

**Intrauterine Wachstumsrestriktion und Präeklampsie:
Kein Hinweis auf Aktivierung der plazentaren
Stressreaktion des endoplasmatischen Retikulums in zwei
Nagetiermodellen**

**No evidence of the unfolded protein response in the placenta of two rodent
models of preeclampsia and intrauterine growth restriction**

*Kinder- und Jugendklinik des Universitätsklinikums Erlangen
Arbeitsgemeinschaft Prof. Dr. rer. nat. A. Hartner / PD Dr. med. F.B. Fahlbusch*

Der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades Dr. med.
vorgelegt von
Barbara Denkl

**Als Dissertation genehmigt von der
Medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg**

Vorsitzender des Promotionsorgans: Prof. Dr. Markus F. Neurath

Gutachter: PD Dr. Fabian Fahlbusch

Gutachterin: Prof. Dr. Andrea Hartner

Gutachter: Prof. Dr. Matthias Beckmann

Gutachter: Prof. Dr. Udo Markert

Tag der mündlichen Prüfung: 22. November 2022

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	1
1.1	Englische Version.....	1
1.2	Deutsche Version.....	3
2	Einordnung der Publikationsdissertation in den wissenschaftlichen Kontext.....	5
2.1	Die Plazenta.....	5
2.1.1	Physiologische Entwicklung der humanen Plazenta.....	5
2.1.2	Maus und Ratte als Tiermodelle humaner feto-plazentarer Entwicklung.....	7
2.2	Intrauterine Wachstumsrestriktion (IUGR), Präeklampsie (PE) und Fetale Programmierung.....	8
2.3	Unfolded Protein Response (UPR).....	11
2.3.1	Endoplasmatisches Retikulum (ER): Struktur und Funktion.....	11
2.3.2	ER-Stress.....	11
2.4	ER-Stress und oxidativer Stress: Ein Circulus vitiosus?.....	16
2.5	ER-Stress in der physiologischen Plazentation.....	17
2.6	ER-Stress und Oxidativer Stress in der humanen Pathophysiologie der IUGR und PE.....	18
2.6.1	IUGR und PE: Plazentarer Vergleich der ER-Stressantwort und des oxidativen Stresses.....	21
2.7	Tiermodelle.....	23
2.7.1	IUGR der Ratte: Maternale Proteinrestriktion während der Gestation.....	23
2.7.2	PE/IUGR der Maus: Knockout der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase.....	24
3	Zielsetzung der Arbeit.....	25
4	Originalpublikation.....	26
5	Limitationen der Studie von Denkl et al.....	27
5.1	Auswahl eines geeigneten Tiermodells.....	27
5.2	Plazentare UPR: Einteilung funktionelle Kompartimente?.....	28
6	Ausblick: Potenzielle diagnostische und therapeutische Optionen bei ER-Stress assoziierten Plazentopathologien?.....	29
7	Literaturverzeichnis.....	30
8	Abkürzungsverzeichnis.....	38
9	Danksagung.....	40

1 Zusammenfassung

1.1 Englische Version (adapted from Denk et al. [1])

Objectives: The pregnancy complications preeclampsia (PE) and intrauterine growth restriction (IUGR) are among the leading causes of fetal and maternal morbidity and mortality. While both conditions share some pathophysiological features leading to placental dysfunction, the exact underlying pathomechanisms remain largely unclear. Therefore, only limited therapeutic options for PE and IUGR exist. In humans, PE/IUGR are associated with induction of the unfolded protein response (UPR). The UPR is a stress response of the endoplasmic reticulum (ER) consisting of several signalling cascades to adapt to altered homeostatic conditions. Especially in PE, additional oxidative stress occurs relative to the severity of maternal vascular underperfusion of the placental bed. On the premise that understanding the mechanisms of placental dysfunction could lead to targeted therapeutic options for human PE/IUGR, the present doctoral thesis investigated the roles of placental UPR and oxidative stress in two rodent models of these human gestational pathologies.

Study design & Methods: The following animal models were employed: 1) A PE and IUGR mouse model (PE/IUGR) with gene knockout of endothelial nitric oxide synthase (eNOS^{-/-}) in which wild type (WT) C57BL/6 mice served as controls; 2) An established IUGR rat model of maternal protein restriction in which pregnant dams were fed a low protein diet (8 % protein content, LP, IUGR group) or standard diet (17 % protein content, NP, control group). Placental samples of both models were obtained at E18.5 and additionally at an earlier gestational stage (E15) in the mouse model. While placental tissues of both sexes were examined in the rat model, only placentas of male fetuses were accessible for analysis in the mouse. Placental expression of UPR members (*Grp78*, *Calnexin*, *Perk*, *Chop*, *Atf6*, *Ern1*) was analyzed via real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and western blotting (Calnexin, ATF6, GRP78, CHOP, phospho-eIF2 α , phospho-IRE1). Immunohistochemistry (IHC) was performed to characterize the localization of these ER stress markers in functional compartments of healthy placenta and their potential alteration in association with PE and IUGR. The presence of oxidative stress was determined via western blot measurement of placental 3-nitrotyrosine in both animal models. In PE/IUGR eNOS^{-/-}-mice, 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) was additionally determined.

Observations & Results: The offspring of both animal models showed a significant induction of IUGR characterized by a significant reduction of fetal and placental weight. However, in contrast to human data placental activation of the UPR signaling cascades could not be detected. IHC showed no alteration in the localization of UPR signalling proteins under adverse

intrauterine conditions in both models. Placental oxidative stress was significantly increased in female IUGR rats only. No such change was found in the placentas of male IUGR rats and PE/IUGR mice.

Conclusions: In contrast to findings of increased placental ER stress in human PE and IUGR, the results of the rodent PE/IUGR and IUGR models did not demonstrate a significant increase in placental UPR. Therefore, it can be assumed that the placenta retains compensatory capacity, enabling the adaptation to the adverse gestational conditions in these rodent models. The exact mechanisms underlying this placental plasticity remain to be further elucidated. The induction of oxidative stress without concomitant UPR activation in the placenta of the female IUGR rats further supports this hypothesis and indicates a sexually dimorphic response to maternal malnutrition. Based on the absence of placental UPR in consideration of retained placental plasticity, the examined rodent models seem to be of limited use for studies regarding the role of placental ER stress in human gestational disorders.

1.2 Deutsche Version (modifiziert aus Denkl et al. [1])

Hintergrund und Ziele: Die beiden Schwangerschaftskomplikationen Präeklampsie (PE) und intrauterine Wachstumsrestriktion (IUGR) zählen zu den führenden Ursachen für fetale und maternale Morbidität und Mortalität. Bei beiden Pathologien nimmt die plazentare Dysfunktion eine zentrale Stellung in der Pathophysiologie ein, jedoch sind die Details der zugrunde liegenden Pathomechanismen noch weitgehend unbekannt. Infolgedessen existiert bislang nur ein limitiertes Spektrum an Therapieoptionen für PE und IUGR. Verschiedene humane Studien suggerieren einen Zusammenhang zwischen PE/IUGR und der Induktion der plazentaren Unfolded Protein Reponse (UPR). Bei der UPR handelt es sich um eine Stressreaktion des endoplasmatischen Retikulums (ER) auf veränderte homöostatische Bedingungen in der Zelle, die sich aus mehreren überlappenden Signalkaskaden zusammensetzt. Insbesondere bei der PE kommt es in Abhängigkeit vom Schweregrad der maternalen vaskulären Malperfusion des Plazentabettes neben der ER-Stressantwort zu zusätzlichem oxidativem Stress. Die Identifizierung zugrunde liegender Pathomechanismen der plazentaren Dysfunktion bei PE/IUGR könnte langfristig zur Etablierung von Präventions- und/oder Interventionsmöglichkeiten führen, weswegen in dieser Publikationsdissertation die Rolle der UPR und des oxidativen Stresses in den Plazenten von zwei Nagetiermodellen dieser Schwangerschaftspathologien analysiert wird.

Methoden: Die folgenden Tiermodelle kamen zum Einsatz: 1) Ein PE und IUGR-Mausmodell (PE/IUGR) mit einem Genknockout der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS^{-/-}), wobei Wildtyp (WT) C57BL/6 Mäuse als Kontrollen dienten. 2) Ein etabliertes IUGR-Rattenmodell der maternalen Proteinrestriktion, bei dem trächtigen Muttertieren eine Niedrigproteindiät (8 % Proteingehalt, LP, IUGR-Gruppe) oder Standardfutter (17 % Proteingehalt, NP, Kontrollgruppe) zugeführt wurde. Plazentaprobe beider Modelle wurden am Gestationstag E18.5 gewonnen und zusätzlich an einem früheren Gestationstag (E15) im Mausmodell. Während im Rattenmodell Plazentagewebe beider Geschlechter untersucht wurde, waren im Mausmodell nur Plazenten männlicher Feten für die Analyse zugänglich. Die plazentare Expression von ER-Stressmarkern (*Grp78*, *Calnexin*, *Perk*, *Chop*, *Atf6*, *Ern1*) wurde mittels Real-Time Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) und Western Blot (*Calnexin*, *ATF6*, *GRP78*, *CHOP*, phospho-eIF2 α , phospho-IRE1) analysiert. Die Immunhistochemie (IHC) wurde genutzt, um die Lokalisierung dieser ER-Stressmarker in den funktionellen Kompartimenten der gesunden Plazenta sowie deren potenzielle Alteration im Zusammenhang mit PE und IUGR zu charakterisieren. Oxidativer Stress wurde durch Western Blot Messungen von plazentarem 3-Nitrotyrosin im IUGR-Rattenmodell sowie zusätzlich von 4-Hydroxy-2-nonenal (HNE) im PE/IUGR eNOS-Knockout-Mausmodell bestimmt.

Ergebnisse und Beobachtungen: Die Nachkommen beider Tiermodelle zeigten eine signifikante Induktion einer IUGR, die durch eine signifikante Reduktion des fetalen und plazentaren Gewichts gekennzeichnet war. Im Gegensatz zur humanen Datenlage konnte jedoch keine plazentare Aktivierung der UPR-Signalkaskaden nachgewiesen werden. Die IHC zeigte keine Veränderung in der Lokalisation der UPR-Signalproteine unter den ungünstigen intrauterinen Bedingungen in beiden Modellen. Eine signifikante Erhöhung des plazentaren oxidativen Stresses zeigte sich nur bei weiblichen IUGR-Ratten, wohingegen kein Anstieg in den Plazenten von männlichen IUGR-Ratten und PE/IUGR-Mäusen gemessen wurde.

Schlussfolgerungen: Im Gegensatz zu den Beobachtungen einer erhöhten ER-Stressantwort bei humaner PE und IUGR, zeigten die untersuchten Nagetiermodelle keine signifikante Erhöhung der plazentaren UPR-Aktivierung. Daraus lässt sich folgern, dass die Plazenta über eine kompensatorische Kapazität verfügt, welche die Anpassung an die veränderten Gestationsbedingungen in diesen Nagetiermodellen ermöglicht. Die genauen Mechanismen, die dieser plazentaren Plastizität zugrunde liegen, bedürfen jedoch noch weiterer Aufklärung. Das erhöhte oxidative Stresslevel ohne eine begleitende UPR-Aktivierung in der Plazenta der weiblichen IUGR-Ratten untermauert diese Hypothese und deutet auf eine geschlechtsspezifische plazentare Reaktion auf maternale Malnutrition hin. Aufgrund des fehlenden Nachweises einer UPR-Aktivierung in Anbetracht der erhaltenen plazentaren Plastizität, scheinen die untersuchten Nagetiermodelle von begrenztem Nutzen für weitere Untersuchungen der Rolle des plazentaren ER-Stresses bei humanen Schwangerschaftskomplikationen zu sein.

2 Einordnung der Publikationsdissertation in den wissenschaftlichen Kontext

Bei der vorliegenden Dissertationsarbeit handelt es sich um eine Publikationsdissertation gemäß der Promotionsordnung § 10 vom 06. November 2020 der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Gemäß der Satzung werden im Folgenden ausschließlich wissenschaftliche Rahmeninformationen zur Originalpublikation (siehe Abschnitt 4) mit dem Titel „No evidence of the unfolded protein response in the placenta of two rodent models of preeclampsia and intrauterine growth restriction“, von Denkl et al., erschienen im Journal Biology of Reproduction Vol. 105(2), 2021, Seite 449-463 doi: 10.1093/biolre/ioab087, Oxford Academic Publishing, dargestellt [1].

Biology of Reproduction (BOR) ist das offizielle Journal der Society for the Study of Reproduction. Die Ergebnisse der durchgeführten Versuche und deren Diskussion sowie die detaillierte Methodik sind der angegebenen Originalpublikation zu entnehmen.

2.1 Die Plazenta

2.1.1 Physiologische Entwicklung der humanen Plazenta

Als größtes fetales Organ stellt die Plazenta eine essenzielle Austauschfläche für Sauerstoff und Nährstoffe zwischen Mutter und Fetus während der Schwangerschaft dar [2, 3]. Diese kontinuierliche plazentare Versorgung ist die Voraussetzung für eine ungestörte Embryogenese [2] und das sich anschließende intrauterine Wachstum [4]. Die Entwicklung der Plazenta beginnt ungefähr 6-7 Tage nach der Befruchtung mit dem Anheften der Blastozyste am Endometrium [5]. Die Blastozyste wird von einer äußeren Zellschicht, dem Trophoblasten, umgeben, aus dem die Plazenta entsteht, während sich aus der inneren Zellmasse, als Embryoblast bezeichnet, der Embryo entwickelt [4, 6].

Im Anschluss an die Adhäsion der Blastozyste folgt die Differenzierung des Trophoblasten in den außen liegenden Synzytiotrophoblasten sowie den darunterliegenden Zytotrophoblasten. Hierbei bildet der mitotisch aktive Zytotrophoblast kontinuierlich neue Zellen für den mehrkernigen Synzytiotrophoblasten, welcher zunehmend mütterliche Drüsen und Blutgefäße der auf die Schwangerschaft spezialisierte Gebärmutterschleimhaut (sog. Dezidua [7]) erodiert. Innerhalb des Synzytiotrophoblasten entstehen so einzelne mit mütterlichem Blut gefüllte Lakunen, die im weiteren Verlauf zu einem Netzwerk fusionieren und durch einzelne synzytiale Trabekel voneinander getrennt werden [3, 6]. Zu den primären Funktionen des Synzytiotrophoblasten zählen folglich der Austausch von Nährstoffen, die Entsorgung von Abfallprodukten, aber auch die Hormonsynthese und -sekretion wie beispielsweise die des

humanen Choriongonadotropins (hCG) [5]. Der direkte Kontakt des Synzytiotrophoblasten mit dem mütterlichen Blut ist ausschlaggebend dafür, dass der Aufbau der humanen Plazenta, ähnlich dem der Ratte und der Maus, als hämochorial bezeichnet wird [6]. Die Proliferation des Zytotrophoblasten führt zur Ausbildung von zellulären Fortsätzen, die eine Vorwölbung des Synzytiotrophoblasten in die Lakunen bedingt und damit das Stadium der primären Chorionzottenbildung markiert [6]. Durch Einwanderung von Mesodermzellen des Chorions erfolgt die Weiterentwicklung zu sekundären Chorionzotten. Die Vaskularisierung der Plazenta und damit die Bildung von Tertiärzotten wird durch eine lokale *de-novo* Bildung von kleinen Blutgefäßen aus diesen mesenchymalen Vorläuferzellen erreicht, welche die Grundlage für einen fetoplazentaren Kreislauf bilden. Zwischen den Chorionzotten erstreckt sich der intervillöse Raum, der aus dem lakunären Netzwerk des Synzytiotrophoblasten hervorgegangen ist [6, 8]. Diese Grundstrukturen der endgültigen Plazenta bilden sich etwa in der vierten Schwangerschaftswoche (sog. histiotrophe fetale Versorgung [4]), wohingegen sich die mütterliche Blutversorgung der Plazenta erst um die zehnte bis zwölfte Schwangerschaftswoche etabliert [6].

Die kontinuierliche Perfusion des intervillösen Raums mit mütterlichem Blut wird durch den Umbau der Spiralarterien über die Invasion des extravillösen Trophoblasten (EVT) ermöglicht [2]: Im Bereich der Haftzotten, die für eine Verankerung der Plazenta im maternalen Gewebe sorgen, kommen Trophoblastenzellen in direkten Kontakt mit der Dezidua und differenzieren zu einem extravillösen invasiven Phänotyp. Durch die Fähigkeit zum Abbau extrazellulärer Matrixproteine durchwandern interstitielle EVTs das deziduale Stroma zwischen den mütterlichen Spiralarterien und treten immunmodulierend mit maternalen Immunzellen in Kontakt, während sich endovaskuläre EVTs in das Lumen der Spiralarterien migrieren [3, 5, 9]. Dabei kommt es zum Verlust von Endothel sowie glatten Muskelzellen der Media, welche funktionell durch EVTs ersetzt werden. Hierdurch wird die Umwandlung der kontraktiven Spiralarterien zu dehnbaren, schlaffen, dünnwandigen Niedrigwiderstandsgefäßen gewährleistet [10], die keiner vasomotorischen Kontrolle mehr unterliegen. Das arterielle Remodelling resultiert in einer verbesserten uteroplazentaren Perfusion, sowie einem reduzierten Gefäßwiderstand der Spiralarterien, mit dem Ziel eine kontinuierliche und adäquate Blutversorgung des Fetus, unabhängig von der maternalen Regulation der Blutdistribution sicherzustellen [5, 11, 12].

2.1.2 Maus und Ratte als Tiermodelle humaner fetoplazentarer Entwicklung

Die hämochoriale Plazentation, als invasivste Form der Plazentation, zeichnet sich durch den direkten Kontakt von Trophoblastenzellen mit mütterlichem Blut aus. Sie findet sich nicht nur beim Menschen, sondern auch bei den meisten Nagetieren wie Ratte und Maus [5, 13]. Ähnlich wie beim Menschen dringen die Trophoblasten der Ratte tief in die Dezidua ein und sorgen dort für den Umbau der uterinen Spiralarterien, wohingegen bei der Maus nur eine vergleichsweise oberflächliche Trophoblasteninvasion mit einer limitierten endovaskulären Invasion der Spiralarterien beobachtet wird [5, 13, 14]. Insbesondere aufgrund dieser Gemeinsamkeit mit der humanen Plazenta haben sich Ratte und Maus als Tiermodelle humaner fetoplazentarer Entwicklung etabliert [14, 15].

Jedoch umfasst die Plazentation bei Nagetieren die Entwicklung von physiologisch und anatomisch charakteristischen Kompartimenten, welche sich komparativ beim Menschen nur in funktioneller Analogie wiederfinden: Zum einen das Labyrinth, das sowohl mütterliche als auch fetale Gefäße enthält und den Ort des Gasaustausches darstellt. Dieses entspricht beim Menschen dem fetalen Anteil der Plazenta, der die Chorionzotten sowie den intervillösen Raum beinhaltet [5, 16]. Entgegen dem einschichtigen humanen Synzytium grenzt bei Mäusen und Ratten an dieser Schnittstelle des feto-maternalen Austauschs ein dreischichtiger Synzytiotrophoblast an das Endothel der fetalen Kapillaren [16].

Die zweite Region, die junktionale Zone, befindet sich zwischen dem Labyrinth und dem uterinen Dezidualgewebe. Sie bildet das anatomische Korrelat zur Basalplatte in der humanen Plazenta. Die Junktionalzone wird auch als basale Zone, Trophospongium oder Spongiotrophoblast bezeichnet. Innerhalb der Zone differenzieren sich vier verschiedene Zelllinien aus Trophoblastenvorläuferzellen: Trophoblastäre Riesenzellen (ähnlich humanen EVT's), Spongiotrophoblasten, Glykogenzellen sowie invasive Trophoblasten [13, 14, 16]. Analog zu den humanen extravillösen Zytotrophoblastenzellen weisen Riesenzellen von Nagetieren eine charakteristische invasive Aktivität auf und vermitteln die fetale Implantation sowie Uterusinvasion. Zudem üben sie wichtige endokrine Funktionen aus, eine Eigenschaft, die in der humanen Plazenta dem Synzytiotrophoblasten zugeschrieben wird [5, 13, 17]. Als Hauptgerüst der Junktionalzone tragen die Spongiotrophoblasten ebenfalls zur endokrinen Funktion der Plazenta bei, sind aber vermutlich auch an der Entwicklung der Labyrinthzone beteiligt [5, 13]. Eingebettet in die Spongiotrophoblasten finden sich Glykogenzellen, welche ein potenzielles Energiereservoir darstellen und am Remodelling uteriner Spiralarterien beteiligt sind [5, 18]. Neben den Glykogenzellen wird vor allem den invasiven Trophoblasten der Junktionszone eine Schlüsselrolle beim Umbau der Spiralarterien zugeschrieben: Ähnlich der Trophoblasteninvasion in der humanen Plazenta ersetzt der invasive endovaskuläre Trophoblast das maternale Endothel, während der invasive interstitielle Trophoblast den Raum

zwischen den Blutgefäßen einnimmt [19]. Die definitive Struktur der murinen sowie der humanen Plazenta wird als diskoid bezeichnet, mit einer flachen, dem Fetus zugewandten Seite und einer unregelmäßigen, an die Uteruswand angrenzenden Seite [5, 16].

Die zottenförmige humane Plazenta ist durch zahlreiche Verzweigungen der Chorionzotten gekennzeichnet, die zu einem baumartigen Muster sowie einer intensiveren Verzahnung führen. Dem gegenüber steht das weniger verzweigte placentare Labyrinth bei Nagetieren. Aufgrund dieses Unterschiedes ist die „Architektur“ des intervillösen Raums, in dem das maternale Blut zirkuliert, in der humanen Plazenta offener als in der murinen Plazenta [16].

Auf Limitationen für die Forschung, welche sich aus diesen strukturellen Begebenheiten in der Nutzung von Ratte und Maus als Tiermodell ergeben, wird im Abschnitt 5.1 näher eingegangen.

2.2 Intrauterine Wachstumsrestriktion (IUGR), Präeklampsie (PE) und Fetale Programmierung

Die intrauterine Wachstumsrestriktion (engl. *intrauterine growth restriction* - IUGR) ist definiert als Zustand, in dem es dem Fetus nicht möglich ist, sein genetisch determiniertes Wachstumspotential auszuschöpfen [20]. Die klinisch-diagnostische Einstufung der IUGR erfolgt nach dem in der AWMF Leitlinie „Intrauterine Wachstumsrestriktion“ der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) [21] dargestellten Vorgehen. Weltweit sind fast 10 % aller Schwangerschaften von einer IUGR betroffen [20]. Die Ätiologie der IUGR ist vielfältig und kann grob in maternale (wie Malnutrition, chronische Vorerkrankungen oder Drogenkonsum), fetale (wie Chromosomenanomalien oder Nabelschnuranomalien) und placentare (wie fehlerhafte Insertion, Infektion, o.Ä.) Ursachen unterteilt werden, die in einer suboptimalen utero-placentaren Perfusion als gemeinsame Endstrecke münden. Die Folge ist eine fetale Mangelversorgung mit dynamischer Wachstumsrestriktion (Perzentilenkreuzen). In den meisten Fällen, die sogenannte idiopathische IUGR, bleibt die Ursache jedoch ungeklärt [22-24].

Folgen einer fetalen Wachstumsrestriktion sind ein erhöhtes Risiko für Frühgeburtlichkeit und intrauterinen Fruchttod. Ferner sind die perinatale Mortalität und Morbidität von IUGR-Feten im Vergleich zu gesunden Kindern deutlich erhöht. So zeigt sich bei betroffenen Neugeborenen eine Prädisposition für das Auftreten von Komplikationen wie beispielsweise einer perinatalen Asphyxie, Hypoglykämie, Hypothermie, Polyzythämie, Sepsis oder hepatozellulären Dysfunktion [23, 25, 26]. Zudem hat ein ungünstiges uterines Milieu, welches eine IUGR bedingt, nicht nur perinatale Auswirkungen, sondern kann auch die langfristige Gesundheit betroffener Kinder beeinflussen. Als potenzielle Langzeitfolgen einer IUGR gelten

neurologischen Entwicklungsstörungen, kardiovaskuläre Erkrankungen sowie das metabolische Syndrom [27]. Die Assoziation zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht und der Entstehung von chronischen Erkrankungen im Erwachsenenalter, wie beispielsweise Diabetes mellitus oder kardiovaskulären Erkrankungen, konnte in vielen Studien demonstriert werden. In diesem Zusammenhang postulierten Baker et al. die Hypothese der fetalen Programmierung, wonach Anpassungsvorgänge des Fetus an ein limitiertes Nährstoffangebot *in utero* zu persistierenden lebenslangen Veränderungen im metabolischen, endokrinen und immunologischen System führen und damit den möglichen Ursprung für eine Vielzahl von Krankheiten im Erwachsenenalter darstellen [28]. Die korrekte Entwicklung und Funktion der Plazenta als entscheidende Voraussetzung für ein ungestörtes pränatales Wachstum verdeutlicht ihre aktive Rolle in Bezug auf die fetale Programmierung und somit ihre Bedeutung für die lebenslange Gesundheit des Menschen [29]. Bislang besteht zumeist das einzige therapeutische Vorgehen bei fetaler Beeinträchtigung durch die IUGR in der vorzeitigen Beendigung der Schwangerschaft [21], wodurch das Neugeborene oft mit der Frühgeburtlichkeit und ihren Folgen konfrontiert ist [20, 25].

Neben der IUGR zählt die Präeklampsie (PE) zu den Hauptursachen für neonatale, aber auch maternale Morbidität und Mortalität [30]. Im Gegensatz zur IUGR hat sie neben einer möglichen Beeinträchtigung des Kindes auch relevante Auswirkungen auf die maternale Gesundheit. Etwa 16 % der Müttersterblichkeit lassen sich auf hypertensive Schwangerschaftserkrankungen zurückführen [31, 32]. Die PE ist nach der AWMF-Leitlinie Nr. 015/018 der DGGG [33] definiert als Bluthochdruck ($\geq 140/90$ mmHg) in der Schwangerschaft mit mindestens einer neu aufgetretenen maternalen Endorganmanifestation. Zu den möglichen Endorganmanifestationen zählt klassischerweise die Niere mit dem Auftreten einer Proteinurie, aber auch andere Organsysteme wie die Leber, das respiratorische System, das zentrale Nervensystem oder die Plazenta können betroffen sein [33]. Leicht abweichend von der AWMF-Klassifikation, definiert das American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) die PE als neu aufgetretenen Bluthochdruck nach der 20. SSW [32], wohingegen die AWMF-Klassifikation auch einen vorbestehenden Hypertonus mit in die PE-Definition einschließt [33].

Die prädisponierenden Faktoren der PE ähneln denen der IUGR, jedoch ist die genaue Ätiopathogenese nicht vollständig geklärt. Man geht davon aus, dass die Ursache sowohl für die PE als auch für einige Formen der IUGR in einer abnormalen Plazentation liegt, die mit einem insuffizienten Remodelling der uterinen Spiralarterien einhergeht [31, 34]. Insbesondere die early-onset PE, die vor der 34. Schwangerschaftswoche (SSW) auftritt [33] und als schwerere placentare Form der PE gilt, ist auf eine unzureichende Entwicklung der Plazenta

in der Frühschwangerschaft zurückzuführen [35]. Im Gegensatz dazu scheint die late-onset PE, die nach der 34. SSW auftritt, Ausdruck eines Missverhältnisses zwischen den Stoffwechselbedürfnissen des wachsenden Fetus gegen Ende der Schwangerschaft und der mütterlichen Versorgung zu sein [36]. Klinisch ist diese Einteilung insofern relevant, da die early-onset PE mit einem höheren Risiko für perinatale und maternale Mortalität verbunden ist, sowie häufiger mit einem fetalen IUGR-Syndrom einhergeht [34, 37].

Bei der PE wird pathophysiologisch angenommen, dass die geschädigte Plazenta toxische Mediatoren in die maternale Zirkulation freisetzt, die zu einer generalisierten Endotheldysfunktion der Schwangeren führen [38]. Die maternalen Endorganmanifestationen einer PE, wie beispielsweise eine disseminierte intravasale Gerinnung, ein Lungenödem, eine Leberzellschädigung oder ein Hirnödem lassen sich ursächlich auf diese generalisierte Endotheldysfunktion zurückführen [38]. Da ätiopathologisch der Ursprung der PE von der Plazenta ausgeht und die maternalen Organmanifestationen durch plazentare Prozesse unterhalten werden, besteht die bisher einzige kausale Therapieoption in der Entbindung des Kindes und der Plazenta. Das bedingt wiederum eine erhöhte Rate an Frühgeburtlichkeit in diesem Kollektiv [35].

2.3 Unfolded Protein Response (UPR)

2.3.1 Endoplasmatisches Retikulum (ER): Struktur und Funktion

Das endoplasmatische Retikulum (ER) ist das größte Zellorganell eukaryotischer Zellen, das sich als verzweigtes Membransystem vom Zellkern kontinuierlich bis zum Zytosol erstreckt [39]. Das ER ermöglicht die Synthese, Faltung sowie Modifikation von Transmembran- und Sekretionsproteinen und fungiert zudem als Ort der Lipidsynthese. Basierend auf seiner Struktur wird das ER klassischerweise in das ribosomenbesetzte raue ER und das ribosomenfreie glatte ER unterteilt [40]. Zellen, die eine große Menge an Proteinen sezernieren, sind meist reich an rauem ER, wohingegen Zellen mit überwiegend glattem ER vor allem Fettsäuren, Phospholipide und Steroide synthetisieren [40]. Proteine, die für das ER bestimmt sind, verfügen über eine N-terminale Signalsequenz, die sie in das ER-Lumen leitet, wo sie in ihre dreidimensionale Form gefaltet werden und verschiedene posttranslationale Modifikationen, einschließlich Glykosylierung und Bildung von Disulfidbrücken, durchlaufen. Als intrazellulärer Kalziumspeicher verfügt das ER im Vergleich zum Zytosol über eine viel höhere Kalziumkonzentration und über ein stärker oxidierendes Redoxpotential, wodurch sich das ER-Milieu ideal für Proteinfaltungsaktivitäten eignet [41, 42]. Das ER besitzt ein internes Qualitätskontrollsystem, welches unvollständig gefaltete Proteine im ER-Lumen retiniert, um sie dort entweder dem finalen Faltungsprozess zu unterziehen oder dem gezielten Abbau zuzuführen [40]. Zellen wenden großen Mengen an Energie auf, um die einzigartige Umgebung des ERs aufrechtzuerhalten. Somit wird sichergestellt, dass Proteine richtig gefaltet, modifiziert und zu Multiproteinkomplexen zusammengesetzt werden, bevor sie den weiteren sekretorischen Weg zu anderen Zellorganellen oder der Zelloberfläche durchlaufen [41, 42].

2.3.2 ER-Stress

Eine Vielzahl an zellulären Störungen kann die Effizienz der Proteinfaltung im ER beeinträchtigen und zur Akkumulation von fehlgefalteten Proteinen im ER-Lumen führen [41]. Dieses Ungleichgewicht zwischen der Proteinfaltungskapazität und dem Proteinaufkommen wird als ER-Stress bezeichnet [42, 43]. Mögliche Triggerfaktoren für eine solche Störung der ER-Homöostase sind beispielsweise Nährstoffmangel, Hypoxie, Virusinfektionen oder Störungen des Kalziumhaushaltes [41, 44]. Chemische Stimuli, die im Labor verwendet werden, um ER-Stress zu induzieren, umfassen beispielsweise Glykosylierungsinhibitoren wie Tunicamycin, Störfaktoren des Kalziumhaushaltes oder Reduktionsmittel wie 2-Mercaptoethanol zur Spaltung von Disulfidbrücken [37]. Da die Wiederherstellung der ER-

Homöostase essenziell für das Überleben der Zelle ist, werden mehrere adaptive Mechanismen aktiviert, um die Faltungskapazität des ER und die Belastung durch ungefaltete Proteine wieder in Einklang zu bringen. Diese zelluläre Antwort auf ER-Stress ist als „*Unfolded Protein Response*“ (UPR) bekannt, deren Signalkaskaden in Abbildung (Abb.) 1 schematisch dargestellt werden [40, 45]. Dabei kommt es zum einen zur Expansion der Faltungskapazität durch eine vermehrte Expression von Chaperonen und Foldasen, die eine tragende Rolle bei der Proteinfaltung spielen. Zum anderen wird die Proteinbelastung des ER durch eine Inhibierung der Proteinbiosynthese reduziert, sowie der gezielte Abbau von ungefalteten Proteinen durch das ER-assoziierte Degradationssystem (ERAD) mit dem dazugehörigen Ubiquitin-Proteasom Komplex [24, 40] verstärkt. Falls diese Mechanismen die Stresssituation nicht beheben können, kommt es zur Induktion der Apoptose, als letzte Möglichkeit mehrzelliger Organismen sich dysfunktionaler Zellen zu entledigen [44, 45].

Die UPR umfasst drei Hauptsignalkaskaden mit überlappenden Funktionen (siehe Abb.1), die durch die Sensorproteine *PKR-like endoplasmic reticulum kinase* (PERK), *activating transcription factor 6* (ATF6) und *inositol-requiring enzyme 1* (IRE1) vermittelt werden [46]. Der N-Terminus dieser Transmembranproteine ragt in das Lumen des ER, wohingegen sich der C-Terminus im Zytosol befindet und damit die Signalübertragung zwischen den beiden Kompartimenten ermöglicht. Unter homöostatischen Bedingungen sind die N-Termini der drei Transmembranproteine durch das ER-Chaperon *78 kDa glucose-regulated protein* (GRP78, alternative Bezeichnung: *immunoglobulin heavy chain-binding protein* - BiP) besetzt, wodurch sie in einem inaktiven Zustand gehalten werden [44]. Das ER enthält eine Reihe von molekularen Chaperonen wie beispielsweise GRP78 oder Calnexin, die physiologisch an der Faltung, posttranslationalen Modifikation sowie Qualitätskontrolle neu synthetisierter Proteine beteiligt sind. Wenn es zur Akkumulation von fehlgefalteten Proteinen im ER-Lumen kommt, löst sich GRP78 von den Transmembranproteinen, wodurch die UPR aktiviert wird und eine Weiterleitung der Signale in das Zytosol sowie den Zellkern ermöglicht wird [47].

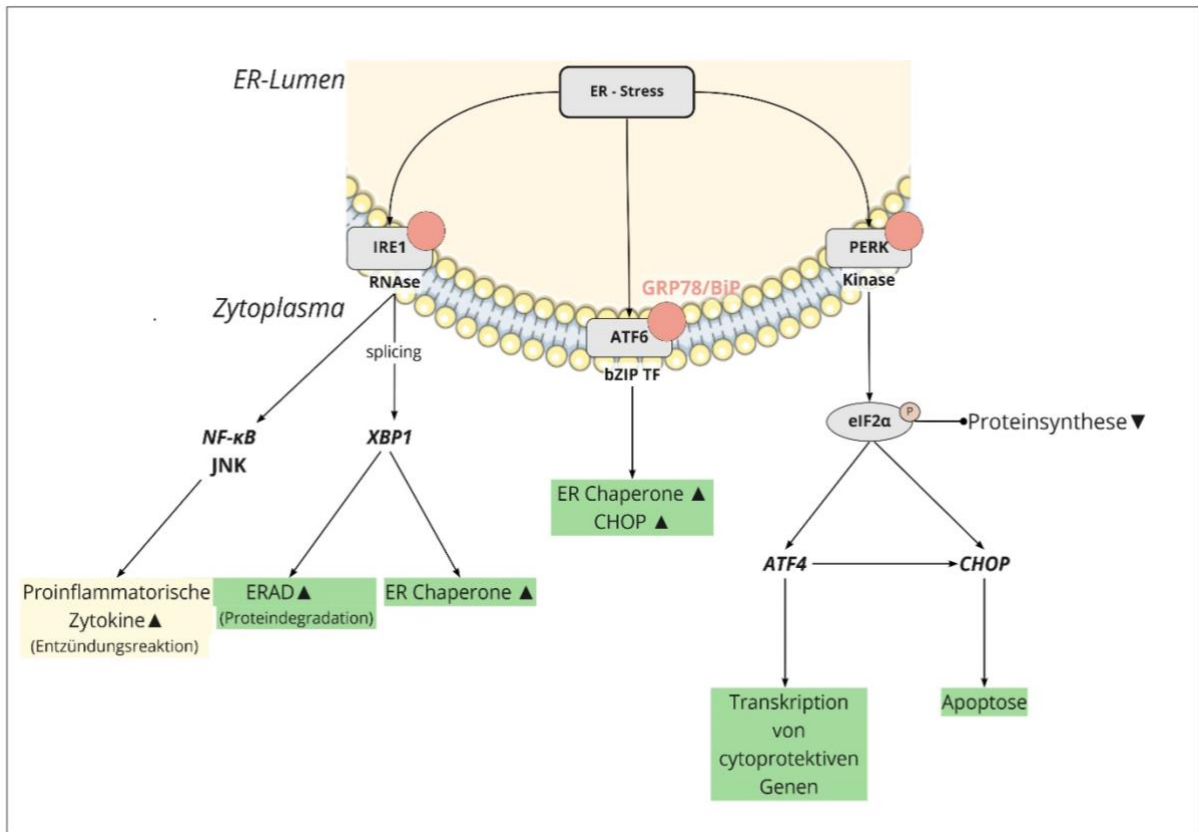


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Unfolded Protein Response (UPR)-Signalkaskaden. Die Transmembranproteine *PKR-like endoplasmic reticulum kinase* (PERK), *inositol-requiring enzyme 1* (IRE1) und *activating transcription factor 6* (ATF6) werden durch die Bindung von *78 kDa glucose-regulated protein* (GRP78, alternative Bezeichnung: *immunoglobulin heavy chain-binding protein* - BiP) im inaktiven Zustand gehalten. Bei ATF6 handelt es sich um einen membrangebundenen Transkriptionsfaktor (TF) mit *basic leucine zipper*-Domäne (bZIP). Sobald fehlgefaltete Proteine im ER-Lumen akkumulieren, bindet GRP78 bevorzugt an diese Proteine und aktiviert dadurch die UPR-Sensorproteine. Die UPR zielt darauf ab, die Homöostase im endoplasmatischen Retikulum (ER) durch Expansion der Proteinfaltungskapazität (*X-box-binding protein 1* (XBP1) und ATF6), den verstärkten Proteinabbau durch das ER-assoziierte Degradationssystem (ERAD), die Inhibierung der Proteinsynthese (*eukaryotic translation initiation factor 2 subunit α* (eIF2α)) oder die Induktion der Apoptose (*activating transcription factor 4* (ATF4) und *C/EBP-homologous protein* (CHOP)) wiederherzustellen. Ferner gibt es über den IRE1-Signalweg eine Verknüpfung zur Entzündungsreaktion, die zur Induktion von proinflammatorischen Enzymen durch die Aktivierung des Transkriptionsfaktors *nuclear factor kappa B* (NF-κB) sowie der Proteinkinase *c-Jun N-terminal kinase* (JNK) führt. Legende: P = Phosphorylierung, rosa Kreis = GRP78/BiP. In Anlehnung an Denk et al. [1] und Burton et al. [46].

Im Folgenden wird auf die Funktion der einzelnen Komponenten der UPR aus Abbildung 1 näher eingegangen.

IRE1-Signalkaskade

Das Transmembran-Sensorprotein IRE1 wird durch das *Endoplasmic Reticulum to Nucleus Signaling 1 (Ern1)* -Gen kodiert [48] und verfügt über eine C-terminale zytosolische Effektorregion, die sowohl eine Kinase-als auch eine Endoribonukleaseaktivität aufweist [40]. Säugetiere besitzen zwei Varianten von IRE1, IRE1 α und IRE1 β . IRE1 α zeigt eine ubiquitäre Expression, wohingegen sich das Vorkommen von IRE1 β auf den Darm beschränkt [45]. Im Folgenden wird daher unter IRE1 primär die Signalkaskade des IRE1 α Proteins, als das für die Plazenta bedeutende Signalprotein [49] erläutert. Die Aktivierung dieses UPR-Signalweges erfolgt nach der Dissoziation von GRP78 sowie durch direkte Interaktion von IRE1 mit ungefalteten Proteinen im ER-Lumen. Es folgt ein mehrstufiger Aktivierungsprozess durch Oligodimerisierung und Autophosphorylierung der zytosolischen Domäne von IRE1 [34]. Mithilfe der Endoribonukleasedomäne katalysiert IRE1 das Splicing des *X-box-binding protein 1 XBP1U (unspliced XBP1)* mRNA zu *XBP1S (spliced XBP1)* [41, 45]. XBP1S fungiert als aktiver Transkriptionsfaktor, der zum Nukleus transloziert, um dort die Transkription von Genen zu induzieren, die wie in Abbildung 1 dargestellt an der Proteinfaltung sowie an der ER-induzierten Proteindegradation beteiligt sind [34, 44]. Zusätzlich verfügt IRE1 über einen Kontrollmechanismus der eigenen Expression, indem es in der Lage ist, seine mRNA durch die Endoribonukleasedomäne zu spalten [34, 40]. Durch die Autophosphorylierung von IRE1 erfolgt zudem eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors *nuclear factor kappa B (NF- κ B)* sowie der Proteinkinase *c-Jun N-terminal kinase (JNK)*. NF- κ B ist ein zentraler Transkriptionsregulator bei der Entstehung von Entzündungen. Die Aktivierung von JNK induziert ebenfalls die Expression von entzündungsfördernden Genen. Folglich stellt dieser Signalweg einen möglichen Verbindungsmechanismus zwischen UPR und Inflammationssignalkaskaden dar [42].

PERK-Signalkaskade

Die unmittelbarste Reaktion auf ER-Stress wird durch die Transmembrankinase PERK vermittelt, deren Kinaseaktivität analog zu IRE1 durch Autophosphorylierung nach der Lösung der GRP78-Bindung induziert wird [42]. PERK phosphoryliert nachfolgend die *α -subunit des eukaryotic translation initiation factor 2 (eIF2 α)*, wodurch es zu einer Reduktion der Translationsinitiation und somit zur Inhibierung der globalen Proteinsynthese kommt (siehe Abb. 1). Durch diesen Mechanismus erhält die Zelle mehr Zeit, Proteine ohne zusätzliches Proteinaufkommen adäquat im ER zu falten [40-42]. Bestimmte Gene erhalten jedoch unter diesen Bedingungen einen selektiven Vorteil für die Expression, darunter die mRNA, die für

den Transkriptionsfaktor *activating transcription factor 4* (ATF4) kodiert [44]. Die Expression von ATF4 wird unter anderem über einen inhibitorischen *upstream open reading frame* reguliert, der in der ungestressten Zelle die Translation von ATF4 verhindert. Unter ER-Stress Bedingungen ermöglicht die Phosphorylierung von eIF2 α die Umgehung dieses inhibitorischen Elementes und erleichtert dadurch die Translation der ATF4-kodierenden Region [40, 50]. ATF4 induziert die Expression von UPR-Zielgenen, die an der Aminosäuresynthese, der oxidativen Stressantwort sowie der ER-Stress induzierten Apoptose beteiligt sind. Im Falle einer protrahierten ER-Stresssituation, wird über diesen Mechanismus die Induktion des proapoptotischen Transkriptionsfaktors *C/EBP-homologous protein* (CHOP) reguliert [42].

ATF6-Signalkaskade

Neben IRE1 und PERK ist ATF6 der dritte große Zweig der UPR-Antwort. Wie in Abbildung 1 dargestellt, handelt es sich bei ATF6 um einen membrangebundenen Transkriptionsfaktor mit *basic leucine zipper*-Domäne (bZIP) [1], weshalb die Lösung von GRP78 vom N-Terminus des Transmembranproteins im Vergleich zu PERK und IRE1 einen anderen Mechanismus der Proteinaktivierung auslöst. Anstatt zu oligomerisieren wandert ATF6 zum Golgi-Apparat, um dort durch die Site-1-Protease und Site-2-Protease gespalten zu werden [41, 42, 44]. Das dadurch freigesetzte N-terminale Fragment transloziert als aktiver Transkriptionsfaktor ATF6(N) zum Nukleus. Dort aktiviert er die Transkription von Chaperonen wie GRP78, der Transkriptionsfaktoren CHOP und XBP1 sowie anderen Proteinen der UPR-Signalkaskade [40]. ATF6 interagiert folglich mit IRE1, indem es die Transkription von *XBP1* mRNA fördert, die wiederum durch die Endoribonukleaseaktivität von IRE1 prozessiert wird, sodass ein aktiver Transkriptionsfaktor entsteht [44].

Die drei ER-Stress-Sensoren (i.e., IRE1, PERK und ATF6) nutzen unterschiedliche Mechanismen und Effektoren um die UPR zu aktivieren, aber an einigen Punkten kommunizieren die Signalwege miteinander [40]. Die ausgelösten Prozesse führen entweder zur Anpassung der Zelle an die veränderten Bedingungen oder zum Zelltod durch Apoptose. Es bleibt jedoch unklar, in welchem Maße jeder Zweig individuell zum finalen biologischen Effekt beiträgt [40]. Zum Beispiel werden IRE1 und ATF6- Aktivitäten durch anhaltenden ER-Stress abgeschwächt, während der PERK-Signalweg davon unberührt bleibt [40]. Eine kontinuierliche PERK-Aktivierung beeinträchtigt die Zellproliferation und fördert die Apoptose. Im Gegensatz dazu steigert die Aktivierung von IRE1 über den gleichen Zeitraum die Zellproliferation, ohne den Zelltod zu fördern [40, 51]. Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass unterschiedliche Aktivierungsgrade von PERK und IRE1 das Schicksal der Zelle infolge von ER-Stress bestimmen können [40, 51].

2.4 ER-Stress und oxidativer Stress: Ein Circulus vitiosus?

Reaktive Sauerstoffspezies (engl. *reactive oxygen species* - ROS) und reaktive Stickstoffspezies (engl. *reactive nitrogen species* - RNS) sind freie Radikale, die als hochreaktive Moleküle durch das Vorhandensein von ungepaarten Elektronen zu Protein-, Lipid- und DNA-Schäden führen können. ROS/RNS können sowohl als Folge der Exposition gegenüber toxischen Einflüssen, wie beispielsweise schädlicher Strahlung oder Umweltschadstoffen, als auch als Nebenprodukte von physiologischen Redoxreaktionen wie der mitochondrialen Atmungskette, entstehen. Zu den häufigen ROS/RNS zählen beispielsweise Stickstoffmonoxid (NO), Superoxid und Wasserstoffperoxid [52-54]. Physiologisch sind ROS in zelluläre Signalwege involviert, die zur normalen Entwicklung und Zellfunktion beitragen, wie etwa der Trophoblasteninvasion oder der Gefäßentwicklung in der Plazenta [55]. Um physiologische ROS-Spiegel aufrechtzuerhalten, gibt es ein dynamisches Gleichgewicht zwischen der ROS-Generierung und der Aktivität von Antioxidantien. Wenn jedoch die Synthesekapazität für neue Antioxidantien nicht ausreicht, um die überschüssige Menge an ROS/RNS abzufangen, erzeugt dies einen zellulären Zustand, der als oxidativer oder nitrosativer Stress bezeichnet wird und zu DNA- und Proteinschäden führt [55]. Moleküle, die sich durch Interaktion mit ROS/RNS verändern, können als Biomarker für oxidativen Stress genutzt werden. So führt oxidativer/nitrosativer Stress beispielsweise zur Nitrierung von Tyrosin-Resten in Proteinen und damit zur Bildung von 3-Nitrotyrosin, dessen Nachweis einen häufig genutzten Ansatz zur Untersuchung der zellulären Stressantwort darstellt [56]. Ebenso kann ein hohes Level an oxidativem Stress zur Akkumulation von 4-Hydroxy-2-nonenal (HNE) führen, einem sehr reaktiven Aldehyd, welches selbst wiederum Zellschäden generieren kann und als Biomarker für oxidativen Stress genutzt wird [1, 57].

ER-Stress (siehe Abschnitt 2.3.2) und oxidativer Stress sind eng miteinander verbundene Vorgänge und koexistieren in vielen pathologischen Zuständen. Dennoch fehlt noch immer ein tiefgreifendes Verständnis der Mechanismen für das Zusammenspiel zwischen diesen intrazellulären Stresssignalwegen [54, 58, 59]. Ein möglicher Verbindungsmechanismus zwischen den beiden Stresszuständen ist die Proteinfaltung im ER selbst, die als oxidativer Vorgang eine wichtige Quelle der intrinsischen ROS-Produktion in der Zelle darstellt [46, 58]. Folglich kann ein Anstieg der Proteinfaltungslast im ER zu erhöhten intrazellulären Konzentrationen von ROS führen und oxidativen Stress verursachen [44, 58]. Untersuchungen zufolge, resultieren 25 % der in einer Zelle erzeugten ROS aus der Bildung von Disulfidbrücken während der Proteinfaltung im ER [54]. Neben dem ER stellen auch die Mitochondrien einen potenziellen Ort der ROS-Generierung dar. Sowohl ER-Stress als auch oxidativer Stress induzieren die Kalziumfreisetzung aus dem ER in das Zytosol mit konsekutiver Aktivierung der

Atmungskette in den Mitochondrien und assoziierter Produktion von ROS [54]. Darüber hinaus handelt es sich bei der Proteinfaltung und Rückfaltung im ER-Lumen um stark energieabhängige Prozesse, sodass alternativ ein Adenosintriphosphat (ATP)-Mangel als Folge der Proteinfehlfaltung die mitochondriale oxidative Phosphorylierung stimulieren kann, um die ATP-Produktion und folglich die ROS-Generierung zu steigern [54, 59]. Des Weiteren wird der UPR-Komponente CHOP ein Beitrag zur Entstehung von oxidativem Stress durch Förderung der Proteinsynthese im bereits gestressten ER zur Apoptoseinduktion zugeschrieben [58, 60].

Es sollte ferner nicht außer Betracht gelassen werden, dass der gleiche Stimulus beide Stressarten triggern kann. So können Ischämie-Reperfusionsschäden und Hypoxie sowohl zur Generierung von ROS führen, als auch ER-Stress durch Störungen der Kalziumhomöostase auslösen [46]. Zudem können einige Formen von ROS selbst, darunter vor allem exogene Oxidantien, die ER-Proteinfaltung stören und damit eine Aktivierung der UPR auslösen [58]. Hier ist jedoch die Art des oxidativen Stresses, beispielsweise determiniert durch Stärke und Ort, ausschlaggebend dafür, ob eine ER-Stressantwort induziert wird [58]. Obwohl die genauen Mechanismen noch unklar sind, lässt sich abschließend festhalten, dass sich beide Stressantworten gegenseitig induzieren und in einer positiven Feedbackschleife akzentuieren, was letztendlich in einer Beeinträchtigung der Zellfunktion sowie der Aktivierung von proapoptischen Signalwegen resultiert [54]

2.5 ER-Stress in der physiologischen Plazentation

Die Aktivierung der UPR-Signalkaskade sollte nicht zwangsläufig als Hinweis auf das Vorliegen einer Pathologie interpretiert werden, sondern kann eine zelltyp- und zustandsspezifische Reaktion auf physiologische Ereignisse sein, wie zum Beispiel der Zelldifferenzierung. So zeigen das Pankreas und die Plazenta aufgrund ihrer hohen endokrinen und exokrinen Aktivität unter normalen Bedingungen eine geringgradige Aktivierung der UPR [61]. Die moderate und regulierte UPR spielt auch eine wesentliche Rolle in der Entwicklung der Plazenta [34] und damit für die fetale Entwicklung. So führt die Inaktivierung von IRE1 α bei Mäusen zu weitreichenden Entwicklungsdefekten, woraus an E12.5 der Tod des Embryos resultiert [34, 49]. Interessanterweise zeigen IRE1 α Knockout-Mäuse eine verminderte plazentare Expression des Wachstumsfaktors *vascular endothelial growth factor A* (VEGF-A) [49]. VEGF-A induziert die Vaskulo- sowie Angiogenese und ist essenziell für die Entwicklung des Zottengewebes der Plazenta, dem Ort des Sauerstoff- und Nährstoffaustausches zwischen Mutter und Fötus [34]. Dementsprechend findet sich in der Plazenta von IRE1 α Knockout-Mäusen eine pathologisch veränderte Labyrinthzone [49]. Dies

spiegelt die essenzielle Bedeutung von IRE1 α und der UPR während der physiologischen Plazentation wider: Ohne eine korrekte Aktivierung der UPR sind IRE1 α und VEGF-A Spiegel nicht ausreichend für eine adäquate Blutgefäßbildung, was zu einer fehlerhaften Plazentaentwicklung und Defiziten im Nährstoffaustausch zwischen Mutter und Fetus führt [34, 49]. Abschließend lässt sich festhalten, dass milde Stresslevel die Induktion von adaptiven Mechanismen erlauben. Eine Überaktivierung sowie Deregulation der Stressantwort, wie sie sich im Rahmen von Ischämie/Reperfusionseignissen (I/R) findet (siehe nächster Abschnitt 2.6), kann jedoch zur Pathogenese von Schwangerschaftskomplikationen wie der IUGR oder PE beitragen [34, 61].

2.6 ER-Stress und Oxidativer Stress in der humanen Pathophysiologie der IUGR und PE

Die Schwangerschaftskomplikationen der idiopathischen IUGR und der PE werden als Folge einer placentaren Insuffizienz angesehen, differieren jedoch erheblich in ihrer klinischen Manifestation. Beiden humanen Pathologien wird eine trophoblastäre Störung zugrunde gelegt, woraus negative Folgen für die synzytiale Funktion und die placentare Perfusion als Ausdruck einer mangelhaften Konversion maternaler Spiralarterien erwachsen (siehe Abschnitt 2.1.1 und 2.2) [46]. Vor allem bei der PE resultiert daraus eine abnorme, flache Implantation der Plazenta [31]. Defizite in der Spiralarterienkonversion können zu einem intermittierend reduzierten maternalen Blutfluss aufgrund einer exzessiven, spontanen Vasokonstriktion der Spiralarterien führen. Die Plazenta wird dadurch einer wiederholten Schädigungssequenz aus Ischämie und Reperfusion ausgesetzt [24]. I/R-assoziierte Gewebeschäden sind zum einen ein starker Generator von ROS und oxidativem Stress, zum anderen induzieren sie auch ER-Stress. Die Mechanismen, die der ER-Stress-Aktivierung durch I/R zugrunde liegen, basieren auf einer Störung der Kalziumhomöostase im ER durch I/R bedingte ATP-Depletion und der ROS-Generierung. Infolgedessen können die Prozesse der posttranslationalen Modifikation nur noch eingeschränkt ablaufen und es kommt zur Akkumulation von fehlgefalteten Proteinen, folglich also zu einer Induktion der UPR [24].

Yung et al. (2008) zeigten erstmals, dass ER-Stress sowie die Inhibierung der Proteinsynthese eine zentrale Stellung in der Pathophysiologie der humanen IUGR einnehmen. Es konnte eine erhöhte Phosphorylierung von eIF2 α in der humanen Plazenta von Fällen mit einer IUGR, sowie einer IUGR kombiniert mit einer PE (PE/IUGR) im Vergleich zu nicht-pathologischen Kontrollen nachgewiesen werden, was auf eine Suppression der Translationsinitiation hindeutet [24]. Da auch Zellzyklus-regulierende Proteine wie Cyclin D von der Inhibierung der

Proteinsynthese betroffen sind, fand sich zudem eine reduzierte Zellproliferation in den untersuchten pathologischen Plazenten [24, 46].

Die gesteigerte Phosphorylierung von eIF2 α führt zu einer reduzierten Aktivität in weiteren Signalkaskaden, wie beispielsweise der Proteinkinase B (AKT)/ *mammalian target of rapamycin* (mTOR)-Signalkaskade, mit einer damit verbundenen zusätzlichen Attenuierung der Proteinsynthese. Dies wird durch die Phosphorylierung des mTOR-Komplexes durch AKT vermittelt, der wiederum regulatorische Funktionen in der Proteintranslation besitzt [24, 46]. Bei Yung et al. fand sich neben einer erhöhten Phosphorylierung von eIF2 α ein verringertes AKT-Proteinlevel in humanen IUGR-Plazenten. Analog dazu zeigte sich im Mausmodell bei Akt1- Knockout-Mäusen eine reduzierte mTOR-Signalaktivität sowie ein beeinträchtigt Wachstum der murinen Plazenta [24]. Da auch in anderen Tiermodellen bereits gezeigt wurde, dass verlängerter und exzessiver ER-Stress das Gewicht von Plazenta und Fetus signifikant verringert [62], könnte die Inhibierung der Proteinsynthese im Zusammenspiel mit der beeinträchtigen Zellproliferation unter anderem einen Erklärungsansatz für das niedrigere Plazentagewicht darstellen, das den plazentaren Phänotyp bei IUGR im Vergleich zu gesunden Feten kennzeichnet [24]. Auch der Anstieg des proapoptotischen ER-Stressmarker CHOP sowie der trophoblastären Apoptoserate, die in IUGR sowie PE/IUGR Plazenten nachgewiesen wurden [24, 46, 63], könnten zum kleineren Phänotyp dieser Plazenten beitragen [24, 46]. Da beobachtet wurde, dass ein reduziertes plazentares Wachstum der Entwicklung einer IUGR vorausgeht [64], wurden weitere Mechanismen untersucht, die der veränderten Plazentamorphologie durch ER-Stress zugrunde liegen. Hierfür wurden von Yung et al. [64] *Eukaryotic Translation Initiation Factor 2 Subunit 1* (Eif2s1^{tm1Rjk}) -mutierte Mäuse verwendet, in welchen eIF2 α nicht durch Phosphorylierung inhibiert werden kann und somit durch eine konstitutive Erhöhung der Proteinsynthese ER-Stress generiert wird. Bei den Mäusen zeigte sich ein reduziertes plazentares sowie ein reduziertes fetales Gewicht. In den Untersuchungen des Glykosylierungsprofils sezernierter Proteine ergaben sich Hinweise für eine veränderte posttranslationale Verarbeitung von Wachstumsfaktoren. Solche Alterationen können in einer beeinträchtigen Bioaktivität dieser Proteine resultieren [64]. Dabei wurden unter anderem veränderte Glykosylierungsmuster des *Insulin-like-growth-factor 2* (Igf-2) festgestellt. Faktoren wie Igf-2 sind wichtige Stimulatoren des plazentaren Wachstums. Folglich stellt die Beeinträchtigung solcher Signalkaskaden eine weitere mögliche Verbindung zwischen ER-Stress und veränderter Morphogenese der Plazenta dar [64].

Zu den beschriebenen ER-Stress induzierten Mechanismen, die zur Pathogenese der Schwangerschaftskomplikationen von IUGR und PE beitragen, passen auch die Studienergebnisse von Mizuuchi et al. [65]. Die Arbeitsgruppe untersuchte die Rolle des plazentaren ER-Stress bei der Modulation der mütterlichen Endothelzellfunktion über die

Regulation der Synthese und Sekretion von pro- und antiangiogenen Faktoren. Hinter der mütterlichen Endothelzellaktivierung als zentrales Merkmal der PE (siehe Abschnitt 2.2) wird eine Dysbalance zwischen proangiogenen und antiangiogenen Faktoren in der maternalen Zirkulation vermutet [65]. Mizuuchi et al. konnten zeigen, dass eine Zunahme des ER-Stresses mit reduzierten Protein- und Transkriptkonzentrationen des *placental growth factors* (PlGF) in humanen early-onset PE-Plazenten einherging [65]. Den UPR-Transkriptionsfaktoren ATF4/ATF6 wird dabei, aufgrund der gezeigten negativen Korrelationen zwischen reduzierten PlGF-Spiegeln und erhöhter ATF4/ATF6-Genexpression, eine zentrale Rolle als Mediator zugeschrieben. PlGF ist ein proangiogener Faktor, der Vaskulo- und Angiogenese fördert und Ähnlichkeiten zur Funktion von VEGF zeigt. In Fällen von IUGR und PE wurden reduzierte Konzentrationen von maternal zirkulierendem PlGF nachgewiesen, die vermutlich auf einer verminderten placentaren Freisetzung von PlGF durch den Trophoblasten basieren [65]. Die niedrigen zirkulierenden PlGF-Konzentrationen werden weitgehend als Hauptursache der maternalen Endothelzelldysfunktion bei PE betrachtet [65]. Diese für die PE pathophysiologisch bedeutende placentare angiogene Dysbalance kann für die geburtshilfliche Diagnostik genutzt werden, wobei der Quotient aus der Tyrosinkinase *soluble Fms-like tyrosin kinase-1* (sFlt-1) und PlGF im maternalen Blut bestimmt wird (siehe Abschnitt 6). Bei sFlt-1 handelt es sich um einen Anti-Angiogenesefaktor, dessen Serumkonzentration bei einer PE erhöht ist. Die sFlt-1/PlGF Ratio reflektiert somit das Verhältnis der antiangiogenen gegenüber den proangiogenen Faktoren und dient als prädiktiver Marker in der PE-Diagnostik [66].

In weiteren Studien unterschiedlicher Arbeitsgruppen konnte auch der Anstieg von anderen ER-Stressmarkern, darunter GRP78, *48 kDa glucose-regulated protein* (GRP48), IRE1, phospho-IRE1, ATF6, XBP1 sowie phospho-PERK, in der Plazenta aus Patientenkollektiven mit IUGR und/oder PE nachgewiesen werden [24, 46, 63, 67, 68]. Trotz der gezeigten Assoziation zwischen der UPR und diesen Schwangerschaftspathologien, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Aktivierung der UPR eine Folgeerscheinung und nicht eine Ursache der Erkrankungen ist [34].

2.6.1 IUGR und PE: Plazentarer Vergleich der ER-Stressantwort und des oxidativen Stresses

Sowohl in PE-Plazenten als auch in IUGR-Plazenten lässt sich eine erhöhte ER-Stressantwort nachweisen [24, 34, 46, 63, 64, 67, 68]. Dennoch bestehen Unterschiede in der UPR-Aktivierung zwischen beiden Pathologien, die möglicherweise auch die unterschiedliche klinische Präsentation erklären. Neben einer höheren Phosphorylierung von eIF2 α bei humanen PE/IUGR Plazenten im Vergleich zu IUGR-Plazenten, findet sich auch ein größerer Anstieg der ER-Stressmarker GRP48 und CHOP [24]. Daraus lässt sich schließen, dass im Falle eines kombinierten Auftretens der Schwangerschaftspathologien (PE/IUGR) ein höherer Grad an plazentarem ER-Stress, verglichen zu alleiniger IUGR, vorliegt [24, 46]. Vergleichende Untersuchungen des Plazentabettes von PE/IUGR sowie IUGR ohne PE ergaben, dass die Kombination beider Komplikationen durch größere Defizite im Remodelling der Spiralarterien charakterisiert ist. Die daraus resultierende stärkere Beeinträchtigung der maternalen Plazentadurchblutung legt nahe, dass eine mögliche Ursache des höheren ER-Stresslevels bei PE im stärkeren Beeinträchtigungsgrad des humanen Spiralarterien-Remodellings liegt [46]. Prolongierter oder verstärkter ER-Stress kann die Apoptose durch die Induktion von CHOP triggern. Infolgedessen werden proinflammatorische Zytokine, antiangiogene Faktoren und trophoblastäre apoptotische Zelltrümmer in den mütterlichen Kreislauf freigesetzt, wo sie mütterliche Endothelzellen aktivieren und dadurch das periphere Syndrom der PE verursachen (siehe Abb. 2) [46]. Folglich bestimmt möglicherweise der Grad des ER-Stresses, ob eine IUGR-Schwangerschaft durch eine PE erschwert wird oder nicht [24]. Ferner postulierten Burton et. al. [46], dass die größere Intensität des vaskulären Insults, dem die humane Plazenta durch das insuffiziente Spiralarterien-Remodelling bei PE ausgesetzt ist, zusätzlich oxidativen Stress generiert, der den bereits bestehenden ER-Stress überlagert. Im Einklang dazu stehen bisherige humane Studienergebnisse, die ein höheres Level an oxidativem Stress in präeklampsischen Plazenten als in IUGR-Plazenten vermuten lassen [46]. Basierend auf diesen Erkenntnissen hypothesierten Burton et al. [46], dass zusätzlicher oxidativer Stress durch die Stimulierung weiterer plazentarer Stresssignalkaskaden die Freisetzung der oben beschriebenen Mediatoren potenzieren könnte. Dies würde zusätzlich die Entstehung der PE-Symptomatik begünstigen [46]. Die beschriebenen Zusammenhänge wurden in Abbildung 2 verdeutlicht.

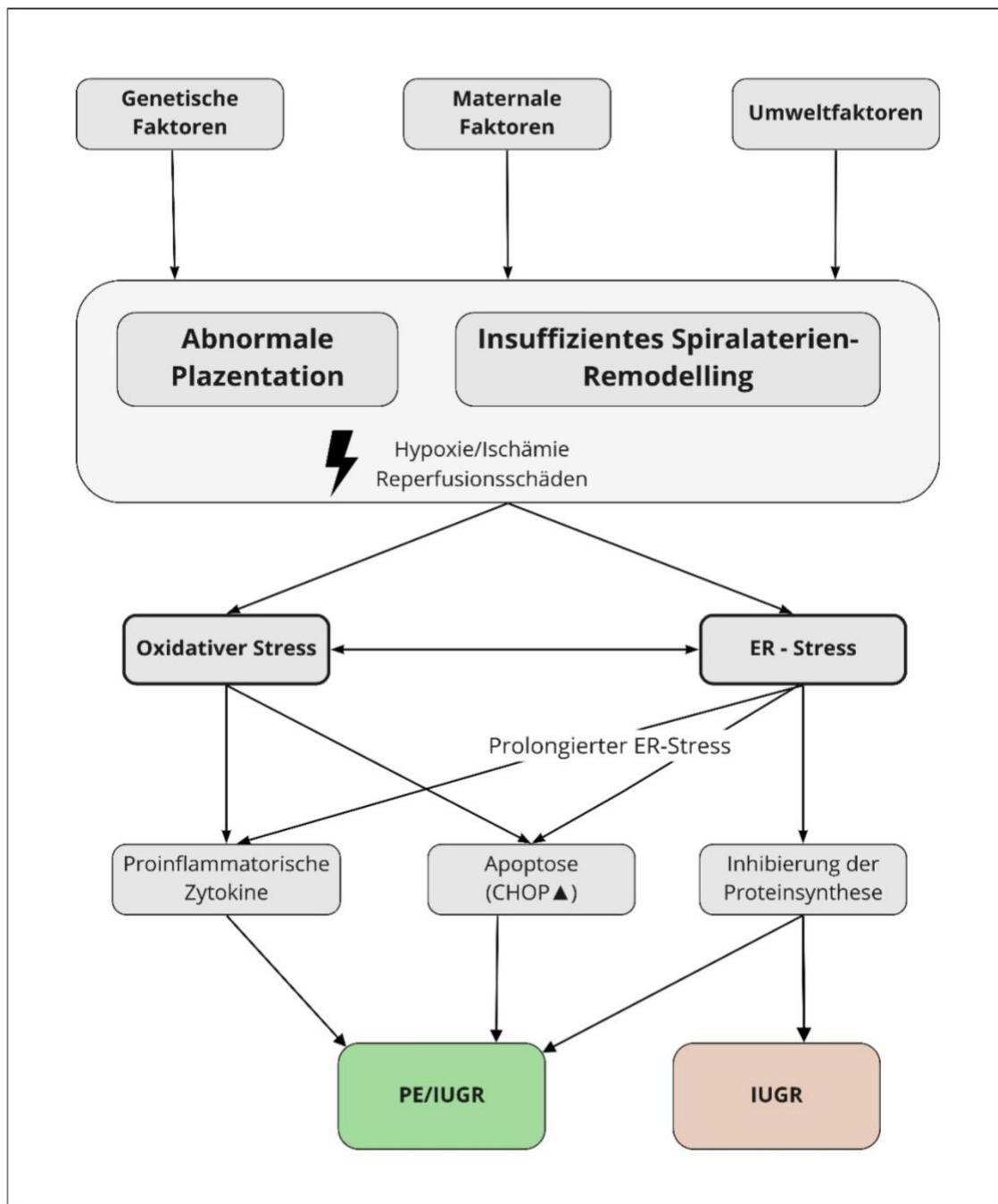


Abbildung 2: Plazentarer ER-Stress und oxidativer Stress in der Pathophysiologie der intrauterinen Wachstumsrestriktion (IUGR) und Präeklampsie (PE) Schematische Darstellung der Rolle von plazentarem ER-Stress und oxidativem Stress in der Pathogenese von PE/IUGR und IUGR. Eine IUGR wird überwiegend auf eine ER-Stressantwort und der damit einhergehenden Inhibierung der Proteinsynthese zurückgeführt, die eine mögliche Ursache für den kleinen plazentaren Phänotyp bei IUGR darstellt. Schwerwiegenere maternale Perfusionsdefizite bei PE/IUGR führen zur einer verstärkten ER-Stressantwort mit zusätzlicher Überlagerung von oxidativem Stress. Dadurch wird die Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren bedingt, die ihrerseits zur peripheren PE-Symptomatik der Mütter beitragen können. In Anlehnung an Burton et al. [46] und Yung et al. [24].

2.7 Tiermodelle

Eine PE sowie eine IUGR werden häufig erst spät im Krankheitsverlauf entdeckt, wenn die Auswirkungen auf den Fetus bereits sichtbar sind. Zudem lassen sich Studien zu Langzeitfolgen im Sinne einer fetalen Programmierung nur limitiert am humanen Kollektiv durchführen. Aufgrund dieser Einschränkungen hinsichtlich der Pathomechanismen und des Krankheitsverlaufs von PE und IUGR wird oft auf die Verwendung von Tiermodellen zurückgegriffen [1, 69]. Generell eignen sich Nagetiere aufgrund ihrer, dem humanen Aufbau ähnlichen hämochorialen Plazentastruktur als Tiermodelle in der Schwangerschaftsforschung (siehe auch Abschnitt 2.1.2). Dabei sollten jedoch auch immer die Nachteile und Grenzen der Tiermodelle in Bezug auf die jeweiligen Forschungsaspekte Beachtung finden, die einen wesentlichen Einfluss auf die vielfach diskutierte Übertragbarkeit von Erkenntnissen aus Tierversuchen auf menschliche Erkrankungen haben [69]. Die im Rahmen der Publikationsdissertation von Denk et al. [1] durchgeführte Studie umfasste zwei Nagetiermodelle, sowohl ein IUGR-Rattenmodell als auch ein PE/IUGR-Mausmodell, deren Charakteristika im Folgenden näher erläutert werden.

2.7.1 IUGR der Ratte: Maternale Proteinrestriktion während der Gestation

In diesem Modell erhalten Muttertiere der Interventionsgruppe (LP group - low protein) während der Schwangerschaft eine isokalorische Niedrigproteindiät mit nur 8 % Proteingehalt zur Induktion einer IUGR, wohingegen Muttertieren der Kontrollgruppe (NP group - normal protein) Standardfutter mit 17 % Proteingehalt zugeführt wird [1, 70]. Muttertiere beider Gruppen erhalten in der in der Laktationsphase Standardfutter mit 17 % Proteingehalt. Die Proteinrestriktion bei den trächtigen Muttertieren führt zu einer signifikanten Verringerung des Geburtsgewichts sowie des Plazentagewichts ihrer Nachkommen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die LP-Tiere zeigen jedoch ein postnatales Aufholwachstum, wobei am 70. Lebensstag noch immer ein signifikant niedrigeres Körpergewicht besteht [70].

Für die im Rahmen der Publikationsdissertation von Denk et al. durchgeführte Studie [1] wurden plazentare Gewebeproben am Gestationstag E18.5 mittels Sectio caesarea gewonnen. In den NP/LP Gruppen erfolgte die Aufteilung bei der Untersuchung der Plazentaprobe wiederum nach dem Geschlecht, da geschlechtsspezifische Unterschiede sowohl im Entwicklungsverlauf der Plazenta als auch in den plazentaren Adaptionsmechanismen an verschiedene *in utero* Stresssituationen durch andere gezeigt wurden [71]. Es handelt sich bei diesem Modell um ein etabliertes Tiermodell unserer Arbeitsgruppe (AG Perinatale Programmierung an der Kinder- und Jugendklinik Erlangen), bei dem Daten aus verschiedenen Studien zeigten, dass die Proteinrestriktion in einer IUGR

resultiert. Zudem sind die möglichen Kurz- sowie Langzeitfolgen für die Nachkommen in diesen IUGR-Modellen, vor allem im Hinblick auf die fetale Programmierung (renal, kardial, endokrin), ausführlich analysiert worden [70, 72, 73]. Da das Proteinrestriktionsmodell unter leichter Handhabung sowie hoher Reproduzierbarkeit IUGR-Konditionen herstellt, wurde es zur Untersuchung der plazentaren ER-Stressantwort im Zuge dieser Publikationsdissertation verwendet.

2.7.2 PE/IUGR der Maus: Knockout der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase

Zur weiteren Untersuchung der plazentaren ER-Stressantwort sowie des oxidativen Stresses wurden die plazentaren Veränderungen in einem Mausmodell mit einem Genknockout der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS^{-/-}) betrachtet. Wildtyp C57BL/6 Mäuse wurden als Kontrollgruppe genutzt. Die Plazenten wurden jeweils zu zwei Gestationszeitpunkten, Tag E15 und Tag E18.5, analysiert. Im Gegensatz zum IUGR-Rattenmodell waren in diesem Modell nur Plazenten männlicher Feten für die Analyse zugänglich [1].

Das mütterliche Gefäßsystem unterliegt während der Schwangerschaft strukturellen und funktionellen Veränderungen, um sich an die erhöhten Anforderungen durch den wachsenden Fetus anzupassen. Dabei wird eNOS eine zentrale Rolle als Mediator dieser adaptiven Prozesse im Zuge des Spiralarterien-Remodellings zugeschrieben. Eine eNOS-Defizienz im Nagetiermodell geht mit einem reduzierten Wachstum der uterinen Spiralarterien sowie einem erhöhten uteroplazentaren Gefäßwiderstand einher [74]. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die Inhibierung der NO-Synthese während der Schwangerschaft infolgedessen zu einer verminderten plazentaren sowie fetalen Perfusion führt und in einer IUGR resultiert [1, 74-76]. Analog dazu zeigten Nachkommen der eNOS-Knockout-Mäuse in der Studie von Denkl et al. [1] ein signifikant verringertes fetales Gewicht [1, 72]. Zudem führte die chronische Inhibierung der NO-Synthese in eNOS^{-/-} Mäusen zu PE-ähnlichen Gestationsbedingungen: Die Tiere wiesen unter anderem eine Hypertonie, eine renale Vasokonstriktion, eine Proteinurie sowie eine erhöhte mütterliche und fetale Morbidität und Mortalität auf [77].

Neben der Funktion als PE-Modell [77] stellt das eNOS-Knockoutmodell basierend auf der uteroplazentaren Hypoxie auch ein geeignetes Modell zur Untersuchung der IUGR dar [78], dessen IUGR-Charakteristika sich schon in den frühen Stadien der Schwangerschaft manifestieren [79]. In anderen Modellen der NO-Inhibierung (mittels NO-Synthase-Inhibitor) wurde bereits eine Erhöhung der plazentaren ER-Stressmarker nachgewiesen [80]. Aufgrund dieser Überschneidung mit den Studienergebnissen aus Untersuchungen von humanem Plazentagewebe mit PE/IUGR [24, 46, 65, 68], wurde das Modell zur Überprüfung der Fragestellung dieser Dissertation herangezogen. Die Wahl fiel bewusst auf die eNOS-

Defizienz als PE/IUGR-Ätiopathologie, um sie der Proteinrestriktion im Rattenmodell als potenziellen Auslöser einer placentaren ER-, bzw. oxidativen Stressantwort vergleichend gegenüber stellen zu können [1, 69].

3 Zielsetzung der Arbeit

Neben der unmittelbaren Gefahr für den Fetus geht eine IUGR über Prozesse der fetalen Programmierung mit einem erhöhten Risiko für chronische Erkrankungen im späteren Leben einher [28]. Eine PE tritt oftmals in Kombination mit einer IUGR auf und gefährdet darüber hinaus die maternale Gesundheit. Die bisherigen Therapiemöglichkeiten der IUGR sowie der PE sind limitiert und bestehen zumeist in der vorzeitigen Entbindung mit den assoziierten Risiken der Frühgeburtlichkeit. Die Identifizierung zugrunde liegender molekularer Pathomechanismen der PE und IUGR könnte dabei helfen, in Zukunft Präventions- und/oder Interventionsmöglichkeiten für diese Krankheiten zu etablieren [53]. Als mögliche molekulare Mechanismen der placentaren Pathologie gelten ER-Stress und oxidativer Stress (siehe Abschnitt 2.6). Beide zellulären Prozesse spielen auch bei der fetalen Programmierung eine ätiopathologische Rolle. Als endokrin aktives Organ mit hohem Proteinumsatz ist die Plazenta besonders vulnerabel für ER-Stress [64]. Basierend auf bisherigen humanen Studienergebnissen, die eine Induktion der placentaren UPR bei Fällen mit IUGR und/oder PE zeigen konnten [24, 46, 63, 67, 68], wurde daher in der vorliegenden Publikationsdissertation [1] der alimentäre bzw. genetische Einfluss auf dieses System respektive im IUGR-Modell der Proteinrestriktion der Ratte sowie bei eNOS^{-/-} Mäusen untersucht. Ergänzend wurde die Rolle des oxidativen Stresses in diesen Tiermodellen beleuchtet, um eine Aussage über die Stellung der beiden Stresssignalkaskaden zueinander treffen zu können.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen könnten einen detaillierteren Einblick in den Pathomechanismus der humanen placentaren Dysfunktion bei PE/IUGR geben und dazu beitragen, Erkenntnisse zu placentaren Prozessen der fetalen Programmierung zu gewinnen. Vor allem in Hinblick auf Interventionsmöglichkeiten, im Sinne einer Blockade der ER-Stressantwort, könnten diese Erkenntnisse langfristig zur Entwicklung von gezielten Therapieoptionen für Schwangerschaftskomplikationen wie der IUGR und PE beim Menschen beitragen.

4 Originalpublikation

Titel: No evidence of the unfolded protein response in the placenta of two rodent models of preeclampsia and intrauterine growth restriction.

Autoren: Barbara Denk¹, Nada Cordasic², Hanna Huebner³, Carlos Menendez-Castro¹, Marius Schmidt¹, Alexander Mocker³, Joachim Woelfle¹, Andrea Hartner¹, Fabian B. Fahlbusch¹.

Affiliationen: ¹ Kinder- und Jugendklinik, Universitätsklinikum Erlangen der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen; ² Medizinische Klinik 4, Nephrologie und Hypertensiologie, Universitätsklinikum der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen; ³ Frauenklinik, Comprehensive Cancer Center EMN, Universitätsklinikum der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen.

Journal: Biology of Reproduction.

Referenz: Biol Reprod. 2021 Aug 3;105(2):449-463. doi: 10.1093/biolre/ioab087. PMID: 33955453.

Lizenzangaben: Die Arbeitsgruppe hält die Lizenz zur Verwendung des Abstracts mit der Nummer 5173651241538, ausgestellt am 21. Oktober 2021, Oxford University Press.

5 Limitationen der Studie von Denkl et al.

5.1 Auswahl eines geeigneten Tiermodells

Bei der Wahl eines bestimmten Tiermodells gilt es stets Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen muriner und humaner Plazentastruktur (siehe Abschnitt 2.1) sowie Gestation zu berücksichtigen. Einerseits sollte die deutlich längere Gestationsdauer von 9 Monaten beim Menschen, welche einer Gestationsdauer von durchschnittlich 21 Tagen bei Mäusen und Ratten gegenübersteht, beachtet werden [14]. Zudem bringen Menschen meist einzelne Nachkommen mit abgeschlossener Organreife zur Welt, wohingegen Nagetiere multipar sind und sich die Organreifung ihrer Nachkommen teils noch extrauterin abschließend vollzieht [14, 15]. Der Unterschied der Gestationsdauer sowie der Wurfgröße könnte beispielsweise einen Erklärungsansatz für die größere Anpassungsfähigkeit der humanen Plazenta zur Aufrechterhaltung des fetalen Gewichts darstellen [1, 69]. Entgegen potenziellen Nachteilen und Grenzen der jeweiligen Tiermodelle sollte ihr Nutzen in Bezug auf den jeweiligen Forschungsaspekt miteinbezogen werden, da kein optimales Tiermodell in der humanen Plazentaforschung existiert [81]. Dabei bleibt grundsätzlich zu beachten, dass die Debatte, inwieweit Daten aus Nagetiermodellen auf humane Pathologien übertragen werden können, noch andauert [1].

Zusätzlich bestehen Limitationen hinsichtlich der Wahl der maternalen Nahrungsrestriktion während der Schwangerschaft als IUGR-Tiermodell und ihrer plazentaren bzw. fetalen Auswirkungen: Denkl et al. [1] konnten keine plazentare UPR-Aktivierung in ihrem Rattentiermodell zeigen. In Analogie zu vergleichbaren alimentären IUGR-Modellen [69], sind somit die Auswirkungen der Proteinrestriktion (25g/Tag, 8 % Proteingehalt) auf die Plazenta in diesem Modell als leicht bis moderat einzustufen [1]. Folglich lässt sich annehmen, dass die Plazenta die maternale Proteinrestriktion durch Aufrechterhaltung funktionsfähiger Trophoblastenzellen kompensieren kann. Eine stärkere Nahrungsrestriktion könnte zur Überschreitung eines kritischen Schwellenwertes und damit zur Beeinträchtigung dieser plazentaren Kompensationsfähigkeit [73], beispielsweise durch eine UPR-Induktion, führen [1]. Somit besteht eine Limitation verschiedener alimentärer IUGR-Tiermodelle hinsichtlich ihrer Vergleichbarkeit [73].

Des Weiteren wurden bei der Wahl geeigneter Tiermodelle verschiedene andere IUGR- und PE/IUGR-Modelle in der Studie von Denkl et al. [1] nicht mitberücksichtigt, insbesondere rigorosere Modelle wie beispielsweise durch Ligatur der A. uterina [1, 82, 83]. In diesen Modellen wurde bereits ein Zusammenhang zwischen IUGR und UPR-Induktion in Geweben wie der Leber [82] oder dem Fettgewebe [83] gezeigt. Basierend auf der vermuteten

Korrelation zwischen dem Schweregrad des gestörten Spiralarterien-Remodellings und dem Ausmaß der plazentaren ER- und/oder oxidativen Stressantwort bleibt zu diskutieren, ob sich ein IUGR-Proteinrestriktionsmodell hinreichend eignet, den Zustand der humanen Spiralarterienminderperfusion adäquat zu reproduzieren oder ob die Verwendung eines Ligaturmodells hier Vorteile mit sich bringen würde [1].

5.2 Plazentare UPR: Einteilung funktionelle Kompartimente?

Die Studie von Denk et al. [1] basierte auf einer limitierten Anzahl an Versuchstieren, worauf eine gewisse Variabilität der Ergebnisse beruhen könnte. Zudem konzentrierten sich die Untersuchungen nur auf eine begrenzte Auswahl an UPR-Stressmarkern, deren Proteinexpression nur in der gesamten Plazenta und nicht in einzelnen Kompartimenten untersucht werden konnte. Daher kann die Möglichkeit der alternierenden Expression weiterer Markergene [40, 44], sowie der potenzielle Einfluss einer kompartiment-spezifischen ER- und oxidativen Stressantwort in den untersuchten Tiermodellen nicht ausgeschlossen werden [1]. In diesem Zusammenhang hat eine kürzlich durchgeführte Studie an trophoblastären Riesenzellen der murinen Plazenta [84] gezeigt, dass diesem Kompartiment eine gesonderte Rolle bei der UPR zukommt [1]. Da diese trophoblastären Zellen Ähnlichkeiten zum humanen EVT aufweisen (siehe Abschnitt 2.1.2), würden sich ähnliche Einschränkungen hinsichtlich der Kompartimentierung der Plazenta auch für humane Studien zum ER-Stress vermuten lassen. Zumal die Untersuchungen zur UPR meist auf der Entnahme von Zottenproben beruhen und somit den potenziellen Beitrag der extravillösen Trophoblasten, sowie der Dezidua bislang außer Acht lassen [1].

6 Ausblick: Potenzielle diagnostische und therapeutische Optionen bei ER-Stress assoziierten Plazentapathologien?

Die Untersuchung der ER-Stressantwort, inklusive deren Ursachen und Folgen, hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen, um die Pathomechanismen von Plazentapathologien wie der IUGR oder PE besser zu verstehen und deren Outcome zu verbessern [34]. Häufig erfolgt die Diagnosestellung dieser Erkrankungen erst, wenn bereits der Fetus oder auch die Mutter von den damit verbundenen Risiken beeinträchtigt sind. Zur Risikoabschätzung einer PE wird aktuell unter anderem der sFlt-1/PlGF-Quotient genutzt, der jedoch nur zur Diagnosesicherung- und Ausschluss Anwendung finden sollte [33]. Angesichts der nachgewiesenen placentaren UPR-Induktion bei early-onset PE (siehe Abschnitt 2.6), könnten UPR-Proteine als vielversprechende Marker dienen, um das Risiko der Krankheitsentstehung abzuschätzen. In diesem Zusammenhang konnte unter anderem gezeigt werden, dass die Messung des zirkulierenden C-terminalen GRP78 oder der Anti-GRP78-Autoantikörper einen Nutzen als potenzielle Biomarker zur Risikovorhersage einer PE haben [34].

Zellschädigungen, die auf chronischen ER-Stress zurückzuführen sind, wurden auch bei vielen anderen, weit verbreiteten Krankheiten wie beispielsweise Diabetes mellitus, neurodegenerativen Erkrankungen oder Krebs, als bedeutender Faktor in der Pathophysiologie identifiziert. Bei zelldegenerativen Erkrankungen wie Typ-2-Diabetes könnte eine Modulation der UPR zugunsten des Zellüberlebens potenziell krankheitsverändernd sein. Dies verdeutlicht das Interesse an therapeutischen Möglichkeiten zur Inhibierung der ER-Stressantwort als „targeted-therapy“ bei ER-Stress assoziierten Erkrankungen [41]. Passend dazu konnte bereits das Potenzial chemischer Chaperone sowie von Antioxidantien zur Reduktion einer erhöhten placentaren ER-Stressantwort bei Gestationsdiabetes gezeigt werden [85]. Da jedoch die Hypothese, dass die UPR eine Folge und nicht die Ursache der Schwangerschaftspathologien IUGR und/oder PE darstellt, nicht sicher ausgeschlossen werden kann [34], bedarf es weiterführender Studien zur Untersuchung der UPR-Induktion sowie Modulation bei IUGR und/oder PE. Dabei sollte das Ziel der Etablierung frühzeitiger diagnostischer Möglichkeiten und therapeutischer Interventionen weiterhin eine zentrale Stellung einnehmen. Die gewonnenen Erkenntnisse aus der trophoblastären Forschung von Denk et al. [1] und anderen bieten somit auf translationaler Ebene Ansätze für die Diagnostik und Therapie von UPR-assoziiertem Krankheitsgeschehen anderer Organsysteme.

7 Literaturverzeichnis

1. Denk B, Cordasic N, Huebner H, Menendez-Castro C, Schmidt M, Mocker A, Woelfle J, Hartner A, Fahlbusch FB. No evidence of the unfolded protein response in the placenta of two rodent models of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Biol Reprod.* 2021;105(2):449-63. doi: 10.1093/biolre/ioab087.
2. Hemberger M, Hanna CW, Dean W. Mechanisms of early placental development in mouse and humans. *Nat Rev Genet.* 2020;21(1):27-43. doi: 10.1038/s41576-019-0169-4.
3. Turco MY, Moffett A. Development of the human placenta. *Development.* 2019;146(22). doi: 10.1242/dev.163428.
4. Maltepe E, Fisher SJ. Placenta: the forgotten organ. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2015;31:523-52. doi: 10.1146/annurev-cellbio-100814-125620.
5. Silva JF, Serakides R. Intrauterine trophoblast migration: A comparative view of humans and rodents. *Cell Adh Migr.* 2016;10(1-2):88-110. doi: 10.1080/19336918.2015.1120397.
6. Moore KL, Persaud TVN. *Embryologie: Entwicklungsstadien - Frühentwicklung - Organogenese - Klinik.* München: Elsevier, Urban & Fischer 2007.
7. Erlebacher A. Immunology of the maternal-fetal interface. *Annu Rev Immunol.* 2013;31:387-411. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-100003.
8. Huppertz B, Peeters LL. Vascular biology in implantation and placentation. *Angiogenesis.* 2005;8(2):157-67. doi: 10.1007/s10456-005-9007-8.
9. Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta.* 1980;1(1):3-19. doi: 10.1016/s0143-4004(80)80012-9.
10. Albrecht ED, Pepe GJ. Regulation of Uterine Spiral Artery Remodeling: a Review. *Reprod Sci.* 2020;27(10):1932-42. doi: 10.1007/s43032-020-00212-8.
11. Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. *J Pathol Bacteriol.* 1967;93(2):569-79. doi: 10.1002/path.1700930218.
12. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod.* 2003;69(1):1-7. doi: 10.1095/biolreprod.102.014977.
13. Fonseca BM, Correia-da-Silva G, Teixeira NA. The rat as an animal model for fetoplacental development: a reappraisal of the post-implantation period. *Reprod Biol.* 2012;12(2):97-118. doi: 10.1016/s1642-431x(12)60080-1.

14. Soares MJ, Chakraborty D, Karim Rumi MA, Konno T, Renaud SJ. Rat placentation: an experimental model for investigating the hemochorial maternal-fetal interface. *Placenta*. 2012;33(4):233-43. doi: 10.1016/j.placenta.2011.11.026.
15. Carter AM. Animal models of human placentation--a review. *Placenta*. 2007;28 Suppl A:S41-7. doi: 10.1016/j.placenta.2006.11.002.
16. Georgiades P, Ferguson-Smith AC, Burton GJ. Comparative developmental anatomy of the murine and human definitive placentae. *Placenta*. 2002;23(1):3-19. doi: 10.1053/plac.2001.0738.
17. Soares MJ, Chapman BM, Rasmussen CA, Dai G, Kamei T, Orwig KE. Differentiation of trophoblast endocrine cells. *Placenta*. 1996;17(5-6):277-89. doi: 10.1016/s0143-4004(96)90051-x.
18. Adamson SL, Lu Y, Whiteley KJ, Holmyard D, Hemberger M, Pfarrer C, Cross JC. Interactions between trophoblast cells and the maternal and fetal circulation in the mouse placenta. *Dev Biol*. 2002;250(2):358-73. doi: 10.1016/s0012-1606(02)90773-6.
19. Caluwaerts S, Vercruyse L, Luyten C, Pijnenborg R. Endovascular trophoblast invasion and associated structural changes in uterine spiral arteries of the pregnant rat. *Placenta*. 2005;26(7):574-84. doi: 10.1016/j.placenta.2004.09.007.
20. Colella M, Frerot A, Novais ARB, Baud O. Neonatal and Long-Term Consequences of Fetal Growth Restriction. *Curr Pediatr Rev*. 2018;14(4):212-8. doi: 10.2174/1573396314666180712114531.
21. Intrauterine growth restriction. Guideline of the German Society of Gynecology and Obstetrics (S2k, AWMF-Registry-No.: 015/080, October 2016). Available from: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/015-080.html>. (Accessed 30 November 2021).
22. Sankaran S, Kyle PM. Aetiology and pathogenesis of IUGR. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2009;23(6):765-77. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2009.05.003.
23. Fetal growth restriction. ACOG Practice Bulletin No. 204. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2019 133(2):e97-e109. doi: 10.1097/AOG.0000000000003070.
24. Yung HW, Calabrese S, Hynx D, Hemmings BA, Cetin I, Charnock-Jones DS, Burton GJ. Evidence of placental translation inhibition and endoplasmic reticulum stress in the etiology of human intrauterine growth restriction. *Am J Pathol*. 2008;173(2):451-62. doi: 10.2353/ajpath.2008.071193.
25. Rosenberg A. The IUGR newborn. *Semin Perinatol*. 2008;32(3):219-24. doi: 10.1053/j.semperi.2007.11.003.
26. Pallotto EK, Kilbride HW. Perinatal outcome and later implications of intrauterine growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*. 2006;49(2):257-69. doi: 10.1097/00003081-200606000-00008.

27. Kesavan K, Devaskar SU. Intrauterine Growth Restriction: Postnatal Monitoring and Outcomes. *Pediatr Clin North Am.* 2019;66(2):403-23. doi: 10.1016/j.pcl.2018.12.009.
28. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond).* 1998;95(2):115-28.
29. Burton GJ, Fowden AL, Thornburg KL. Placental Origins of Chronic Disease. *Physiol Rev.* 2016;96(4):1509-65. doi: 10.1152/physrev.00029.2015.
30. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension.* 2008;51(4):970-5. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.107607.
31. Ness RB, Sibai BM. Shared and disparate components of the pathophysiologies of fetal growth restriction and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(1):40-9. doi: 10.1016/j.ajog.2005.07.049.
32. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin Summary, Number 222. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2020;135(6):1492-5. doi: 10.1097/AOG.0000000000003892.
33. Hypertensive Pregnancy Disorders: Diagnosis and Therapy. Guideline of the German Society of Gynecology and Obstetrics (S2k-Level, AWMF-Registry No. 015/018, March 2019). Available from: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/015-018.html> (Accessed 5 May 2021).
34. Bastida-Ruiz D, Aguilar E, Ditisheim A, Yart L, Cohen M. Endoplasmic reticulum stress responses in placentation - A true balancing act. *Placenta.* 2017;57:163-9. doi: 10.1016/j.placenta.2017.07.004.
35. Jena MK, Sharma NR, Petitt M, Maulik D, Nayak NR. Pathogenesis of Preeclampsia and Therapeutic Approaches Targeting the Placenta. *Biomolecules.* 2020;10(6). doi: 10.3390/biom10060953.
36. Erez O, Romero R, Maymon E, Chaemsaihong P, Done B, Pacora P, Panaitescu B, Chaiworapongsa T, Hassan SS, Tarca AL. The prediction of late-onset preeclampsia: Results from a longitudinal proteomics study. *PLoS One.* 2017;12(7):e0181468. doi: 10.1371/journal.pone.0181468.
37. Redman CW. The endoplasmic reticulum stress of placental impoverishment. *Am J Pathol.* 2008;173(2):311-4. doi: 10.2353/ajpath.2008.080412.
38. Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circ Res.* 2019;124(7):1094-112. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276.
39. Schwarz DS, Blower MD. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73(1):79-94. doi: 10.1007/s00018-015-2052-6.

40. Bravo R, Parra V, Gatica D, Rodriguez AE, Torrealba N, Paredes F, Wang ZV, Zorzano A, Hill JA, Jaimovich E, et al. Endoplasmic reticulum and the unfolded protein response: dynamics and metabolic integration. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2013;301:215-90. doi: 10.1016/B978-0-12-407704-1.00005-1.
41. Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol.* 2015;10:173-94. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104649.
42. Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature.* 2008;454(7203):455-62. doi: 10.1038/nature07203.
43. Cnop M, Fougere F, Velloso LA. Endoplasmic reticulum stress, obesity and diabetes. *Trends Mol Med.* 2012;18(1):59-68. doi: 10.1016/j.molmed.2011.07.010.
44. Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest.* 2005;115(10):2656-64. doi: 10.1172/JCI26373.
45. Schroder M, Kaufman RJ. ER stress and the unfolded protein response. *Mutat Res.* 2005;569(1-2):29-63. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2004.06.056.
46. Burton GJ, Yung HW, Cindrova-Davies T, Charnock-Jones DS. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta.* 2009;30 Suppl A:S43-8. doi: 10.1016/j.placenta.2008.11.003.
47. Ni M, Lee AS. ER chaperones in mammalian development and human diseases. *FEBS Lett.* 2007;581(19):3641-51. doi: 10.1016/j.febslet.2007.04.045.
48. National Center for Biotechnology Information. ERN1 endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1 [Homo sapiens (human)] 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/genes/2081/> Gene-ID 2081. (Accessed 10 November 2021).
49. Iwawaki T, Akai R, Yamanaka S, Kohno K. Function of IRE1 alpha in the placenta is essential for placental development and embryonic viability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(39):16657-62. doi: 10.1073/pnas.0903775106.
50. Vatter KM, Wek RC. Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(31):11269-74. doi: 10.1073/pnas.0400541101.
51. Lin JH, Li H, Zhang Y, Ron D, Walter P. Divergent effects of PERK and IRE1 signaling on cell viability. *PLoS One.* 2009;4(1):e4170. doi: 10.1371/journal.pone.0004170.
52. Taysi S, Tascan AS, Ugur MG, Demir M. Radicals, Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia. *Mini Rev Med Chem.* 2019;19(3):178-93. doi: 10.2174/1389557518666181015151350.
53. Vo T, Hardy DB. Molecular mechanisms underlying the fetal programming of adult disease. *J Cell Commun Signal.* 2012;6(3):139-53. doi: 10.1007/s12079-012-0165-3.

54. Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(12):2277-93. doi: 10.1089/ars.2007.1782.
55. Schoots MH, Gordijn SJ, Scherjon SA, van Goor H, Hillebrands JL. Oxidative stress in placental pathology. *Placenta*. 2018;69:153-61. doi: 10.1016/j.placenta.2018.03.003.
56. Teixeira D, Fernandes R, Prudencio C, Vieira M. 3-Nitrotyrosine quantification methods: Current concepts and future challenges. *Biochimie*. 2016;125:1-11. doi: 10.1016/j.biochi.2016.02.011.
57. Breitzig M, Bhimineni C, Lockey R, Kolliputi N. 4-Hydroxy-2-nonenal: a critical target in oxidative stress? *Am J Physiol Cell Physiol*. 2016;311(4):C537-C43. doi: 10.1152/ajpcell.00101.2016.
58. Cao SS, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in cell fate decision and human disease. *Antioxid Redox Signal*. 2014;21(3):396-413. doi: 10.1089/ars.2014.5851.
59. Dandekar A, Mendez R, Zhang K. Cross talk between ER stress, oxidative stress, and inflammation in health and disease. *Methods Mol Biol*. 2015;1292:205-14. doi: 10.1007/978-1-4939-2522-3_15.
60. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, Nagata K, Harding HP, Ron D. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev*. 2004;18(24):3066-77. doi: 10.1101/gad.1250704.
61. Burton GJ, Yung HW, Murray AJ. Mitochondrial - Endoplasmic reticulum interactions in the trophoblast: Stress and senescence. *Placenta*. 2017;52:146-55. doi: 10.1016/j.placenta.2016.04.001.
62. Kawakami T, Yoshimi M, Kadota Y, Inoue M, Sato M, Suzuki S. Prolonged endoplasmic reticulum stress alters placental morphology and causes low birth weight. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;275(2):134-44. doi: 10.1016/j.taap.2013.12.008.
63. Du L, He F, Kuang L, Tang W, Li Y, Chen D. eNOS/iNOS and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the placentas of patients with preeclampsia. *J Hum Hypertens*. 2017;31(1):49-55. doi: 10.1038/jhh.2016.17.
64. Yung HW, Hemberger M, Watson ED, Senner CE, Jones CP, Kaufman RJ, Charnock-Jones DS, Burton GJ. Endoplasmic reticulum stress disrupts placental morphogenesis: implications for human intrauterine growth restriction. *J Pathol*. 2012;228(4):554-64. doi: 10.1002/path.4068.
65. Mizuuchi M, Cindrova-Davies T, Olovsson M, Charnock-Jones DS, Burton GJ, Yung HW. Placental endoplasmic reticulum stress negatively regulates transcription of placental growth factor via ATF4 and ATF6beta: implications for the pathophysiology

- of human pregnancy complications. *J Pathol.* 2016;238(4):550-61. doi: 10.1002/path.4678.
66. Surbek D, Hodel, M., Baumann, M., Lapaire, O. Anwendung des sFlt-1/PlGF Tests zur Präeklampsie-Diagnostik, Expertenbrief No 67: Schweizerische Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe; 2019. Available from: https://www.sggg.ch/fileadmin/user_upload/67_Diagnostik_Praeeklampsie.pdf. (Accessed 29 November 2021).
 67. Lian IA, Loset M, Mundal SB, Fenstad MH, Johnson MP, Eide IP, Bjorge L, Freed KA, Moses EK, Austgulen R. Increased endoplasmic reticulum stress in decidual tissue from pregnancies complicated by fetal growth restriction with and without pre-eclampsia. *Placenta.* 2011;32(11):823-9. doi: 10.1016/j.placenta.2011.08.005.
 68. Guzel E, Arlier S, Guzeloglu-Kayisli O, Tabak MS, Ekiz T, Semerci N, Larsen K, Schatz F, Lockwood CJ, Kayisli UA. Endoplasmic Reticulum Stress and Homeostasis in Reproductive Physiology and Pathology. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4). doi: 10.3390/ijms18040792.
 69. Chu A, Thamocharan S, Ganguly A, Wadehra M, Pellegrini M, Devaskar SU. Gestational food restriction decreases placental interleukin-10 expression and markers of autophagy and endoplasmic reticulum stress in murine intrauterine growth restriction. *Nutr Res.* 2016;36(10):1055-67. doi: 10.1016/j.nutres.2016.08.001.
 70. Menendez-Castro C, Fahlbusch F, Cordasic N, Amann K, Munzel K, Plank C, Wachtveitl R, Rascher W, Hilgers KF, Hartner A. Early and late postnatal myocardial and vascular changes in a protein restriction rat model of intrauterine growth restriction. *PLoS One.* 2011;6(5):e20369. doi: 10.1371/journal.pone.0020369.
 71. Kalisch-Smith JI, Simmons DG, Dickinson H, Moritz KM. Review: Sexual dimorphism in the formation, function and adaptation of the placenta. *Placenta.* 2017;54:10-6. doi: 10.1016/j.placenta.2016.12.008.
 72. Mocker A, Schmidt M, Huebner H, Wachtveitl R, Cordasic N, Menendez-Castro C, Hartner A, Fahlbusch FB. Expression of Retinoid Acid Receptor-Responsive Genes in Rodent Models of Placental Pathology. *Int J Mol Sci.* 2019;21(1). doi: 10.3390/ijms21010242.
 73. Schmidt M, Rauh M, Schmid MC, Huebner H, Ruebner M, Wachtveitl R, Cordasic N, Rascher W, Menendez-Castro C, Hartner A, et al. Influence of Low Protein Diet-Induced Fetal Growth Restriction on the Neuroplacental Corticosterone Axis in the Rat. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:124. doi: 10.3389/fendo.2019.00124.
 74. Kulandavelu S, Whiteley KJ, Qu D, Mu J, Bainbridge SA, Adamson SL. Endothelial nitric oxide synthase deficiency reduces uterine blood flow, spiral artery elongation, and

- placental oxygenation in pregnant mice. *Hypertension*. 2012;60(1):231-8. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.187559.
75. Hefler LA, Reyes CA, O'Brien WE, Gregg AR. Perinatal development of endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Biol Reprod*. 2001;64(2):666-73. doi: 10.1095/biolreprod64.2.666.
 76. Van der Heijden OW, Essers YP, Fazzi G, Peeters LL, De Mey JG, van Eys GJ. Uterine artery remodeling and reproductive performance are impaired in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. *Biol Reprod*. 2005;72(5):1161-8. doi: 10.1095/biolreprod.104.033985.
 77. Podjarny E, Losonczy G, Baylis C. Animal models of preeclampsia. *Semin Nephrol*. 2004;24(6):596-606. doi: 10.1016/s0270-9295(04)00131-7.
 78. Kusinski LC, Stanley JL, Dilworth MR, Hirt CJ, Andersson IJ, Renshall LJ, Baker BC, Baker PN, Sibley CP, Wareing M, et al. eNOS knockout mouse as a model of fetal growth restriction with an impaired uterine artery function and placental transport phenotype. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012;303(1):R86-93. doi: 10.1152/ajpregu.00600.2011.
 79. Pallares P, Gonzalez-Bulnes A. Intrauterine growth retardation in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice is established from early stages of pregnancy. *Biol Reprod*. 2008;78(6):1002-6. doi: 10.1095/biolreprod.107.066159.
 80. Gu S, Shen H, Zhou Y, Ni J, Zheng T, Mou Z, Hua X. Tetramethylpyrazine reduces the consequences of nitric oxide inhibition in pregnant rats. *J Cell Physiol*. 2019;234(11):19799-806. doi: 10.1002/jcp.28579.
 81. Grigsby PL. Animal Models to Study Placental Development and Function throughout Normal and Dysfunctional Human Pregnancy. *Semin Reprod Med*. 2016;34(1):11-6. doi: 10.1055/s-0035-1570031.
 82. Deodati A, Argemi J, Germani D, Puglianiello A, Alisi A, De Stefanis C, Ferrero R, Nobili V, Aragon T, Cianfarani S. The exposure to uteroplacental insufficiency is associated with activation of unfolded protein response in postnatal life. *PLoS One*. 2018;13(6):e0198490. doi: 10.1371/journal.pone.0198490.
 83. Riddle ES, Campbell MS, Lang BY, Bierer R, Wang Y, Bagley HN, Joss-Moore LA. Intrauterine growth restriction increases TNF alpha and activates the unfolded protein response in male rat pups. *J Obes*. 2014;2014:829862. doi: 10.1155/2014/829862.
 84. Wong MK, Holloway AC, Hardy DB. Nicotine Directly Induces Endoplasmic Reticulum Stress Response in Rat Placental Trophoblast Giant Cells. *Toxicol Sci*. 2016;151(1):23-34. doi: 10.1093/toxsci/kfw019.
 85. Yung HW, Alnaes-Katjavivi P, Jones CJ, El-Bacha T, Golic M, Staff AC, Burton GJ. Placental endoplasmic reticulum stress in gestational diabetes: the potential for

therapeutic intervention with chemical chaperones and antioxidants. *Diabetologia*. 2016;59(10):2240-50. doi: 10.1007/s00125-016-4040-2.

8 Abkürzungsverzeichnis

ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
AKT	Proteinkinase B
ATF4	Activating transcription factor 4
ATF6	Activating transcription factor 6
ATP	Adenosintriphosphat
BiP	Immunoglobulin heavy chain-binding protein
bZIP	Basic leucine zipper-Domäne
CHOP	C/EBP-homologous protein
DGGG	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe
eIF2α	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit α
eNOS	Endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERAD	ER-assoziiertes Degradationssystem
Ern1	Endoplasmic Reticulum to Nucleus Signaling 1
EVT	Extravillöser Trophoblast
GRP78	78 kDa glucose-regulated protein
GRP48	48 kDa glucose-regulated protein
hCG	Humanes Choriongonadotropin
HNE	4-Hydroxy-2-nonenal
IHC	Immunhistochemie/ Immunhistochemistry
Igf-2	Insulin-like growth factor 2
IRE1	Inositol-requiring enzyme 1
I/R	Ischämie/Reperfusionseignis
IUGR	Intrauterine Wachstumsrestriktion
JNK	C-Jun N-terminal kinase
LP	Low Protein (IUGR-Gruppe)
mTOR	Mammalian target of rapamycin
NF-κB	Nuclear factor kappa B
NO	Stickstoffmonoxid
NP	Normal Protein (Kontrollgruppe)
PE	Präeklampsie
PERK	PKR-like endoplasmic reticulum kinase
PIGF	Placental growth factor
RNS	Reactive nitrogen species
ROS	Reactive oxygen species

<i>RT-PCR</i>	Real-time Polymerasekettenreaktion/ Real-time polymerase chain reaction
<i>sFlt-1</i>	Soluble Fms-like tyrosin kinase-1
<i>UPR</i>	Unfolded protein response
<i>VEGF-A</i>	Vascular endothelial growth factor A
<i>WT</i>	Wild type
<i>XBP1</i>	X-box-binding protein 1

9 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Joachim Wölfle für die Ermöglichung meiner Forschung an der Kinder- und Jugendklinik. Frau Prof. A. Hartner und Herrn PD Dr. med. F. B. Fahlbusch danke ich für die Bereitstellung des Themas und die Aufnahme in ihre Arbeitsgemeinschaft. Ihre Betreuung während der Durchführung meiner Dissertation zeichnete sich durch Offenheit für sämtliche Fragen und Probleme aus sowie durch das Vermitteln wissenschaftlicher Motivation.

Ich möchte allen Mitarbeitern des nephrologischen Forschungslabors in der Loschgestraße danken, die mir bei der Durchführung meiner Versuche mit Rat und Tat zur Seite standen. Ein besonderer Dank gilt R. Wachtveitl und M. Kupraszewicz-Hutzler für ihre geduldige Einarbeitung und Betreuung im Labor. Ebenso danke ich Alexander Mocker für zahlreiche Hilfestellungen im Labor sowie für seine thematischen Vorarbeiten.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Eltern danken, die mir das Studium ermöglichten und auf deren Unterstützung ich mich immer verlassen kann. Ich danke Lukas für seine geduldige und kontinuierliche Unterstützung seit Beginn der Arbeit.