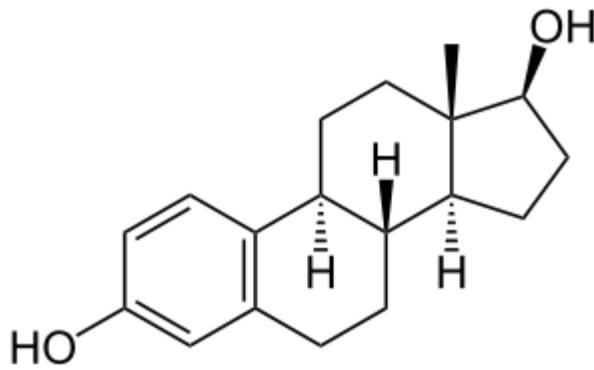


Abb. 1: Chemische Strukturformel des 17β-Estradiols

Während der Follikelphase ist die Estrogenwirkung darauf ausgerichtet, die Follikel zur Reifung zu bringen und auf die Ovulation vorzubereiten. Dabei wirken sie synergistisch mit FSH. Insgesamt haben Estrogene in der Follikelphase einen positiv regelnden Einfluss auf die Hypophyse und auf das Ovar selbst. In der Hypophyse fördern sie die Abgabe von Gonadotropin, örtlich erhöhen sie die Ansprechbarkeit der Granulosazellen auf FSH und LH durch Ausbildung entsprechender Rezeptoren in diesen Zellen. Aber auch die Bildung und die Anzahl der eigenen Rezeptoren können die Estrogene erhöhen. Ferner haben Estrogene im Ovar einen antiatretischen Effekt und hemmen die Progesteronbildung in den Granulosazellen. Schließlich sind hohe Estrogenkonzentrationen des präovulatorischen Follikels Voraussetzung für eine Ovulation und lösen den ovulatorischen LH-Peak aus.

In der Lutealphase bewirkt dagegen die Estrogensynthese der Corpus luteum-Zellen über ein negatives Feedback eine Reduktion der Gonadotropinausschüttung aus der Hypophyse.

Estrogene besitzen jedoch auch extraovarielle Wirkungen. Sie steigern die Durchblutung des Uterus und haben einen entscheidenden Effekt auf seine glatten Muskelzellen. Die Anzahl der uterinen Muskelzellen und ihre kontraktilen Proteine steigt unter dem Einfluss des Estrogens. Das Myometrium wird aktiver und erregbarer und das Aktionspotential der einzelnen Muskelfasern ist erhöht. So ist bei Frauen nach Ovariectomie eine Involution des Uterus mit atrophischem und inaktivem Myometrium zu beobachten.

Im Uterus sind Estrogene für die Proliferation des Endometriums verantwortlich. Langzeitige Therapie mit Estrogenen führt zur endometrialen Hypertrophie und erhöhtem Risiko eines Endometriumkarzinoms.

Gleichzeitig veranlassen Estrogene in der Vagina die Differenzierung des Oberflächenepithels mit Auftreten von Superfizialzellen während der Ovulation und vermehrter Glykogenbildung.

Für die Konzeption haben Estrogene insofern Bedeutung, als sie in den Zervikaldrüsen des Uterus zur Bildung eines flüssigen Schleims führen, der für Spermien leichter durchgängig ist. Ferner fördern sie die Kapazitation der Spermien und den Eitransport.

Estrogene nehmen auch auf extragenitale Organe Einfluss, wie z.B. auf Knochen, Salz- und Wasserhaushalt, Fettstoffwechsel und Haut. Auf das ZNS wirken sie stimulierend in Bezug auf psychische Reaktionsweisen, sowie auf das sexuelle und soziale Verhalten (Ganong, 1991).

1.2.2 Progesteron

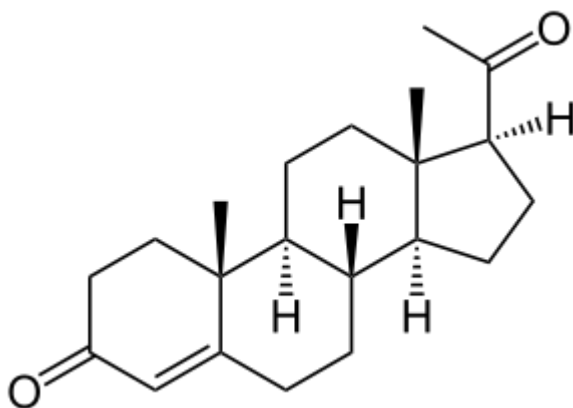


Abb. 2: Chemische Strukturformel des Progesterons

Progesteron ist das wichtigste natürliche Gestagen. Es wird vorwiegend im Corpus luteum in der zweiten Hälfte des Menstruationszyklus in großen Mengen synthetisiert und ausgeschüttet. Noch wesentlich höhere

Progesteronmengen werden während der Schwangerschaft von der Plazenta gebildet. Produziert wird Progesteron jedoch auch in den Granulosazellen und in der Nebennierenrinde. Die Gestagenbildung und –ausschüttung wird durch das luteinisierende Hormon stimuliert. Progesteron stellt die Zwischenstufe für die Synthese aller Steroidhormone dar.

40% des Progesterons ist im Blut an Transkortin gebunden, 50% an Albumin und 1-2% zirkulieren frei im Blut. Seine biologische Halbwertszeit beträgt etwa 20 Minuten. Der Hauptstoffwechselmetabolit Pregnandiol wird renal als Glukuronid ausgeschieden. Dieses wurde früher zur Feststellung einer Schwangerschaft bzw. Diagnose eines anovulatorischen Zyklus im Urin bestimmt.

Hauptzielorgane sind der Uterus, die Brustdrüse und das zentrale Nervensystem.

Progesteron ist im Zusammenwirken mit bzw. nach vorheriger Einwirkung von Estrogenen auf die Fortpflanzungsorgane an der Regulation nahezu aller weiblichen Reproduktionsfunktionen beteiligt. Es ist das dominierende Steroidhormon der Lutealphase und die Ausschüttung erreicht sein Maximum um den 22. Zyklustag. Zu dieser Zeit ist das Endometrium auf dem Höhepunkt der Sekretionsphase. Danach sinkt der Progesteronspiegel steil ab - sofern es nicht zur Befruchtung kommt – und bleibt bis zur nächsten Ovulation niedrig.

Im Ovar wirkt Progesteron synergistisch mit LH, indem beide die Aromataseaktivität der Granulosazellen hemmen und damit die Endsynthese von Estrogenen im Follikelepithel unterdrücken. Rückkoppelnd bewirkt Progesteron zusammen mit Estrogenen über den Hypothalamus eine Verminderung der LH-Sekretion. Wie die Estrogene kann auch Progesteron seine eigene Gonadotropin-induzierte Synthese und Sekretion im Ovar steigern.

Progesteron bereitet das weibliche Genitale zur Aufnahme und Reifung der befruchteten Eizelle vor und erhält die Schwangerschaft. Vor allem wirken Gestagene auf die Uterusschleimhaut und sorgen für die Ausbildung der Sekretionsphase. Ferner reduziert es im Uterus die Aktivität des Myometriums und vermag dessen Wachstum zu fördern. Es induziert typische

Veränderungen in der Zusammensetzung und Beschaffenheit am Vaginalepithel und des Zervixschleims, insofern, dass unter seinem Einfluss die Zervixdrüsen einen hochviskösen, für sie Spermien kaum durchdringbaren Schleim produzieren.

In der Brustdrüse führt Progesteron zur Entwicklung des Milchgangssystems. Weiterhin stimuliert es die Respiration. Während der Schwangerschaft kann mit zunehmender Progesteronkonzentration ein Abfall der PCO₂-Konzentration im Blut gemessen werden.

Hohe Konzentrationen von Progesteron führen zur Natriurese vermutlich durch Blockade der Aldosteronwirkung an der Niere. An extragenitalen Organen wirkt Progesteron u.a. auf die Niere und das ZNS. Progesteron besitzt unabhängig von Estrogenen einen thermogenetischen Effekt, dabei kommt es zu einer Erhöhung der Körpertemperatur um circa 0,6°C (Ganong, 1991).

1.3. Regulation der Hormone

Die Ausschüttung von Estrogenen und Progesteron wird durch das hypothalamo- hypophyse- ovarielle Regelkreissystem gesteuert. Hypothalamische Neurone schütten Gonadotropin- Releasing- Hormone in das portale Gefäßsystem aus. Als Folge davon wird FSH ausgeschüttet, welches die Anreifung einer Kohorte von Follikeln im Ovar bewirken, aus denen sich in der Regel nur ein Follikel zum dominanten, tertiären und schließlich zum Graaf- Follikel entwickelt. Die heranreifenden Follikel produzieren Estrogene, u.a. das Estradiol. Das Hormon gelangt über das Blut zur Hypophyse, an den Hypothalamus und an höhere ZNS- Strukturen. Bei niedrigen Estradiolkonzentrationen werden die LH- und FSH- produzierenden Zellen auf einem niedrigen Sensibilitätsniveau für die Wirkung von GnRH gehalten. Wahrscheinlich wird dann auch wenig GnRH ausgeschüttet. Deshalb bleiben LH- und FSH- Spiegel im Blut niedrig. Man spricht von der negativ- rückkoppelnden Wirkung von Estradiol. Mit zunehmender Reifung eines Follikels zum Tertiär- und Graaf- Follikel steigen die Estradiolspiegel im Blut an.

Unmittelbar vor dem Eisprung werden die Estradiolspiegel so hoch, dass die LH- und FSH- produzierenden Zellen der Hypophyse plötzlich von ihrer niedrigen auf eine hohe Antwortbereitschaft auf GnRH umschalten. Gleichzeitig wird vermutlich vom Hypothalamus mehr GnRH ausgeschüttet. Dadurch verstärkt sich die hypophysäre FSH- und LH- Sekretion. Man spricht jetzt von der positiv-rückkoppelnden Wirkung von Estradiol. LH bewirkt den Eisprung: der Follikel rupturiert als Folge von Prozessen, die durch den erhöhten LH- Spiegel eingeleitet werden. Die folliculären Granulosazellen, die bisher Estradiol produziert haben, nehmen die vermehrte Synthese und Ausschüttung von Progesteron auf. Dieser ebenfalls LH- abhängige Prozess wird als Luteinisierung der Zellen des rupturierten Follikels bezeichnet. Der Follikel wird zum Gelbkörper. Das immer noch vermehrt sezernierte Estradiol koppelt zusammen mit dem Progesteron nunmehr negativ zur Hypophyse und zum Hypothalamus zurück, so dass die hohe LH- und FSH- Sekretion wieder auf normale Werte absinkt. Aus nicht ganz geklärten Gründen hat das Corpus luteum eine Lebensdauer von etwa 14 Tagen. Gegen Ende dieser Zeit sinkt die Progesteronsekretion spontan wieder ab. Als Folge davon wird das Endometrium abgestoßen, es kommt zur Menstruationsblutung (Ganong, 1991).

1.4. Anatomie der Gebärmutter

Die Gebärmutter ist ein muskuläres Hohlorgan und gehört zu den Fortpflanzungsorganen der Frau. Bei nichtschwangeren und bei Frauen im ersten Trimester der Schwangerschaft ist sie im kleinen Becken positioniert, in der späteren Schwangerschaft wird sie zum abdominellen Organ. Sie ist ein in etwa birnenförmiges Organ von 5 cm Breite und 7 bis 8 cm Länge. Ihr Gewicht variiert zwischen 30 und 120g in Abhängigkeit davon, ob bereits eine Schwangerschaft vorlag oder nicht.

Aufgrund seines Aufbaus wird der Uterus in zwei Hauptabschnitte eingeteilt: dem Corpus mit seinem Endometrium und dem unteren Teil der Gebärmutter,

der Gebärmutterhals bezeichnet wird. Die Zervix hat die Form eines Zylinders, ist 3 cm lang und misst ca. 2 cm im Durchmesser.

Der gesamte Uterus besteht vorwiegend aus glatter Muskulatur mit etwas extrazellulärer Matrix zwischen den Zellen. Die Zervix dagegen besteht nur aus 10-15% glatter Muskulatur mit dem verbleibenden Anteil vorwiegend aus Bindegewebe bestehend.

Der in die Scheide reichende Abschnitt der zylindrischen Zervix enthält die äußere Öffnung der Gebärmutter, den äußeren Muttermund. Der sich oberhalb der Scheide befindliche Teil des Gebärmutterhalses beinhaltet den inneren Muttermund. Eine ca. 0,8 cm lange Engstelle, der Isthmus uteri genannt wird, schließt sich dem Gebärmutterhals an und trennt ihn von dem Gebärmutterkörper. Innerhalb des Gebärmutterkörpers befindet sich die Gebärmutterhöhle, in welche oben die Eileiter münden. Oberhalb dieser Einmündungsstelle liegt der Gebärmutterfundus.

Die Gebärmutter hat drei Wandschichten. Innen, der Gebärmutterhöhle zugewandt, liegt das Endometrium. Diese wird außen von einer 1 bis 3 cm dicken Muskelschicht, dem Myometrium, umgeben. Die Muskelschicht wird wiederum von dem Bindegewebe umschlossen (Krantz, 1991).

Die zervikale Mucosa besteht aus Zylinderepithel, welches sich im Bereich des äußeren Muttermundes an Plattenepithel grenzt. Mit zunehmendem Alter kann das Plattenepithel bis in den unteren Anteil der Zervix reichen (Danforth, 1983). Die uterine Zervix dient dem Fetus als Geburtskanal. Bei nichtschwangeren Frauen ist dieser Kanal eng geschlossen. Während der Schwangerschaft verändert sich seine Konsistenz und um die 38. Schwangerschaftswoche ist der Muttermund, vor allem bei Mehrgebärenden, 1-2 cm weit. Unter der Geburt weitet sich der Muttermund auf 10 cm und erlaubt so die Passage des Fetus. Die Veränderungen des zervikalen Gewebes, welche die Öffnung des Muttermundes erlauben, beginnen während der Schwangerschaft noch vor Wehenbeginn und werden Muttermundsreifung genannt (Leppert, 1995).

1.5 Vorhandene Kenntnisse über die Muttermunderöffnung

1.5.1 Biochemische Zusammensetzung der Cervix uteri

Der Muttermund besteht neben einem Wassergehalt von 74- 81% vorwiegend aus kollagenem Bindegewebe und Interzellulärsubstanz, welche von Fibrozyten synthetisiert und sezerniert wird. Ihr Anteil an glatter Muskulatur beträgt im Vergleich zum Corpus uteri, der einen Anteil glatter Muskulatur von 30-40% enthält, nur 8% (Schwahn et al., 1966). Die extrazelluläre Matrix der Zervix besteht aus zwei unterschiedlichen Komponenten: der Grundsubstanz, welche vorwiegend aus Proteoglykanen und wenig Elastin besteht (Leppert, 1983), und den unlöslichen Fasern, hauptsächlich Kollagenfasern und einem geringen Anteil elastischer und retikulärer Fasern. 30% des Kollagenes sind vom Typ I, 70% vom Typ III und ein geringer Anteil an Typ IV Kollagen ist im Bereich der Gefäße und glatten Muskelzellen nachzuweisen (Winkler and Rath, 1999).

Die Proteoglykane bestehen aus einem Core-Protein, an welches unverzweigte Glycosaminoglykanketten kovalent gebunden sind. Sie teilen sich auf in 76% Dermatan-sulfat, welches vorwiegend für die Stabilisierung der kollagenen Fibrillen zuständig ist, in 13% Heparan-sulfat und 11% Hyaluronat, welches eine hohe Wasserbindungskapazität besitzt und maßgeblich die Konsistenz der Zervix mitbestimmt. Desweiteren wurden Chondroitin, Chondroitin-4- und Chondroitin-6- Sulfat nachgewiesen (Uldbjerg et al, 1983). Das Glykoprotein Fibronectin, das ebenfalls im zervikalen Bindegewebe nachgewiesen wurde, schützt unter anderem das Kollagen vor dem Angriff der Kollagenasen und spielt somit eine Rolle bei den Umbauvorgängen des zervikalen Bindegewebes (Rath et al, 1994).

1.5.2 Biochemische Veränderungen der Cervix uteri während der Schwangerschaft

Die Muttermundsreifung ist ein sich langsam entwickelnder Prozess, bei dem unterschiedliche Mechanismen eine Rolle spielen. In der Frühschwangerschaft

steht die Proliferation von Fibroblasten und glatten Muskelzellen im Vordergrund. Gegen Ende der Schwangerschaft finden im Muttermund verstärkt Um- und Abbauvorgänge der extrazellulären Matrix, sowie apoptotische Zellveränderungen statt.

Die Muttermundseröffnung unter der Geburt ist im Unterschied zu der langsam ablaufenden Zervixreifung durch rapide verlaufende Veränderungen der Zusammensetzung der extrazellulären Matrix charakterisiert. Zu diesen gehört ein rascher Abbau des Kollagens, ein Wechsel der Kollagenstruktur und Veränderungen anderer Matrixproteine (Winkler and Rath, 1999).

Im Verlauf der Schwangerschaft kommt es nur zu einem geringen Anstieg des Wassergehaltes von 4-6% (Rechberger et al, 1988), welcher nicht für die Volumenzunahme und Veränderung der Konsistenz der Zervix verantwortlich sein kann.

Es wird ein Anstieg der Gesamtkollagen Synthese durch Fibroblasten beobachtet, welcher, wie in vitro Untersuchungen zeigten, vor allem durch Prostaglandine, Estradiol und Progesteron moduliert wird (Wiqvist, 1986). Das neu synthetisierte Kollagen besteht vorwiegend aus wenig quervernetztem, leicht löslichem Kollagen.

Der Anteil des Gesamtkollagengehalts am Gesamtproteinanteil der Zervix fällt von 82% bei der nichtgraviden Zervix auf 52% bei vollständiger Muttermundsöffnung unter der Geburt ab (Kleissl, 1978). Dieser Abfall könnte einerseits Folge der gesteigerten Kollagenolyse (Ekman, 1991) andererseits Folge der erhöhten Wassereinlagerung und gesteigerten Produktion nichtkollagener Proteine sein (Yu and Leppert, 1991). Zusätzlich wird eine erhöhte Löslichkeit des Kollagenes im zervikalen Bindegewebe während der Schwangerschaft beobachtet, welche das neu synthetisierte, unreife Kollagen betrifft (Maillot et al, 1981).

Die Veränderung des Verteilungsmusters der Proteoglykane mit dem Abfall des Dermatansulfat-Gehaltes und einem gleichzeitigen Anstieg des Hyaluronat- und Heparansulfatgehaltes spielen eine wesentliche Rolle bei den Konsistenzveränderungen der Zervix während der Schwangerschaft (Maillot et al, 1981).

Der Anteil des Dermatansulfates am Gesamtglykosaminoglykangehalt fällt von 41% bei unreifer Zervix auf 15% bei einer Muttermundsweite von 2-3 cm ab. Der Anteil des Hyaluran am Gesamtglykosaminoglykangehalt steigt von 10% bei unreifer Zervix auf 50% bei einer Muttermundsweite von 2-3 cm an.

Die Fibronektinkonzentration in der extrazellulären Matrix fällt während der Schwangerschaft bis sie unter der Geburt die niedrigsten Werte erreicht.

Die Spaltung des Fibronektins gemeinsam mit der des Kollagenes und des Dermatansulfates führt zu einer Destabilisierung der kollagenen Fibrillen, begünstigt die Angreifbarkeit der Makromoleküle durch Kollagenasen und Proteasen und ist Voraussetzung für eine enzymatisch induzierte Muttermundseröffnung (Rath, 1990). Die Fibronektinspaltprodukte stimulieren die Degranulation polymorphkerniger Leukozyten (Osmers et al, 1994).

Die gesteigerte Hyaluranproduktion beeinflusst die Kollagensynthese. Es werden schmale, nicht quervernetzte Kollagenfasern ausgebildet. Dies korreliert mit der Beobachtung, dass es in der Zervixreifungsphase zu einer Veränderung der Kollagenfaserausrichtung kommt mit gleichzeitiger Herabsetzung der Faserlänge (Leppert, 1992).

Ergebnis all dieser biochemischen Veränderungen sind eine reife Zervix, die eine erhöhte Dehnbarkeit des Gewebes besitzt und klinisch als weich und elastisch beschrieben wird (Huszar and Naftolin, 1987).

Neben Estrogenen und Progesteron sollen Prostaglandine, Stickstoffmonoxid und Relaxin eine Rolle beim Reifungsprozess des Muttermundes spielen.

Prostaglandinen, vor allem PGE₂, wurde für eine lange Zeit eine zentrale Rolle bei den Veränderungen der extrazellulären Matrix des Muttermundes zugeschrieben. Obwohl lokal applizierte Prostaglandine Veränderungen der extrazellulären Matrix induzieren (Forman et al, 1982) und zum Erweichen der unreifen Zervix benutzt werden, wurde ihre Schlüsselrolle im Prozess der Muttermundseröffnung von verschiedenen Forschergruppen in Frage gestellt.

1990 zeigte Rath, dass die Prostaglandin E₂-induzierte Muttermundseröffnung in Zusammenhang mit dem enzymatischen Abbau des Kollagens, der gesteigerten Synthese von nicht kollagenen Proteinen und dem Anstieg der Hyaluronkonzentration steht (Rath, 1990).

2007 fanden Word et al, dass Prostaglandine, Estrogene und Progesteron zu einem Anstieg der Kollagenase-, Elastase-, Metallproteinase- und des Zytokinlevels führen, welcher für die Umbauprozesse während der Muttermundseröffnung nötig ist (Word et al, 2007).

Die physiologische Zervixreifung beginnt bei einer normalen Schwangerschaft, wie Experimente an Meerschweinchen zeigten, im späten mittleren Schwangerschaftsdrittel, lange vor dem Beginn der Wehentätigkeit (Chwalisz et al, 1991). Die Prostaglandinsynthese wird über Zykllooxygenase- Enzyme reguliert. Es konnte gezeigt werden, dass weder nichtselektive COX-Inhibitoren noch selektive COX II-Inhibitoren die anti- Progestin induzierte Muttermundseröffnung beim Menschen wie auch beim Meerschweinchen blockieren können. Im Gegensatz dazu blockieren sie die anti-Progestin induzierten Gebärmutterkontraktionen, wonach zu schließen ist, dass andere lokale Mediatoren die Schlüsselrolle bei der Muttermundseröffnung spielen (Chwalisz, 1994).

Stickstoffmonoxid wird nach der Aktivierung der Stickstoffmonoxidsynthase im Gewebe freigesetzt. Die NO-Synthase konnte in humanem Zervixgewebe nachgewiesen werden, wobei erhöhte Konzentrationen in Terminnähe gemessen wurden (Yoshida et al, 2001). Sie beeinflusst die Aktivität der COX II mit Erhöhung der Prostaglandin-E2 Konzentration (Salvemini et al, 1995) und stimuliert die Proteoglykan- und Metalloproteinase-Produktion.

Das Proteohormon Relaxin bewirkte in Tierversuchen Veränderungen der mechanischen Eigenschaften und der biochemischen Zusammensetzung der Zervix (Winn et al, 1993), beim Menschen konnte jedoch keine zervixreifende Wirkung nachgewiesen werden (Bell et al, 1993).

1.5.3 Die Cervix uteri unter der Geburt

Die Muttermundseröffnung ist aktiver biochemischer Prozess, welcher unabhängig von den Gebärmutterkontraktionen geschieht, und einer akuten Entzündungsreaktion ähnelt. Während der Muttermunderöffnung ist die Entzündungskaskade aktiviert und beinhaltet die Freisetzung von

proinflammatorischen Zytokinen, die Infiltration mit weißen Blutzellen, die Freisetzung und Aktivierung von degradativen Enzymen (Metallproteinasen). Weiterhin verändert sich in der extrazellulären Matrix der Zervix die Synthese der Proteine und Glykoproteine mit ansteigendem Kollagenumsatz, Auflockerung der kollagenen Fibrillen, Veränderungen im Proteoglykan/Kollagen Verhältnis und Anstieg der extrazellulären Flüssigkeit (Leppert, 1992, 1995).

Unter der Geburt kann eine gesteigerte Kollagenaseaktivität nachgewiesen werden, die mit zunehmender Muttermundsweite zunimmt und mit der Invasion des zervikalen Stromas durch neutrophile Granulozyten einhergeht (Winkler und Rath, 1999, Rath et al, 1994).

Verschiedene Zytokine stehen in Zusammenhang mit den entzündungsähnlichen Prozessen während der Muttermundseröffnung: IL-8 ist ein von Fibroblasten und Makrophagen produziertes Zytokin, welches eine zentrale Rolle bei der Muttermundseröffnung spielen soll. Es induziert die Chemotaxis, Aktivierung und Degranulation neutrophiler Granulozyten mit nachfolgender Freisetzung von Proteasen. Wie in Tierversuchen nachgewiesen führt die lokale Applikation von IL-8 zur Muttermundserweichung und –eröffnung mit gleichzeitiger Invasion des Stromas durch neutrophile Granulozyten und einem Anstieg der Kollagenaseaktivität. Beim Menschen wurden die IL-8 Produktionen durch Fibroblasten im Zervixgewebe nachgewiesen und es konnte eine Steigerung der Produktion von IL-8 durch IL-1 β gezeigt werden (Winkler et al, 2000). Gemeinsam mit dem Anstieg der IL-8 Konzentrationen wurde auch ein Anstieg der IL-1 β -, IL-6- und TNF- α -Konzentration mit zunehmender Muttermundseröffnung nachgewiesen (Winkler und Rath, 2001).

IL-1 β ist ein weiteres wichtiges Zytokin und stimuliert in vitro die Arachidonsäurefreisetzung aus menschlichen Myometriumzellen sowie die Prostaglandin-E2-Syntheserate verschiedener intrauteriner Zellarten. Des Weiteren induziert IL-1 β die Kollagenase- und Elastaseproduktion und vermindert die Produktion der Gewebeproteaseinhibitoren.

Die progrediente granulozytäre Stromainvasion geht einher mit dem Anstieg der Aktivität der Metalloproteinasen MMP-8 und MMP-9 sowie dem Anstieg der Konzentration des granulozytenkoloniestimulierenden Faktors (Sennström et al, 2000). G-CSF stimuliert die Proliferation und Aktivierung der neutrophilen Granulozyten und scheint neben den genannten Zytokinen zu deren Degranulation im zervikalen Stroma beizutragen.

Voraussetzung für die Extravasion neutrophiler Granulozyten ist die kurzfristige Adhäsionssteigerung des Gefäßendothels. Diese wird über die Adhäsionsmoleküle VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ELAM-1 (endothelial leucozyte adhesion molecule-1) und ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) vermittelt. Die Konzentrationen dieser drei Adhäsionsmoleküle steigen unter der Geburt ebenfalls signifikant an (Winkler et al, 1998a).

1.5.4 Estrogene und Muttermundseröffnung

Es wird schon lange untersucht, ob Estrogene bei der Muttermundseröffnung eine Schlüsselrolle spielen oder nicht. Schon 1977 zeigte eine Studie, dass lokal appliziertes Estradiol (150 mg) bei schwangeren Frauen im Vergleich zu Placebo zu einer Stimulation der Muttermundseröffnung führte (Gordon and Calder, 1977). In einer anderen Studie dagegen konnte die lokale Applikation von Estradiol (200 mg) bei schwangeren Frauen in Terminnähe keinen Effekt auf die Weheninduktion, Wehenlänge oder den Bishop Score zeigen (Williams et al, 1988).

Obwohl Estrogene wahrscheinlich keine aktive Rolle bei der Geburt spielen, scheinen sie die Veränderungen der extrazellulären Matrix der Zervix während der Muttermundseröffnung zu beeinflussen (Stjernholm et al, 1997).

Die Wirkung der Estrogene wird über ihre Bindung an den spezifischen ER in den Zielzellen erreicht (Gronemeyer, 1992).

Stjernholm et al zeigten weiterhin, dass sowohl die Konzentration des ER- α als auch des PR in der Zervix bei Termingeburt und postpartal signifikant niedriger sind als bei nichtschwangeren Frauen. Gleichzeitig mit dem Abfall dieser

Rezeptor-Konzentrationen konnten sie biochemische Veränderungen, wie Anstieg der Kollagenlöslichkeit und Veränderungen in der Proteoglykan Zusammensetzung feststellen, ohne die zugrundeliegenden Mechanismen klären zu können (Stjernholm et al, 1996,1997).

Die Entdeckung des zweiten ER Subtypen (ER- β) von Kuiper et al 1996 führte zu neuen Forschungsansätzen.

Hall und McDonald zeigten, dass der ER- β die ER- α -Transkriptionsaktivität bei niedrigen Östrogenkonzentrationen suprimieren kann (Hall und McDonald, 1999). Es ist jedoch nicht klar, ob man diese Ergebnisse auch auf hohe Estrogenkonzentrationen, wie sie während der Schwangerschaft bestehen, übertragen kann.

Weihua et al demonstrierten bei ER- β -knock-out Mäusen, dass der ER- β die ER- α -vermittelte Gentranskription im Uterus moduliert und verantwortlich ist für die PR down Regulation im Endometrium (Weihua et al, 2000).

Wang et al untersuchten die zwei Subtypen der ER in der Zervix bei Termingeburt, postpartal und bei nichtschwangeren Frauen. Die ER- β mRNA-Konzentration war bei Termingeburt erhöht und fiel postpartal auf Werte der nichtschwangeren Patientinnengruppe ab. Dagegen zeigte die ER- α mRNA Konzentration bei Termingeburt keine Veränderungen und fiel postpartal auf mehr als die Hälfte der Konzentration von nichtschwangeren Frauen. Diese Veränderung des Verhältnisses der zwei Subtypen zugunsten des ER- β könnte zu einem Abfall des PR in der Zervix führen und somit eine verminderte Progesteronaktivität bedeuten (Wang, 2001).

Verschiedene Arbeitsgruppen beschrieben erhöhte Konzentrationen von Dehydroepiandrosteron-Sulfat, einem Vorläufer der Estrogene, bei Frauen mit reifer Zervix im Vergleich zu Frauen mit unreifer Zervix, während die Estradiol-Konzentration in der Zervix keinen Unterschied zeigte (Zuidema et al, 1986, Liapis et al, 1993). Die DHEA-S Produktion erfolgt in der fetalen Nebenniere und wird über die Aktivierung der fetalen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse angeregt. In der Plazenta wird DHEA-S zu Estriol metabolisiert.

Erhöhte Plasmakonzentration von Dehydroepiandrosteron-Sulfat und 17 β -Estradiol wurde bei Frauen mit beginnender Muttermundseröffnung gemessen. Nach i.v. Gabe von Dehydroepiandrosteron-Sulfat bei Frauen mit einem Schwangerschaftsalter von 39 Wochen und mehr, konnte ein Anstieg der Konzentration des 17- β -Estradiols und eine fortschreitende Muttermundseröffnung festgestellt werden (Takahashi, 1984). Man vermutet, dass diese einerseits durch die direkte Stimulation von Fibroblasten und Steigerung der Prokollagenase und Prostromelycin Produktion, andererseits indirekt über die Wirkung seines Metaboliten 17 β -Estradiol erreicht wurde (Leppert, 1992). In vitro Untersuchungen zeigten, dass humanes Zervixgewebe, welches mit DHEA-S behandelt wurde, einen Anstieg der Kollagenaseaktivität zeigte, während die Behandlung mit freien Steroiden keinen Effekt zeigte (Yoshida et al, 1993). Folglich können Estrogene über seinen Vorläufer DHEA-S die Umbauvorgänge in der Zervix durch Regulierung der Kollagenaseaktivität beeinflussen.

Die entzündungsähnlichen Prozesse während der Muttermundseröffnung scheinen u.a. durch Estrogene beeinflusst zu werden.

Winkler et al beschrieben einen Anstieg des Adhäsionsvermögens des zervikalen Gefäßendothels mit konsekutiver Extravasion und Degranulation von Neutrophilen bei der Termingeburt. Dieser Prozess scheint über Estradiol reguliert und über Zytokine vermittelt zu werden (Winkler et al, 1999).

Im uterinen Epithel von Mäusen konnte gezeigt werden, dass Estrogene die Leukozytenmigration über die Regulation des Neutrophilen-Makrophagen Kolonie stimulierenden Faktors (GM-CSF) regulieren (Robertson et al, 1996). ER- β , nicht jedoch ER- α , konnte immunhistochemisch in Neutrophilen und endothelialen Zellen von Gefäßen nachgewiesen werden (Wang et al, 2001). Folglich wird vermutet, dass die Antwort der Neutrophilen auf Estrogene über den ER- β reguliert wird. Während der Schwangerschaft wandern Neutrophile in das Stroma der Zervix ein und sind Hauptproduktionsort der zervikalen Kollagenase (Osmers et al, 1992). Die Extravasion der Neutrophilen, der Mastzellen und Monozyten mit Freisetzung von proteolytischen Enzymen und

Zytokinen steht in engem Zusammenhang mit dem Prozess der Muttermundseröffnung.

1.5.5 Progesteron und Muttermundseröffnung

Progesteron und Estrogene spielen eine zentrale Rolle in der Erhaltung der Schwangerschaft und bei der Geburt durch Beeinflussung des Myometriums und des Muttermundes. Schon 1991 zeigten Rajabi et al in in vitro Untersuchungen, dass Estrogene den Kollagenabbau stimulieren und dass Progesteron den estrogen-induzierten Kollagenabbau hemmt (Rajabi et al, 1991a, 1991b).

Progesteron erhält die Schwangerschaft und verhindert die Geburt durch Ruhigstellen des Myometriums.

Neuste Erkenntnisse weisen darauf hin, dass die Ruhigstellung des Myometriums durch Progesteron indirekt erstens über Hemmung der Aktivierung der Entzündungsreaktion, zweitens über Hemmung der Expression von kontraktilen Genen im Uterus und Zervix und drittens über Blockade der Produktion von Chemokinen und somit Hemmung der Chemotaxis der Immunzellen geschieht.

So konnte schon in früheren Studien beobachtet werden, dass während des Menstruationszyklus von Nagetieren die Migration von Makrophagen und Neutrophilen in den Uterus durch Progesteron gehemmt und durch Estrogene stimuliert wird (Kaushic et al, 1998, Hunt et al, 1998).

1956 vermutete Csapo, dass Progesteron aktiv die Wehen blockiert und dass der Geburt ein Abfall der Progesteron-Konzentration vorausgeht (Csapo, 1956). Tatsächlich geht bei allen bis jetzt untersuchten Säugetieren, wie auch beim Menschen, der Geburt ein Ereignis voraus, welches die Progesteronsynthese oder -wirkung hemmt. Bei den meisten Säugetieren ist dies der rapide Abfall der Progesteron- Konzentration im Blut.

Im Gegensatz dazu stimulieren Estrogene die Geburt durch Anstieg der Expression von Genen, welche die myometrialen Kontraktionen kodieren. So

ist bei den meisten Spezies die Geburt mit einem Anstieg der Estrogen Konzentration im Blut assoziiert.

Beim Menschen dagegen sind während der Schwangerschaft die Progesteron- und Estrogen-Konzentrationen im Blut hoch und verbleiben erhöht während der Wehen und der Geburt (Walsh et al, 1984).

Obwohl bei der Frau der Rückgang der Progesteronkonzentration nicht zu beobachten ist, kann es nach einer Behandlung mit den PR- Antagonisten Mifepriston (RU486) oder Onapriston zur Muttermundseröffnung und gesteigerter Wehentätigkeit kommen, sowie zu einer erhöhten Sensibilität gegenüber der Behandlung mit Oxytozin oder Prostaglandinen (Chwalisz,1994, Stenlund et al,1999).

Seit langem wird versucht, die verminderte Progesteronwirkung trotz der hohen Progesteronserumkonzentrationen zu erklären.

Bis 2007 konnten keine Veränderungen im Progesteronmetabolismus, der Progesteronbindung oder -sequestration im Myometrium, welche für den Progesteronrückgang verantwortlich sein könnten, nachgewiesen werden. Dagegen konnten signifikante Veränderungen in der Expression der Progesteron-Rezeptor-Isoformen im menschlichen Myometrium während der Geburt gezeigt werden (Mesiano et al, 2002, 2007).

Die Wirkung der Hormone wird über ihre Rezeptoren vermittelt. Der Progesteronrezeptor existiert wie schon beschrieben als zwei Hauptsubtypen, der PR A und der PR B. Der PR B aktiviert ligandenabhängig die Transkription der progesteronabhängigen Gene, wogegen der PR A ligandenabhängig die Transkriptionsaktivität, die über den PR B vermittelt wird, senkt (Vegeto et al, 1993). Bei Mäusen fand man, dass bei Fehlen beider Rezeptorsubtypen (Lydon et al, 1995), als auch bei Fehlen nur des PR A die Maus infertil ist und dass über den PR B nur ein geringer Anteil der Progesteronwirkung vermittelt wird (Mulac- Jericevic et al, 2000). Die Beobachtung, dass das Fehlen des PR B nicht zu Infertilität oder Problemen während der Schwangerschaft führt (Conneely, 2001), lässt vermuten, dass bei Mäusen die Hauptwirkung des Progesterons allein über den PR A vermittelt wird. Ob man diese Erkenntnisse auf den Menschen übertragen kann, bleibt abzuwarten.

Pieber et al schrieb dem PR A eine antagonistische Rolle auf die PR B-Funktionen im Uterus zu, nachdem sie in vitro Untersuchungen zeigten, dass PR A die Transkriptionsaktivität des PR B in humanen Myometriumzellen hemmt (Pieber et al, 2001).

2002 beschrieben Mesiano et al einen 10fachen Anstieg der PR A/PR B mRNA Ratio im unteren Uterinsegment des Myometriums bei Frauen mit Wehentätigkeit im Gegensatz zu Frauen ohne Wehentätigkeit bei Termingeburt (Mesiano et al, 2002).

Der dritte PR Isoform, der PR C (Wei et al, 1997), besitzt keine DNA-bindende Domäne und ist vor allem auf das Zytoplasma begrenzt (Wei et al, 1990). Der PR C ist somit selbst nicht fähig, an DNA zu binden. Er ist jedoch auf der einen Seite fähig, Progesteron zu binden (Wei et al, 1996) und dieses von seiner Bindung an andere PR abzuhalten und auf der anderen Seite in der Lage PR B zu binden und dessen Affinität zum DNA zu reduzieren (Wei et al, 1997).

2006 beschrieben Karteris et al die gesteigerte Expression von zwei neuen PR Isoformen im Myometrium bei Frauen mit Wehentätigkeit im Vergleich zu Frauen ohne Wehentätigkeit. Sie vermuteten, dass diese eine Rolle bei der gesteigerten myometrialen Kontraktilität spielen. Es handelt sich um Membran G Protein-gekoppelte Isoformen (mPR A und mPR B), die in den humanen Myometriumzellen nachgewiesen wurden (Karteris et al, 2006).

Der menschliche ER existiert in zwei Hauptsubtypen, dem ER- α und dem ER- β , welche auf verschiedenen Genen kodiert sind, verschiedene Ligandenbinungsaffinitäten besitzen und verschiedene Gewebeverteilungen aufweisen (Gustafsson, 2000).

Mesiano et al stellten 2002 das hypothetische Modell auf, dass während der Schwangerschaft Progesteron durch den PR B die Expression des ER- α inhibiert. Bei der Geburt dagegen steigt die PR A-Expression und führt zum Progesteronrückgang und folglich steigt die ER- α -Expression. Die im Blut zirkulierenden Estrogene steigern über den ER- α die Expression der Gene, welche die kontraktionsassoziierten Proteine kodieren (contraction-associated proteins) und führen so zur Kontraktion des Myometriums (Mesiano, 2002).

Von verschiedenen Untersuchungsgruppen wurde vermutet, dass für die erfolgreiche Muttermundseröffnung unter physiologischen Bedingungen ein lokaler Progesteron-Metabolismus im Gewebe nötig ist.

Das Enzym Steroid-5 α -Reduktase Typ 1 und 20 α – Hydroxysteroid-Dehydrogenase metabolisieren Progesteron in den Zielgeweben in inaktive Produkte.

In Mausexperimenten stellten man eine erhöhte Expression der Steroid-5 α -Reduktase Typ 1 in den Epithelzellen der Zervix fest. Bei Mäusen mit Defekt dieses Enzyms kam es zu Geburtskomplikationen wegen unvollständiger Muttermundsöffnung (Mahendroo et al, 1999), obwohl die zirkulierende Progesteronkonzentration in Geburtsnähe fiel. Dies ist ein klarer Hinweis, dass der lokale Progesteronmetabolismus eine wichtige Rolle beim Progesteron Konzentrationsabfall als auch bei der Auslösung der Geburt spielt. Bei Frauen ist zwar die 5-alpha-Reduktase in der Zervix vorhanden, ihre Konzentration verändert sich jedoch nicht während Schwangerschaft und Geburt.

Entsprechend konnte im Mäuseuterus eine erhöhte Aktivität des Progesteron metabolisierenden Enzyms 20 α – Hydroxysteroid- Dehydrogenase nachgewiesen werden (Condon et al, 2004). Mäuse mit Gendefekt im Bereich dieses Enzymes entwickelten ebenfalls Geburtskomplikationen (Ishida et al, 2007). Es existieren jedoch widersprüchliche Studien, ob es gleichzeitig zu einem Abfall der Progesteronkonzentration kommt oder nicht (Ishida et al, 2007/Piekorz et al, 2005).

Andersson et al untersuchten die Aktivität des Enzyms 17-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase Typ 2 in den Epithelzellen der Zervix. 17-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase Typ 2 konvertiert Estradiol zu Estron und 20-alpha-Hydroxyprogesteron zu Progesteron. Sie fanden, dass die Aktivität dieses Enzyms während der Muttermundsöffnung herunterreguliert wird und so die Nichtaktivierung des Progesterons und somit die Muttermundseröffnung resultiert. Die Muttermundseröffnung während der Schwangerschaft ist demnach mit der lokalen Regulation des Progesteron- und Östrogenmetabolismus durch die Interaktion des zervikalen Epithels mit dem Stroma assoziiert (Andersson et al, 2008).

Der Nuklearfaktor κB ist ein Proteinkomplex, welcher die Transkription des DNA kontrolliert. Er spielt eine Schlüsselrolle bei der Regulierung der Transkription von Zytokin-Genen, die für die Entzündungsantwort verantwortlich sind (Barnes und Karin, 1997).

Beim Zerfall von gram-negativen Organismen werden verschiedene Zellbestandteile, wie Lipopolysaccharide, freigesetzt. LPS stimulieren die Synthese und Freisetzung von IL-6 und IL-8 aus Monozyten und Makrophagen (Beutler und Rietschel, 2003). IL-1 β reguliert ebenfalls die zervikale Sekretion von IL-8 (Winkler et al, 1998b). Es ist bekannt, dass LPS und IL-1 β den NF- κB in verschiedenen Zellen aktivieren (Müller et al, 1993, Hayden und Ghosh, 2004).

Allport et al zeigten, dass in Amnionepithelzellen die Überexpression des PR die Transkriptionsaktivität des Entzündungstranskriptionsfaktors NF- κB hemmt. Gleichzeitig aktiviert IL- β die NF- κB und hemmt die PR-Transkriptionsaktivität (Allport et al, 2001).

Progesteron blockiert die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κB auf der einen Seite ligandenabhängig über die Stimulierung des NF- κB Antagonisten I $\kappa B\alpha$ und auf der anderen Seite ligandenunabhängig über eine Protein-Protein-Interaktion und Hemmung der Transaktivierung von kontraktilen Genen (Mendelson, 2009).

1.5.6 Die Muttermundseröffnung als akute Entzündungsreaktion bei der Frühgeburt

Es wird schon lange vermutet, dass Frühgeburt und Termingeburt bei der Frau mit einer Entzündungsreaktion assoziiert sind (Liggins, 1981).

Von verschiedenen Arbeitsgruppen konnten entzündliche Ereignisse sowohl im Myometrium, in der Zervix, in den fetalen Membranen als auch im Blut beobachtet werden, welche auf einen Zusammenhang zwischen aufsteigender intrauteriner Infektion und Frühgeburtlichkeit hinwiesen.

Die Konzentration immunaktiver Zellen wie Leukozyten und Makrophagen steigt im zervikalen Stroma bei Geburt im Vergleich zum ersten Trimester der

Schwangerschaft 6-10-fach an (Bokstrom et al, 1997). Diese Zellen produzieren eine Vielzahl proinflammatorischer Zytokine und Matrix-Metalloproteinasen und initiieren die Veränderungen der extrazellulären Matrix der Zervix während der Geburt (Liggins, 1978/Thomson, 1999).

Zytokine und Chemokine ihrerseits sind in der Lage, immunaktive Zellen an den Entzündungsort zu lenken und spielen so eine Rolle bei der Schwangerschaft und Geburt (Kayisli, 2002).

Die mögliche Interaktion von aufsteigender Infektion und Frühgeburt ist vereinfacht in Abb. 3 dargestellt (Winkler, 1998a).

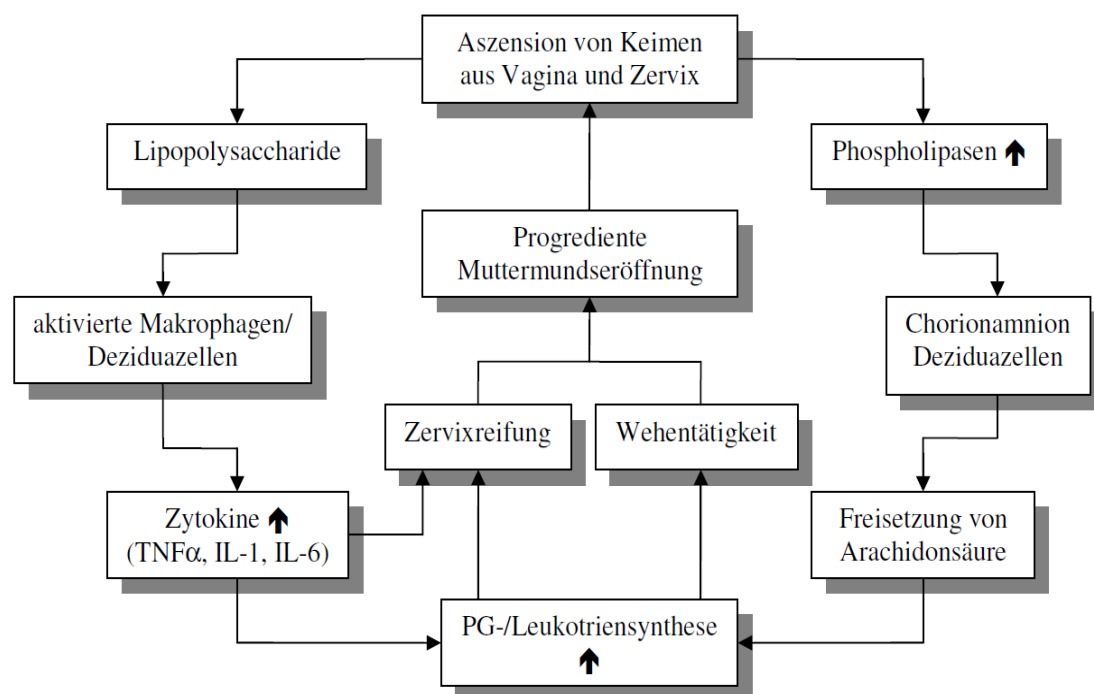


Abb. 3: Modell der aufsteigenden Infektion und Frühgeburt (Winkler, 1998a)

Bakterien, die am wahrscheinlichsten über die Vagina aufsteigen, erreichen die Eihäute. Beim Zerfall von gramnegativen Bakterien werden Lipopolysaccharide und Phospholipasen aus der Zellwand und Endotoxine freigesetzt. Wie in vitro Untersuchungen zeigten, können diese Substanzen die

PGE₂- Synthese aus Arachidonsäure in Amnion, Chorion und Dezidua stimulieren (Winkler und Rath, 1996).

Des Weiteren aktivieren die bakteriellen Endotoxine ubiquitär vorkommende Makrophagen, welche eine Vielzahl von Zytokinen (u.a. TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) sezernieren.

Die Zytokine ihrerseits induzieren erstens die erhöhte Expression von Adhäsionsmolekülen, zweitens die Freisetzung weiterer Zytokine aus zervikalen Fibroblasten und Makrophagen und drittens erhöhen sie in vitro die Syntheserate von PGE₂ durch Amnion-, Chorion- und Deziduazellen. Die erhöhte PGE₂- Konzentrationen führen zur Zervixreifung und Auslösung der Wehentätigkeit, welches wiederum die Aszension von Keimen begünstigt.

Allerdings wurde gezeigt, dass die erhöhten Zytokinkonzentrationen während der Frühgeburt weniger als 50% Infektionen zugeschrieben werden können (Farina, 2005).

Törnblom stellten 2005 in der Zervix erhöhte IL-8, IL-6, und MCP-1 Proteinkonzentrationen bei Frühgeburten mit Wehentätigkeit ohne klinische Infektionszeichen fest, wobei die RANTES und TNF- α Proteinkonzentration unverändert blieben. Diese Studie konnte keine Konzentrationsunterschiede in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter zeigen, hingegen konnte Unterschiede in Abhängigkeit von der Muttermundweite nachgewiesen werden. Ebenfalls wurden ein Anstieg der Leukozytenzahl und der CRP-Konzentration im Zervixgewebe in der Patientinnengruppe mit Wehentätigkeit festgestellt, welche auf den Anstieg des IL-6 Konzentration zurückzuführen sind. IL-6 stimuliert die akute Phase der Entzündungsreaktion und die CRP-Produktion in der Leber (Törnblom, 2005).

Es bestehen Hinweise, dass der heranwachsende Fetus selbst Signale sendet, welche die Makrophagenmigration in den Uterus stimulieren, Zytokine freisetzen und Entzündungstranskriptionsfaktoren wie den Nuklearfaktor κ B und das Aktivatorprotein 1 aktivieren.

Challis et al beschrieben eine erhöhte Kortisolproduktion durch den Feten, welche die COX-2 Expression in der Plazenta aktiviert und so zu einer gesteigerten Produktion von Prostaglandinen führt. Diese ihrerseits stimulieren

die C19- Steroid-Produktion in der Plazenta, welche über die plazentale Aromatase P450 zu Estrogenen metabolisiert werden. Die gesteigerte Estrogenproduktion antagonisiert die Progesteron-Rezeptor Funktion und führt zu Kontraktionen des Uterus (Challis, 2000).

CRH ist ein Peptidhormon bestehend aus 41 Aminosäuren und wurde erstmals im Hypothalamus von Säugetieren entdeckt, wo es die Sekretion des ACTH aus der vorderen Hypophyse reguliert (Vale et al, 1981).

Das hypothalamische CRH wirkt lokal über die Pfortader auf den Hypophysenvorderlappen und ist bei nichtschwangeren Frauen im peripheren Blut kaum nachweisbar.

Während der Schwangerschaft produzieren der Synzytiotrophoblast der Plazenta und die fetalen Membranen große Mengen an CRH (Riley, 1991). Die Synthese von CRH in diesen Geweben steigt exponentiell mit fortschreitender Schwangerschaft an (Frim et al, 1988) und kann am Termin in hohen Konzentrationen im mütterlichen und fetalen Blut als auch in der Amnionflüssigkeit nachgewiesen werden (Florio, 2002/ Toricelli, 2007).

Majzoub et al entwarfen ein schematisches Modell der CRH- Wirkung während der Schwangerschaft: das plazentare CRH stimuliert die fetale ACTH-Freisetzung, welches seinerseits die Kortisol-und DHEAS-Freisetzung aus der fetalen Nebenniere steigert. DHEA-S wird zu DHEA metabolisiert und zu Estrogen aromatisiert (Majzoub, 1999). Der Anstieg des CRH bewirkt den Hyperkortisolismus der Schwangerschaft (Goland et al, 1988).

Infektionen als auch hypoxische Veränderungen können durch lokale Wirkung auf die fetomaternale Grenzfläche zu einer Steigerung der CRH- Produktion über die Plazenta führen. Weiterhin können chronischer Stress, intrauterine Wachstumsretardierung und auch die schwangerschaftsinduzierte Hypertonie einen vorzeitigen Anstieg des CRH im mütterlichen Serum auslösen (Warren et al, 1995).

Ein spezifisches Bindungsprotein, das CRH- Bindungsprotein, bindet mit hoher Affinität das zirkulierende CRH (Woods et al, 1994) und verhindert somit seine Bindung an den Rezeptor und Wirkung in den Zielzellen. Fast während der gesamten Schwangerschaft ist die Konzentration des CRH- Bindungsproteines

im mütterlichen Serum ausreichend hoch, um die CRH Konzentration weitgehend zu neutralisieren. In den letzten fünf Wochen kommt es gemeinsam mit dem rapiden Anstieg der CRH- Konzentration zu einem rapiden Abfall des CRH-Bindungsproteins im mütterlichen Serum. Schon 48 Stunden nach der Geburt sinkt die CRH –Bindungsprotein Konzentration auf Normalwerte ab (Linton et al, 1993).

Somit könnte das Verhältnis von CRH zu seinem Bindungsprotein für die Prognose einer Frühgeburt benutzt werden (Berkowitz et al, 1996).

2. Ziel der Arbeit

Der Mechanismus, der beim Menschen die Geburt am Termin, aber auch die Frühgeburt, auslöst, ist bisher nicht ausreichend untersucht worden. Zweifellos spielen Estrogen- und Progesteron-vermittelte Prozesse dabei eine entscheidende Rolle. Da bislang entsprechende Untersuchungen nicht vorliegen, sollten die Konzentrationen der Estrogen- und Progesteron-Rezeptoren im unteren Uterinsegment des Menschen in verschiedenen Stadien der Geburt am Termin bestimmt werden.

3. Patientinnen und Methoden

3.1 Patientinnen

Die Untersuchung wurde mit Zustimmung der Ethikkommission des Universitätsklinikums der RWTH Aachen (Protokollnummer EK453) durchgeführt.

Gewebe aus dem unteren Uterinsegment wurde bei 70 Patientinnen während Kaiserschnitt-Operationen am Geburtstermin (37 0 bis 41 6 Schwangerschaftswochen) mit einer Muttermundsweite von <2 cm, 2- <4 cm,

4- 6 cm oder >6 cm gewonnen. Die Muttermundsweite wurde kurz vor der Durchführung der Kaiserschnitt-Operation von einem erfahrenen Geburtshelfer durch Palpation ermittelt und im Protokollbuch notiert. Anhand der Muttermundweiten wurden die Patientinnen in vier Gruppen eingeteilt.

Die Gruppengrößen der Patientinnen bei Bestimmung der Östrogen-Rezeptor-Konzentrationen (<2cm: n=10; 2 bis <4cm: n=8; 4 bis 6cm: n=9; >6cm: n=9) und der Progesteron – Rezeptorkonzentrationen (<2cm: n=9; 2 bis <4cm: n=10; 4 bis 6cm: n=10; >6cm: n=9) waren unterschiedlich, da die Gewebeproben in einigen Fällen nicht für die Bestimmung beider Rezeptoren ausreichten.

Zwischen den Patientinnengruppen bestanden hinsichtlich der Parität, dem Geschlecht und Geburtsgewicht der Kinder keine signifikanten Unterschiede (Tab.1 und Tab.2).

Tabelle 1: ER/Demographische Daten der Patientinnen in Abhängigkeit von der Muttermundsweite (Median, 25ste und 75ste Perzentile)

	Muttermundsweite in cm			
	<2 (n=10)	2 -<4 (n=8)	4-6 (n=9)	>6 (n=9)
Primipara (n)	4	2	6	5
Geschlecht Kind (w/m)	8/2	2/6	4/5	3/6
Geburtsgewicht (g)	3175 (2980-3350)	3315 (3125-3450)	3215 (3060-3430)	3610 (3250-4540)

Tabelle 2: PR/Demographische Daten der Patientinnen in Abhängigkeit von der Muttermundsweite (Median, 25.-75. Perzentile)

	Muttermundsweite in cm			
	<2 (n=9)	2 -<4 (n=10)	4-6 (n=10)	>6 (n=9)
Primipara (n)	3	4	7	4
Geschlecht Kind (w/m)	6/3	3/7	6/4	5/4
Geburtsgewicht (g)	3050 (2930-3240)	3315 (3050-3950)	3430 (3215-3720)	3400 (3010-3680)

3.2 Probengewinnung

Zwischen Januar 1996 und Juni 1998 erfolgte bei 51 Patientinnen, die wegen eines pathologischen fetalen Herzfrequenzmusters oder wegen eines zephalopelvinen Mißverhältnisses in Terminnähe (37+0 bis 41+6 Schwangerschaftswochen) durch Kaiserschnitt entbunden wurden, eine Gewebeentnahme aus dem unteren Uterinsegment. Aus der Studie ausgeschlossen wurden Patientinnen mit Hinweisen auf ein Amnioninfektionssyndrom, sowohl klinisch (Fieber über 38°C in Verbindung mit Leukozytose, palpatorisch druckschmerzhafter Uterus, fötide riechende Amnionflüssigkeit und fetale Tachykardie) als auch histologisch (nach Kriterien, die bei Winkler et al, 1997, beschrieben werden). Danach wurde die Herkunft der Proben aus der Zervix morphologisch im Hämatoxylin/Eosin-gefärbten Schnitt durch einen unabhängigen Pathologen verifiziert. Die Entnahme und Aufarbeitung der Gewebeproben wurde nach einem standardisiertem Verfahren vorgenommen (Winkler et al., 1998). Die Uterotomie erfolgte immer etwa 1 cm kaudal der Umschlagsfalte des Peritoneums von der Harnblase auf die Uterusvorderwand. Aus der unteren uterinen Schnittkante wurde in der Medianlinie mit einer Schere ein Gewebestreifen exzidiert, der vom Perimetrium bis zum Endometrium alle Schichten der Uteruswand enthielt.

Dieser wurde gleich nach der Entnahme in physiologischer Kochsalzlösung gespült, mit Pinzette und Skalpell von Verunreinigungen durch Blut, Fruchtwasser, Eihaut, Mukosa usw. befreit und in ca. $\frac{1}{2}$ cm³ große Gewebestücke aufgeteilt.

Innerhalb von 15 Minuten wurde das Gewebe in flüssigem Stickstoff bei -196° C schockgefroren und bis zur Weiterverarbeitung bei -80° C gelagert.

3.3 Probenaufbereitung

Die Gewebeproben wurden in gefrorenem Zustand mit einer Kugelmühle (Dismembrator, Braun, Melsungen) homogenisiert. Das pulverisierte Gewebe wurde anschließend mit 10 Volumeneinheiten eines gekühlten, auf 1mmol/l eingestellten Monothioglycerinpuffers verdünnt, welcher am Tag der Untersuchung folgendermaßen hergestellt wurde: Konzentriertes Monothioglycerin wurde mit destilliertem oder entionisiertem Wasser im Verhältnis 1:10 verdünnt. 50 ml des verdünnten Monothioglycerins wurden zu 50 ml der Pufferstammlösung zugegeben, so dass sich eine Konzentration von 1 mmol/l einstellte. Der Homogenisierungspuffer wurde bis zum Gebrauch bei $2 - 8^{\circ}$ C aufbewahrt. Reste des Puffers wurden am Ende des Arbeitstages verworfen.

Das Homogenat wurde bei $2-8^{\circ}$ C und $200\,000 \times g$ 45 Minuten lang zentrifugiert. Das Zytosol, also der Überstand, wurde in ein vorgekühltes Reagenzglas dekantiert und zur weiteren Verarbeitung auf Eis gekühlt.

3.4 Rezeptorenbestimmung im Zytosol

In dieser Arbeit wurden die Estrogen α - und die Progesteron A und B -Rezeptor -Konzentrationen bestimmt. Die Rezeptor -Bestimmung fand mittels kommerziell verfügbarer Solid-Phase-Enzymimmunoessays (Abbott PR- und ER- EIA Monoklonal, Abbott, Wiesbaden) statt. Dabei wurden Kugeln, die mit

anti- Progesteron bzw. anti- Estrogen- Rezeptor- Antikörpern (Ratte, monoklonal) beschichtet sind, mit den Zytosolproben der Patientinnen, den Standards und den Kontrollen bei 2-8°C für 18 h inkubiert. Das in den Proben vorhandene Progesteron/Estrogen wurde an das anti-PR/ER auf der Kugeloberfläche gebunden. Ungebundenes Material wurde durch Waschen der Kugeln mit 10 ml destilliertem Wasser mittels einer Waschanlage (Pentawash) entfernt. Dann wurden die Kugeln mit anti-PR/ER (Ratte, monoklonal), welches mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist (anti-PR/ER:HRPO), inkubiert. Erneutes Waschen der Kugeln mit 10 ml destilliertem Wasser entfernte das ungebundene Konjugat. Anschließend wurden die Kugeln mit OPD-Substratlösung inkubiert. Die OPD-Substratlösung wurde zehn bis fünfzehn Minuten vor Beginn der Farbentwicklung hergestellt. Abhängig von der Anzahl der zu untersuchenden Proben wurde die entsprechende Anzahl von OPD (o-Phenylendiamin + 2 HCl) Tabletten in einer vorgegebenen Menge OPD-Lösung (Citrat-Phosphat-Puffer mit 0,02% Wasserstoffperoxid und Bakteriziden) aufgelöst. Es musste darauf geachtet werden, dass die Reagenzien Raumtemperatur besitzen, die Lösung keinem direkten Licht ausgesetzt und innerhalb von 60 Minuten nach Herstellung verbraucht wurde. Die OPD-Substratlösung reagierte mit der Meerrettichperoxidase und führte zu einer gelb-orangen Färbung der Proben. Die Farbintensität war innerhalb des Arbeitsbereiches des Assays proportional zur in der Probe vorhandenen PR bzw. ER-Menge. Die Enzymreaktion wurde durch Zugabe von 1 N Schwefelsäure gestoppt und die entstandene Färbung mittels Spektralphotometer bei 492 nm gemessen.

Durch Auftragen der PR/ ER- Konzentrationen der Standards gegen die zugehörigen Extinktion wurde bei der Durchführung jedes Enzymimmunoassays eine Standardkurve erstellt. Die Rezeptor-Konzentrationen der Proben, die gleichzeitig mit den Standards gemessen wurden, konnten aus der Kurve abgelesen werden. Es erfolgten jeweils Doppelbestimmungen. Die abgelesenen Probenwerte mussten mit zwei multipliziert werden, da die Zytosole im Test 1:2 verdünnt wurden. Schließlich wurden die Probenwerte auf die Proteinkonzentration im Zytosol bezogen.

Die Empfindlichkeit des Estrogen-Rezeptor-Immunoassays betrug 0,5 fmol/mg Protein, der Intraassay-Variationskoeffizient 5-11% und der Interassay-Variationskoeffizient 5-9%. Für den Progesteron-Rezeptor-Immunoassay betrug die Empfindlichkeit 1,7 fmol/mg Protein, der Intraassay-Variationskoeffizient 5-8% und der Interassay-Variationskoeffizient 10-14%.

3.5 Materialien und Geräte

Die verwendeten Materialien und Geräte stammen von folgenden Firmen:

Abbott, Wiesbaden:

Solid- Phase- Enzymimmunoassay, Abbott PR- und ER- EIA Monoklonal,
Abbott, Wiesbaden

Waschanlage, Pentawash, Abbott

Braun-Melsungen, Melsungen:

Micro-Dismembrator, Kugelmühle

Beckman Coulter, Deutschland:

Ultrazentrifuge, Beckman Optima TM L-50

Spektralphotometer, Modell 24

Boehringer, Mannheim:

Analysenautomat Preciset

Merck, Darmstadt:

TRIS, EDTA, HCl,

Delta Pharma, Pfuhlingen:

Aqua ad

Die Grundchemikalien stammen im Allgemeinen von Merck, Darmstadt. Alle verwendeten Chemikalien hatten p.a. Qualität. Es wurde durch eine Millipore-Anlage gereinigtes Wasser verwendet.

3.7 Bestimmung der Proteinkonzentration im Zytosol

Die Proteinbestimmung erfolgte turbidimetrisch nach der Methode von Luxton et al. (Luxton et al, 1989) an einem Analysenautomaten (Preciset, Boehringer, Mannheim).

3.8 Statistische Methoden

Unterschiede der Befunde in den vier nach dem Grad der Muttermundsöffnung definierten Patientinnengruppen wurden mit Hilfe des Wilcoxon Rank Sum Tests, Unterschiede in der Parität und der Geschlechtsverteilung der Kinder wurden mit Hilfe des Chi Quadrat Tests überprüft. Statistische Signifikanz wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit <5% angenommen.

4. Ergebnisse

4.1 Konzentrationen des Östrogenrezeptors

Die mediane Östrogen-Rezeptor-Konzentration betrug bei einer Muttermundsweite von <2 cm 2,12 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 1,46-3,46 fmol/mg Protein) und bei einer Muttermundsweite von 2-<4 cm 2,03 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 1,40-3,87 fmol/mg Protein), fiel bei 4-6 cm eröffneten Muttermund signifikant auf 1,08 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 0,87-1,28 fmol/mg Protein) ab und stieg bei einer Muttermundsweite von >6

cm auf 2.00 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 0,97-2,55 fmol/mg Protein) an (Abb.4).

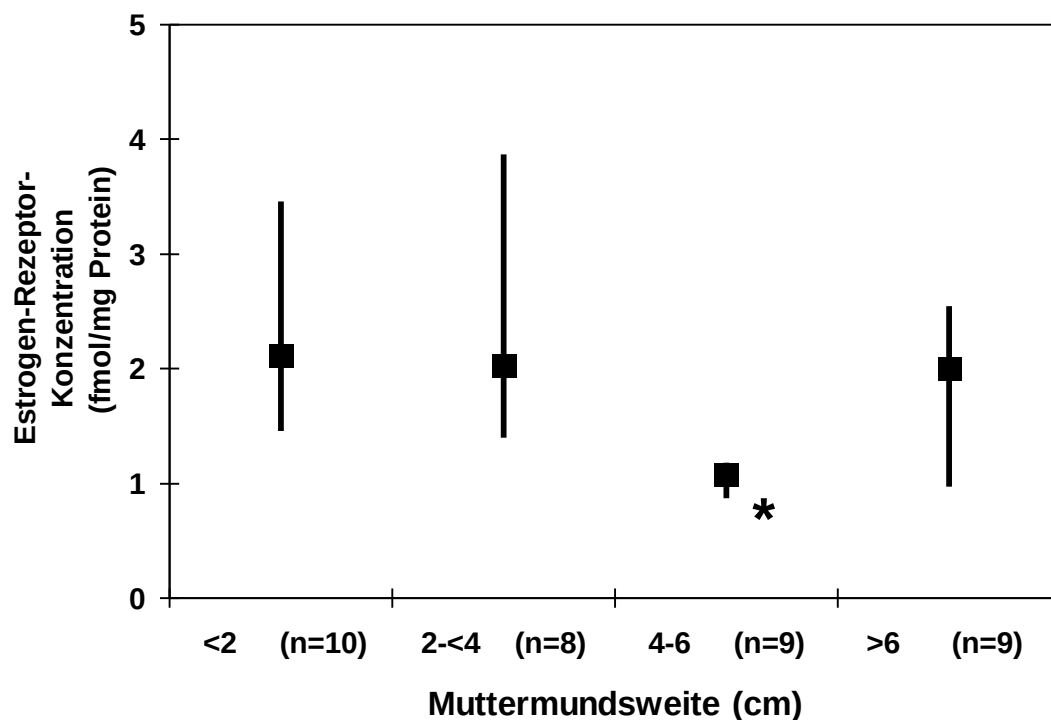


Abb.4: Mediane Estrogen-Rezeptor-Konzentrationen (fmol/mg Protein; 25.-75. Perzentile) im unteren Uterinsegment □□in Abhängigkeit von der Muttermundsweite (*p<0,05 gegenüber <2 cm und 2-<4 cm)

4.2 Konzentrationen des Progesteronrezeptors

Die mediane Progesteron-Rezeptor-Konzentration lag bei einer Muttermundsweite von <2cm bei 84,7 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 41,5-105,6 fmol/mg Protein), fiel bei einer Muttermundsweite von 2-<4 cm auf 36,6 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 32,3-79,5 fmol/mg Protein) ab und erreichte bei weiterer Muttermundseröffnung wieder annähernd die Ausgangswerte. Im Genaueren betrug die mediane Progesteron-Rezeptor-Konzentration bei einer Muttermundsweite von 4-6 cm 75,7 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 54,8-97,0 fmol/mg Protein) und bei einer Muttermundsweite

von >6 cm 83,7 fmol/mg Protein (25.-75. Perzentile: 56,2-88,1 fmol/mg Protein) (Abb.5).

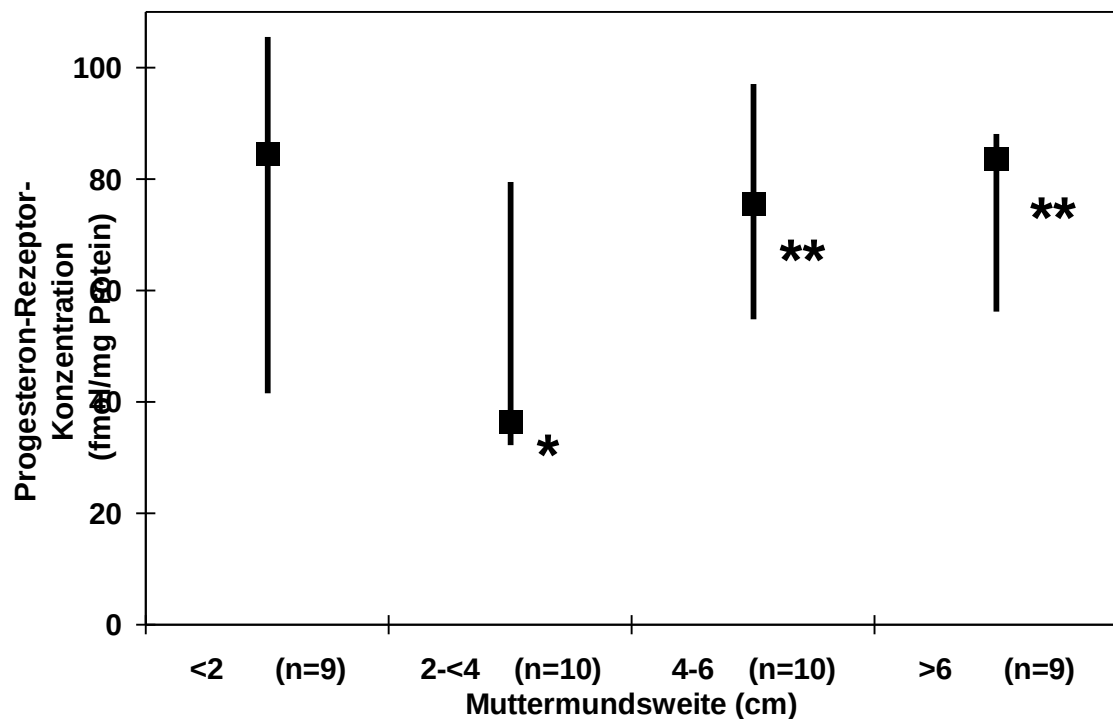


Abb 5: Mediane Progesteron-Rezeptor-Konzentrationen (fmol/mg Protein; 25.-75. Perzentile) im unteren Uterinsegment in Abhängigkeit von der Muttermundsweite (*p<0,05 gegenüber <2 cm;**p<0,05 gegenüber 2-<4 cm)

5. Diskussion

Bei der Muttermundseröffnung spielen Estrogene und Progesteron eine zentrale Rolle. Beide Hormone erreichen ihre Wirkung in den Zielzellen über Bindung an die spezifischen Rezeptoren.

In dieser Arbeit wurden die Konzentrationen der Estrogen α - und Progesteron A und B- Rezeptoren im unteren Uterinsegment gemessen, um deren Rolle beim Prozess der Muttermundseröffnung zu untersuchen.

Da aus ethischen und methodischen Gründen die Entnahme von Gewebe aus der Zervix von schwangeren Frauen nicht möglich ist, stammen die untersuchten Proben alle aus dem unteren Uterinsegment in der Nähe des inneren Muttermundes von Patientinnen bei Sectio cesarea. Die Veränderungen im Gewebe des unteren Uterinsegments unter der Geburt sind mit den Veränderungen im Gewebe der Zervix vergleichbar (Granström et al, 1989), so dass die Ergebnisse dieser Arbeit auf die Zervix bezogen werden können.

Die von uns gemessene mediane ER- Konzentration fällt bei einer Muttermundsweite von 2-<4cm ab, fällt dann signifikant weiter ab um bei einer Muttermundsweite von >6 cm wieder leicht anzusteigen.

Die von uns gemessene mediane PR- Konzentration bei einer MMW von <2cm betrug 84.7 fmol/mg Protein fiel bei einer Muttermundsweite von 2-<4cm signifikant auf etwa 36.6 fmol/mg Protein ab um dann auf die Ausgangswerte wieder anzusteigen.

Unsere Ergebnisse am Beginn der Muttermundseröffnung (MMW <2cm) stimmen mit den Messungen von Khan Dawood und Dawood, die sie bei Frauen mit Sectio cesarea vor Beginn der Wehentätigkeit mittels Scatchard-Analyse ermittelten, überein (Khan Dawood and Dawood, 1984).

Rezapour et al benutzten denselben Enzymimmunoassay und fanden bei Frauen am Termin ohne Wehentätigkeit zu Beginn der Muttermundseröffnung eine mediane PR-Konzentration von 40 fmol/mg Protein. Bei einer MMW von >4cm stellten sie ebenfalls, wenn auch gering, einen Abfall der PR-Konzentration fest. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen konnten sie keine signifikanten Veränderungen der ER-Konzentration unter der Geburt feststellen, wobei zu bemerken ist, dass in dieser Studie in der Patientinnengruppe >4cm keine weitere Differenzierung gemacht wurde (Rezapour et al, 1997).

Stjernholm et al bestimmten die Rezeptorkonzentrationen im Gewebe der Zervix von schwangeren Frauen unmittelbar vor der Geburt und postpartal und verglichen diese mit den Konzentrationen im Zervixgewebe von nicht schwangeren Frauen. Sie zeigten, dass sowohl die ER- α als auch die PR-

Konzentration bei schwangeren Frauen signifikant niedriger waren als bei nicht schwangeren Frauen (Stjernholm et al 1996, 1997). Wie bei der vorliegenden Arbeit erfolgte keine Differenzierung zwischen PR A und PR B.

In späteren Studien wurden die Konzentrationen des PR A und des PR B getrennt bestimmt, wobei eine Veränderung der Ratio PR A/ PR B mit 10 fachem Anstieg der PR A mRNA im Vergleich zur mRNA PR B Konzentration im unteren Uterinsegment bei Termingeburt mit Wehentätigkeit festgestellt wurde (Mesiano et al, 2002). Da der PR A die Transkriptionsaktivität des PR B inhibiert (Pieber et al, 2001) und der PR B die Expression des ER- α senkt, führt die Verschiebung des Verhältnisses PR A/ PR B zugunsten der PR A offenbar zur Steigerung der ER- α Expression und folglich zu einer verminderten Wirkung des Progesterons mit steigender Wirkung der Estrogene (Mesiano et al, 2002).

Der Abfall der PR-Konzentration bewirkt trotz der konstant hohen Serum- Progesteron-Werte am Ende der Schwangerschaft eine Verminderung der Progesteronwirkung in den Zellen der Zervix. Es ist zu vermuten, dass eine Aktivierung von Fibroblasten erfolgt, die am Ende der Schwangerschaft zu einem katabolen Proteoglykanstoffwechsel führen (Rath, 2004). Gleichzeitig mit dem Abfall der PR-Konzentration kann ein signifikanter Anstieg von chemotaktischen und proinflammatorischen Zytokinen beobachtet werden (Winkler et al, 1998b). Insbesondere kann eine gesteigerte Produktion des IL-8 aus zervikalen Fibroblasten belegt werden, die einher geht mit der Invasion des zervikalen Stromas durch neutrophile Granulozyten und einem Anstieg der Konzentrationen von proteolytischen Enzymen (z.B. MMP 8, MMP 9) (Winkler et al, 1999).

Progesteron hemmt die Migration von Makrophagen und Neutrophilen in den Uterus (Hunt et al, 1998) und supprimiert die IL-8-Produktion durch Fibroblasten. Der Abfall der PR-Konzentration führt demnach wahrscheinlich zu einer Abnahme der Progesteronwirkung in den Zielzellen mit Anstieg der IL-8-Produktion und führt zur Invasion des zervikalen Stromas durch neutrophile Granulozyten und damit zur progressiven Muttermundseröffnung (Winkler et al,

2002). Beim Menschen führt die Behandlung der Zervix mit PR-Antagonisten zur Muttermundseröffnung (Elliott et al, 1998).

Der Abfall der ER-Konzentration und die konstant niedrigen Werte während der Muttermundseröffnung können die schon früher beschriebene fördernde Wirkung der Estrogene auf die Muttermundseröffnung nicht erklären. Jedoch muss angemerkt werden, dass in dieser Arbeit nur die ER- α Konzentration bestimmt wurde. In einer späteren Studie konnte gezeigt werden, dass die Konzentration des ER- β im Gegensatz zu der des ER- α während der Geburt ansteigt, den ER- α moduliert und den PR supprimiert, so dass es zu einer verminderten Progesteronaktivität in der Zervix kommt (Weihua et al, 2000, Wang, 2001).

5.1 Hypothetisches Modell der Zervixreifung

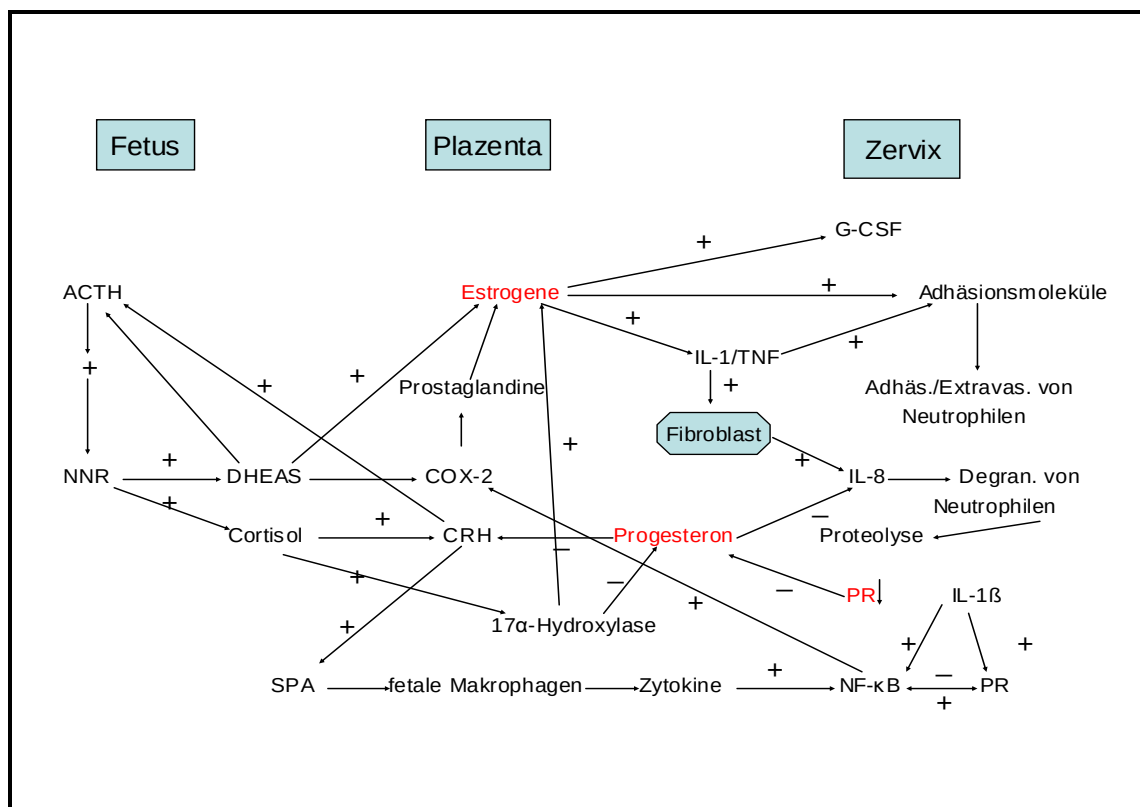


Abb.6: Modell der Muttermundseröffnung: Rolle der Östrogen- und Progesteronrezeptoren

Die hier vorgestellten Ergebnisse der Estrogen α - und Progesteron A und B-Rezeptor -Konzentrationen im unteren Uterinsegment können mit den bisher veröffentlichten Erkenntnissen über die Muttermundseröffnung in einem Modell zusammengefasst werden (Abb.6).

Auf der einen Seite stehen die lokalen Ereignisse im Bereich der Zervix, die wahrscheinlich durch den Abfall der Progesteronrezeptorkonzentration während der aktiven Geburtsphase eingeleitet werden. Die abnehmende Progesteronwirkung bewirkt die gesteigerte Produktion von IL-8 durch Fibroblasten mit darauffolgender Chemotaxis und Degranulation von neutrophilen Granulozyten. TNF- α und IL-1 β aus aktivierten Makrophagen führen zur Expression von Adhäsionsmolekülen, die die Adhäsion und Extravasation von Neutrophilen bewirken. Diese setzen Proteasen frei, die auf das in der Zervixreifung destabilisierte kollagene Faserwerk treffen, und dieses abbauen. Dieser Prozess wird durch eine ansteigende Produktion der Protease-Inhibitoren TIMP-1 und α 2-Makroglobulin im unteren Uterinsegment zeitlich begrenzt und damit die weitergehende Gewebelyse verhindert.

Auf der anderen Seite stehen Fetus und Plazenta. Grosse Mengen an CRH, die vom Synzytiotrophoblasten der Plazenta produziert werden, stimulieren die ACTH- Freisetzung aus der Hypophyse des Feten und führen zur Freisetzung von Kortisol und DHEAS aus der fetalen NNR. Kortisol wiederum stimuliert die Produktion von CRH in der Plazenta und verstärkt diesen Regelkreis. Gegenspieler ist Progesteron, welches die CRH- Produktion inhibiert.

DHEAS wird in der Plazenta zu Estrogen metabolisiert und antagonisiert die Wirkung des Progesterons in der Zervix.

CRH scheint ebenfalls die Freisetzung des Surfactant Protein A aus den Alveolarpneumonozyten zu stimulieren. SPA führt zur Aktivierung von fetalen Makrophagen, die in den Uterus wandern und mittels Zytokinen den uterinen NF- κ B aktivieren, der bei der Entzündungsantwort beteiligt ist.

Der NF- κ B führt direkt über Steigerung der Expression von Genen, die die uterinen Kontraktionen kodieren und indirekt über Blockade des PR zur Kontraktion des Uterus.

6. Zusammenfassung

Progesteron und Estrogene spielen eine zentrale Rolle in der Erhaltung der Schwangerschaft und bei der Geburt durch Beeinflussung des Myometriums und des Muttermundes.

In dieser Studie wurden die Konzentrationen des Estrogen-Rezeptors α - und des Progesteron-Rezeptors A und B im unteren Uterinsegment mittels Enzym-Immuno-Assays bestimmt.

Die untersuchten Proben wurden nach der palpatorisch ermittelten Muttermundsweite in vier Gruppen eingeteilt.

In jeder Gruppe wurden die Mediane der Rezeptorkonzentrationen bezogen auf den Gesamtproteingehalt ermittelt, um deren Verlauf während der Geburt beschreiben zu können. Die Gruppen untereinander wurden in ihren Medianen verglichen.

Die mediane ER- Konzentration fiel bei einer Muttermundsweite von 2-<4 cm gering ab, um bei einer MMW von 4-6 cm weiter signifikant abzufallen und letztlich bei einer MMW von >6 cm leicht anzusteigen, ohne jedoch die Ausgangswerte zu erreichen.

Die mediane PR- Konzentration fiel bei einer MMW von 2-<4 cm signifikant ab, um dann wieder signifikant anzusteigen und annähernd die Ausgangswerte zu erreichen.

Die Down-Regulation der Progesteron-Rezeptoren führt zu einer Verminderung der Progesteronwirkung in den Zielzellen.

Die Ergebnisse sprechen für eine zentrale Rolle des PR bei der Muttermundseröffnung und unterstützen die Hypothese, wonach der Abfall der Progesteronrezeptorkonzentration ein entscheidender Faktor im Prozesses der Muttermundseröffnung beim Menschen sein könnte.

7. Literatur

Allport VC, Pieber D, Slater DM, Newton R, White JO, Bennett PR

Human labour is associated with nuclear factor- κ B activity which mediates cyclo-oxygenase-2 expression and is involved with the 'functional progesterone withdrawal

Mol Hum Reprod **2001**, 7: 581-586

Andersson S, Minjarez D, Yost N, Word A.

Estrogen and progesterone metabolism in the cervix during Pregnancy and parturition.

J Clin Endocrinol Metab **2008**, 93: 2366-2374

Barnes PJ, Karin M

Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases.

N Engl J Med **1997**, 1336: 1066-1071

Bell RJ, Permezel M, MacLennan A et al

A randomized, double blind, placebo-controlled trial of the safety of vaginal recombinant human relaxin for cervical ripening

Obstet Gynecol **1993**, 82: 328-333

Berkowitz GS, Lapinski RH, Lockwood CJ, Florio P, Blackmore-Prince C et al.

Corticotropin-releasing factor and its binding protein: maternal serum levels in term and preterm deliveries

Am J Obstet Gynecol **1996**, 174: 1477-1483

Beutler B, Rietschel ET

Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin

Nat Rev Immunol **2003**, 3: 169-176

Bokstrom H, Brannstrom M, Alexandersson M, Norstrom A

Leukocyte subpopulations in the human uterine cervical stroma at early and term pregnancy

Hum Reprod **1997**, 12: 586-590

Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ

Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm

Endocr Rev **2000**, 21: 514-550

Chwalitz K, Hegele-Hartung C, Schulz R, Shi S-Q, Louton PT, Elger W

Progesterone control of cervical ripening-experimental studies with the progesterone antagonists onapristone, lilopristone and mifepristone

In: Leppert PC, Woessner Jr JF, eds. The extracellular matrix of the uterus, cervix, and fetal membranes, synthesis, degradation, and hormonal regulation. Ithaca, NY: Perinatology Press **1991**, 119-131

Chwalisz K

The use of progesterone antagonists for cervical ripening and as an adjunct to labour and delivery

Hum Reprod **1994**, 9(Suppl 1):131–161

Condon JC, Mendelson CR

Fetal macrophages, which contain elevated 20-hydroxysteroid dehydrogenase activity and invade the pregnant uterus near term, may contribute to the onset of labor by causing local progesterone withdrawal.

J Soc Gynecol Invest **2004**, 11:224A

Conneely OM

Perspective: female steroid hormone action

Endocrinology **2001**, 142: 2194-2198

Couse JF, Korach KS

Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us?

Endocr Rev **1999**, 20: 7134-7143

Csapo AL

Progesterone block.

Am J Anat **1956**, 98 : 273-291

Danforth DN

The morphology of the human cervix

Clin Obstet Gynecol **1983**, 26: 7-13

Ekman, G., H. Almström, L. Granstöm, A. Malmström, M. Norman, J. F. Woessner

Connective tissue in human cervical ripening

In: The extracellular matrix of the uterus, cervix and fetal membranes, hrsg. v. Leppert, P. C., J. F. Woessner. Perinatology Press, Ithaca New York **1991**

Elliott CL, Brennand JE, Calder AA

The effects of mifepristone on cervical ripening and labor induction in primigravidae

Obstet Gynecol **1998**, 92: 804-809

Evans RM

The steroid and thyroid hormone receptor superfamily

Science **1988**, 240: 889-95

Farina L, Winkelman C

A review of the role of proinflammatory cytokines in labor and noninfectious preterm labor

Biol Res Nurs **2005**, 6: 230-238

Florio P, Cobellis L, Woodman J, Severi FM, Linton EA, Petraglia F

Levels of maternal plasma corticotrophin –releasing factor and urocortin during labor

J Soc Gynecol Invest **2002**, 9: 233-237

Forman A, Ulmsten U, Wingerup L, Bányai J

Effects of intracervical PGE₂-gel on myometrial activity and cervical state in first trimester pregnancy

Prostaglandins **1982**, 24: 303-312

Frim DM, Emanouel RL, Robinson BG, Smas CM, Adler GK, Majzoub JA
Characterization and gestational regulation of corticotropin-releasing hormone messenger RNA in human placenta

J Clin Invest **1988**, 83: 287-292

Ganong, WF

Physiology of Reproduction

In: Current, Obstetric & Gynecologic, Diagnosis & Treatment, Martin L. Pernoll (Hrsg). Appleton&Lange, **1991**, 5: 136-138

Goland RS, Wardlaw SL, Blum M, Tropper PJ, Stark RI

Biologically active corticotropin-releasing hormone in maternal and fetal plasma during pregnancy

Am J Obstet Gynecol **1988**, 159: 884-890

Gordon AJ, Calder AA

Oestradiol applied locally to ripen the unfavourable cervix

Lancet **1977**, 2: 1319-1321

Granström L, Ekman G, Ulmsten U, Malmström A

Changes in the connective tissue of corpus and cervix uteri during ripening and labour in term pregnancy

Br J Obstet Gynaecol **1989**, 96: 1198-1202

Gronemeyer H

Control of transcription activation by steroid hormone receptors

FASEB J **1992**, 6: 2524-2529

Gustafsson JA

An update on estrogen receptors

Semin Perinatol **2000**, 24: 66-69

Hall JM, McDonald DP

The estrogen receptor B- isoform (ER β) of the human estrogen receptor modulates ER α transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens

Endocrinology **1999**, 140: 5566-5578

Hayden MS, Ghosh S

Signaling to NF-kappaB

Genes Dev **2004**, 18: 2195-2224

Hunt JS, Miller L, Platt JS

Hormonal regulation of uterine macrophages

Dev Immunol **1998**, 6: 105-110

Huszar G, Naftolin F

The myometrium and uterine cervix in normal and preterm labor

N Engl J Med **1984**, 311: 571-581

Ishida M, Choi JH, Hirabayashi K, Matsuwaki T, Suzuki M et al.

Reproductive phenotypes in mice with targeted disruption of the 20-hydroxysteroid dehydrogenase gene.

J Reprod Dev **2007**, 53: 499-508

Karteris E, Zervou S, Pang Y, Dong J, Hillhouse EW, Randeva HS, Thomas P.
Progesterone signaling in human myometrium through two novel membrane G
protein-coupled receptors: potential role in functional progesterone withdrawal
at term
Mol Endocrinol **2006**, 20: 1519-1534

Kaushic C, Frauendorf E, Rossoll RM, Richardson JM, Wira CR
Influence of the estrous cycle on the presence and distribution of immune cells
in the rat reproductive tract
Am J Reprod Immunol **1998**, 39: 209-216

Kayisli UA, Mahutte NG, Arici A
Uterine chemokines in reproductive physiology and pathology
Am J Reprod Immunol **2002**, 47: 213-221

Keirse MJ
New perspectives for the effective treatment of preterm labor
Am J Obstet Gynecol **1995**, 173: 618-628

Khan- Dawood FS, Dawood MJ
Estrogen and progesterone receptor levels in human myometrium and placenta
in term pregnancy
Am J Obstet Gynecol **1984**, 150: 501- 505

Kleissl HP, Van der Rest M, Naftolin F, Glorieux FH, De Leon A
Collagen changes in the human uterine cervix at parturition
Am J Obstet Gynecol **1978**, 130: 748-753

Koike S, Sakai M, Muramatsu M
Molecular cloning and characterization of rat estrogen receptor cDNA
Nucleic Acids Res **1987**, 15: 2499-2513

Krantz K

Anatomy of the female reproductive system

In: Current, Obstetric & Gynecologic, Diagnosis & Treatment, Martin L. Pernoll (Hrsg). Appleton&Lange **1991**, 2: 42-46

Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA

Cloning of a novel receptor expressed in a rat prostate and ovary

Proc Natl Acad Sci USA **1996**, 93: 5925-5930

Lee K, Jeong J, Tsai S, Lydon JP, DeMayo FJ

Molecular mechanisms involved in progesterone receptor regulation of uterine function

J Steroid Biochem Mol Biol **2006**, 102: 41-50

Leppert PC, Keller S, Cerreta J, Hosannah Y, Mandl I

The content of elastin in the uterine cervix

Arch Biochem Biophys **1983**, 222: 53-58

Leppert PC

Cervical softening, effacement and dilatation: A complex biochemical cascade

Journal of Maternal and Fetal Medicine **1992**, 1: 213-223

Leppert PC

Anatomy and physiology of cervical ripening

Clin Obstet Gynecol **1995**, 38: 267-279

Liapis A, Hassiakos D, Sarantakou A et al.

The role of steroid hormones in cervical ripening

Clin Exp Obstet Gynecol **1993**, 20: 163-166

Liggins GC

Cervical ripening as an inflammatory reaction

In Elwood, D. A., A. B. M. Andersson (Hrsg.): The cervix in pregnancy and labor: clinical and biochemical investigations

Churchill Livingstone, Edinburgh **1981**, 1-9

Liggins GC

Ripening of the cervix

Semin Perinatol **1978**, 2: 261-271

Linton EA, Perkins AV, Woods RJ, Eben F, Wolfe CDA, Behan DP et al.

Corticotropin releasing hormone binding protein (CRH-BP): plasma levels decrease during the third trimester of normal human pregnancy

J Clin Endocrinol Metab **1993**, 76: 260-262

Lockwood CJ, Kuczynski E

Markers of risk for preterm delivery

J Perinat Med **1998**, 27: 5-20

Luxton R, Patel P, Keir G, Thomson E

A micro-method for measuring total protein in cerebrospinal fluid by using benzethonium chloride in microtiter plate wells

Clin Chem **1989**, 35: 1731-1734

Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR et al.

Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities

Genes Dev **1995**, 9: 2266-2278

Mahendroo MS, Porter A, Russell DW, Word RA

The parturition defect in steroid 5-reductase type 1 knockout mice is due to impaired cervical ripening

Mol Endocrinol **1999**, 13: 981-992

Maillot v K, Stuhlsatz HW , Gentsch HH

Connective tissue changes in the human cervix in pregnancy and labour

In: Ellwood, D. A., A. B. M. Anderson (Hrsg.): The cervix in pregnancy and labour. Churghill Livingstone. Edinburgh-London-Melbourne-New York **1981**, 123

Majzoub JA, Karalis KP

Placental corticotrophin-releasing hormone: Function and regulation

Am J Obstet Gynecol **1999**, 180: 242-246

Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, Herrlich P, Schutz G et al.

The nuclear receptor superfamily: the second decade

Cell **1995**, 83: 835-839

Mendelson CR

Fetal-Maternal Hormonal Signaling in Pregnancy and Labor

Mol Endocrinol **2009**, 23: 947-954

Mercer BM, Goldenberg RL, Das A, Moawad AH, Iams JD, Meis PJ et al.

The preterm prediction study: a clinical risk assessment system

Am J Obstet Gynecol **1996**, 174: 1885-1895

Mesiano S, Welsh TN

Steroid hormone control of myometrial contractility and parturition

Semin Cell Dev Biol **2007**, 18: 321-331

Mesiano S, Chan EC, Fitter JT, Kwek K, Yeo G, Smith R

Progesterone withdrawal and estrogen activation in human parturition are coordinated by progesterone receptor A expression in the myometrium

J Clin Endocrinol Metab **2002**, 87: 2924-2930

Moore J, McKee DD, Slentz-Kesler K, Moore LB, Jones SA, Horne EL et al.
Cloning and characterization of human estrogen receptor beta isoforms
Biochem Biophys Res Commun **1998**, 247: 75-78

Mulac-Jericevic B, Mullinax RA, DeMayo FJ, Lydon JP, Conneely OM
Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform
Science **2000**, 289: 1751-1754

Müller JM, Ziegler-Heitbrock HW, Baeuerle PA
Nuclear factor kappa B, a mediator of lipopolysaccharide effects
Immunobiology **1993**, 187: 233-256

Murdoch FE, Gorski J
The role of ligand in estrogen receptor regulation of gene expression
Mol Cell Endocrinol, **1991**, 78: 103-108

Osmer R., Rath W, Adelman-Grill BC et al.
Origin of cervical collagenase during parturition
Am J Obstet Gynecol **1992**, 166: 1455-1460

Osmer R, Tschesche H, Rath W, Szeverényi M, Süwer V, Wölker I, Kuhn W.
Serum collagenase levels during pregnancy and parturition
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol **1994**, 53: 55-57

Padayachi T, Pegoraro RJ, Hofmeyr J, Joubert SM, Norman RJ
Decreases concentrations and affinities of oestrogen and progesterone receptors of intrauterine tissues in human pregnancy
J Steroid Biochem **1987**, 26: 473-479

Padayachi T, Pegoraro RJ, Rom L, Joubert SM

Enzyme immunoassay of oestrogen and progesterone receptors in uterine and intrauterine tissue during human pregnancy and labour
J Steroid Biochem Mol Biol **1990**, 37: 509-511

Parker MG

Structure and funktion of estrogene receptors
Vitam horm **1995**, 51: 267-287

Pieber D, Allport VC, Hills F, Johnson M, Bennett PR

Interactions between progesterone receptor isoforms in myometrial cells in human labour
Mol Hum Reprod **2001**, 7: 875-879

Piekorz RP, Gingras S, Hoffmeyer A, Ihle JN, Weinstein Y

Regulation of progesterone levels during pregnancy and parturition by signal transducer and activator of transcription 5 and 20aldo-keto reductase family-hydroxysteroid dehydrogenase
Mol Endocrinol **2005**, 19: 431-440

Rajabi M, Solomon S, Poole AR

Hormonal regulation of intestinal collagenase in the uterine cervix of the pregnant guinea pig
Endocrinology **1991a**, 128: 863-871

Rajabi MR, Dodge GR, Solomon S, Poole AR

Immunochemical and immunohistochemical evidence of estrogene-mediated collagenolysis as a mechanism of cervical dilatation in the guinea pig at parturition
Endocrinology **1991b**, 128: 371-378

Rath W, Osmer R, Adelman-Grill BC, Stuhlsatz HW et al

Grundlagen der physiologischen und medikamentös induzierten Zervixreifung –
Neuere morphologische und biochemisch Befunde
Geburtshilfe Frauenheilkd **1990**, 50: 657-664

Rath W, Osmers R, Stuhlsatz HW, Adelman-Grill BC
Biochemische Grundlagen der Zervixreifung und Muttermundseröffnung
Z Geburtsh Perinatol **1994**, 198: 186-195

Rath W, Bartz C
Biochemie der Zervixreifung und Muttermundseröffnung
Gynäkologe **2004**, 37: 314–320

Rechberger T, Uldbjerg N, Oxlund H
Connective tissue changes in the cervix during normal pregnancy and
pregnancy complicated by cervical incompetence
Obstet Gynecol **1988**, 71: 563-567

Rezapour M, Bäckström T, Lindblom B, Ulmsten U
Sex steroid receptors and human parturition
Obstet Gynecol **1997**, 89: 918-924

Ribeiro RC, Kushner PJ, Baxter JD
The nuclear hormone receptor gene superfamily
Annu Rev Med **1995**, 46: 443-453

Riley SC, Walton JC, Herlick JM, Challis JR
The localization and distribution of corticotropin-releasing hormone in the
human placenta and fetal membranes throughout gestation
J Clin Endocrinol Metab **1991**, 72: 1001-1007

Robertson SA, Mayerhofer G, Semark RF

Ovarian steroid hormones regulate granulocyte-macrophage colony-stimulating factor synthesis by uterine epithelial cells in the mouse
Biol Reprod **1996**, 54: 421-430

Salvemini D, Seibert K, Masferrer JL, Settle SL, Misko TP et al
Nitric oxide and the cyclooxygenase pathway
Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res **1995**, 23: 491-493

Schwahn H, Dubrausky W
The structure of the musculature of human uterus muscles and connective tissue
Am J Obstet Gynecol **1966**, 94: 391-404

Sennström MB, Ekman G, Westergren-Thorsson G et al
Human cervical ripening, an inflammatory process mediated by cytokines
Mol Hum Reprod **2000**, 6: 375-381

Slattery MM, Morrison JJ
Preterm delivery Lacet **2002**, 360: 1489-1497

Stenlund PM, Ekman G, Aedo AR, Bygdeman M
Induction of labor with mifepristone: a randomized, double-blind study versus placebo
Acta Obstet Gynecol Scand **1999**, 78: 793-798

Stjernholm Y, Sahlin L, Akerberg S et al
Cervical ripening in humans: potential roles of estrogen, progesterone, and insulin-like growth factor-1
Am J Obset Gynecol **1996**, 174: 1065-1071

Stjernholm Y, Sahlin L, Malmström A et al

Potential roles for gonadal steroids and insulin-like growth factor I during final cervical ripening

Obstet Gynecol **1997**, 90: 375-380

Sukovich DA, Mukberjee R, Benfield PA

A novel, cell-type-specific mechanisms for estrogen receptor-mediated gene activation in the absence of an estrogen-responsive element

Mol Cell Biol **1994**, 14: 7134-7143

Takahashi K, Ikeno N, Hoshiai H, Suzuki M

The effect of dehydroepiandrosterone sulfate on serum steroid concentration in singleton and twin pregnancies and its effect on cervical canal-ripening in singleton pregnancies

Tohoku J Exp Med **1984**, 142: 289-298

Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, Steward CJ, Cameron IT et al
Leucocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process

Hum Reprod **1999**, 14: 229-236

Törnblom SA, Klimaviciute A, Bystroem B, Chomek M, Brauner A et al

Non-infected preterm parturition is related to increased concentrations of IL-6, IL-8, and MCP-1 in human cervix

Reprod Biol and Endocr **2005**, 3: 39

Torricelli M, Giovannelli A, Leucci E, De Falco G, Reis FM, Imperatore A et al
Labor (term and preterm) is associated with changes in the placental mRNA expression of corticotropin-releasing factor

Reprod Sci **2007**, 14: 241-245

Tsai MJ, O'Malley BW

Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members

Annu Rev Biochem **1994**, 63: 451-486

Uldbjerg N et al

Isolation and characterization of dermatan sulphate proteoglycan from human uterine cervix

Biochem J **1983**, 209: 497

Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J

Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin

Science **1981**, 213: 1394-1397

Vegeto E, Shahbaz MM, Wen DX, Goldman ME, O'Malley BW, McDonald DP
Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function

Mol Endocrinol **1993**, 7: 1244-1255

Walsh SW, Stanczyk FZ, Novy MJ

Daily hormonal changes in the maternal, fetal, and amniotic fluid compartments before parturition in a primate species

J Clin Endocrinol Metab **1984**, 58: 629-639

Wang H, Eriksson H, Sahlin L

Estrogen receptors a and b in the female reproductive tract of the rat during the estrous cycle

Biol Reprod **2000**, 63: 1331-1340

Wang H., Stjernholm Y, Ekman G, Eriksson H, Sahlin L

Different regulation of oestrogen receptors a and b in the human cervix at term pregnancy

Mol Hum Reprod **2001**, 7: 293-300

Warner M, Nilsson S, Gustafsson JA

The estrogen receptor family

Curr Opin Obstet Gynecol **1999**, 11: 249-254

Warren WB, Goland RS

Effects of parturition on corticotropin releasing hormone and products of the pituitary and adrenal in term fetuses at delivery

J Perinat Med **1995**, 23: 453-458

Wei LL, Gonzalez-Aller C, Wood WM, Miller LA, Horwitz KB

5'-Heterogeneity in human progesterone receptor transcripts predicts a new amino-terminal truncated "C"-receptor and unique A-receptor messages

Mol Endocrinol **1990**, 4: 1833-1840

Wei LL, Hawkins P, Baker C, Norris B, Sheridan PL, Quinn PG

An amino-terminal truncated progesterone receptor isoform, PRc, enhances progestin-induced transcriptional activity

Mol Endocrinol **1996**, 10: 1379-1387

Wei LL, Norris BM, Baker CJ

An N-terminally truncated third progesterone receptor protein, PRC, forms heterodimers with PRB but interferes in PRB-DNA binding

J Steroid Biochem Mol Biol **1997**, 62: 287-297

Weigel NL, Zhang Y

Ligand- independent activation of steroid hormone receptors

J Mol Med **1998**, 76: 469-479

Weihua Z, Saji S, Mäkinen S et al

Estrogen receptor (ER b), a modulator of ER a in the uterus

Proc Natl Acad Sci USA **2000**, 97: 5936-5941

Weihua Z, Andersson S, Cheng G, Simpson ER, Warner M, Gustafsson JA

Update on estrogen signalling

FEBS Lett **2003**, 546: 17-24

Williams JK, Lewis ML, Cohen GR et al

The sequential use of estradiol and prostaglandin E₂ topical gels for cervical ripening in high-risk term pregnancies requiring induction of labor

Am J Obstet Gynecol **1988**, 158: 55-58

Winkler M, Rath W

Zur Rolle von Zytokinen bei Weheninduktion, Zervixreifung und Blasensprung

Z Geburtsh Neonatol **1996**, 200: 1-12

Winkler M., Biesterfeld S., Marquet L., Heindrichs U., Rath W

Zur Häufigkeit entzündlicher Plazentaveränderungen bei drohender Frühgeburt mit und ohne antibiotische Zusatztherapie

Zentralbl Gynakol **1997**, 119: 54-59

Winkler M, Fischer DC, Ruck P, Horny HP, Kemp B, Rath W

Cytokine concentrations and expression of adhesion molecules in the lower uterine segment during parturition at term: relation to cervical dilatation and duration of labor

Z Geburtshilfe Neonatol **1998a**, 202: 172-175

Winkler M, Fischer DC, Hlubek M, Van de Leur E, Haubeck HD, Rath W

Interleukin-1 β and interleukin-8 concentrations in the lower uterine segment during parturition at term

Obstet Gynecol **1998b**, 91: 945-949

Winkler M, Rath W

Changes in the cervical extracellular matrix during pregnancy and parturition
J Perinat Med **1999**; 27: 45-60

Winkler M, Fischer DC, Ruck P, Marx T, Kaiserling E, Oberpichler A et al.
Parturition at term: parallel increases in interleukin-8 and proteinase
concentrations and neutrophil count in the lower uterine segment
Hum Reprod **1999**, 14: 1096-1100

Winkler M, Rath W, Fisher DC et al
Regulation of Interleukin-8 synthesis in human lower uterine segment
fibroblasts by cytokines and growth factors
Obstet Gynecol **2000**, 95: 584-588

Winkler M, Rath W
Zervixreifung und Muttermundseröffnung
Gynäkologe **2001**, 34: 510-520

Winkler M, Kemp B., Classen-Linke I, Fischer DC, Zlatintsi S, Neulen J et al.
Estrogen Receptor α and Progesterone Receptor A and B concentration and
localization in the lower uterine segment in term parturition
J Soc Gynecol Investig **2002**, 9: 226-32

Winn RJ, O'Day-Bowman MB, Sherwood OD
Hormonal control of the cervix in pregnant gilts. IV. Relaxin promotes changes
in the histological characteristics of the cervix that are associated with cervical
softening during late pregnancy in gilts
Endocrinology **1993**, 133: 121-128

Wiqvist J
Influence of hormones on uterine and cervical connective tissue of pregnant
women
University of Göteborg Press **1986**, 413

Woods RJ, Grossman A, Saphier P, Kennedy K, Ur E, Behan D, Potter E et al.
Association of human corticotropin-releasing hormone to its binding protein in
blood may trigger clearance of the complex

J Clin Endocrinol Metab **1994**, 78:73-76

Word RA, Li XH, Hnat M, Carrick K

Dynamics of cervical remodeling during pregnancy and parturition: mechanisms
and current concepts

Semin Reprod Med **2007**, 25:69-79

Yoshida K, Tahara R, Nakayama T et al.

Effect of dehydroepiandrosterone sulphate, oestrogens and prostaglandins on
collagen metabolism in human cervical tissue in relation to cervical ripening

J Int Med Res **1993**, 21: 26-35

Yoshida M, Sagawa N, Itoh H, Yura S, Korita D, Kakui K, Hirota N et al.

Nitric oxide increases matrix metalloproteinase-1 production in human uterine
cervical fibroblast cells

Mol Hum Reprod **2001**, 7: 979-985

Yu SY, Leppert PC

The collagenous tissues of the cervix during pregnancy and delivery

In: The extracellular matrix of the uterus, cervix and fetal membranes, hrsg. v.

Leppert, P. C., J. F. Woessner

Perinatology Press, Ithaca New York **1991**

Zuidema LJ, Khan-Dawood F, Dawood MY et al.

Hormones and cervical ripening: dehydroepiandrosterone sulphate, estradiol,
estriol, and progesterone

Am J Obstet Gynecol **1986**, 155: 1252-1254

8. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. W. Rath, Prof. der Gynäkologie und Geburtshilfe, Universitätsklinikum der RWTH Aachen, danke ich für die Überlassung des interessanten Themas und die Förderung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. M. Winkler für die Betreuung, Einarbeitung, Ratschläge und Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Den Mitarbeitern der Frauenklinik danke ich für ihre Kooperation bei der Sammlung der Proben und Herrn Dipl.-Math. Thorsten Reineke für die Durchführung der statistischen Untersuchungen.

Zum Schluss, aber dafür umso mehr, möchte ich meinen Eltern Garifallia und Stilianos Zlatintsis danken, dass sie mir dieses Studium ermöglichten und mir in jeder Lebenslage zur Seite stehen.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Ehemann Panagiotis Chovardas und meinen Kindern Theodosios und Stelios für ihre geduldige Unterstützung und unablässige Motivation.

9. Erklärung zur Datenaufbewahrung

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Originaldaten bei Professor Dr. Matthias Winkler, Chefarzt der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Kreibkrankenhaus Mechernich GmbH, St. Elisabeth-Str. 2-6, 53894 Mechernich, hinterlegt sind.