

Y. Garnier<sup>1,2</sup>  
M. Gantert<sup>1,2</sup>  
R. Berger<sup>2</sup>

# Perinatale Hirnschädigung: Bedeutung der intrauterinen Infektion

## *Perinatal Brain Damage: The Significance of Intrauterine Infection*

### Zusammenfassung

Klinische und epidemiologische Studien weisen auf eine wichtige Rolle perinataler Infektionen in der Genese fetaler und neonataler Schädigungen hin. Eine Chorioamnionitis ist nicht nur von wesentlicher Bedeutung für die Entwicklung einer Frühgeburt, sondern erhöht auch das Risiko perinataler Hirnschäden. Im Vordergrund stehen neben der peri- und intraventrikulären Hirnblutung, insbesondere Läsionen der weißen Hirnsubstanz, die so genannte periventrikuläre Leukomalazie. Diese wird heute als wesentliche Ursache für die spätere Ausbildung einer spastischen Zerebralparese angesehen. Bakterielle Endotoxine und im Körper freigesetzte proinflammatorische Zytokine spielen eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der infektionsvermittelten perinatalen Hirnschädigung. Sie verursachen eine schwere Beeinträchtigung der fetalen Herz-Kreislauf-Regulation mit Abfall des zerebralen Sauerstofftransportes, führen zu einer direkten Schädigung der weißen Hirnsubstanz und scheinen das unreife Gehirn gegenüber einer Sauerstoffmangelsituation zu sensibilisieren. Die Aufklärung der pathophysiologischen Mechanismen im Rahmen einer intrauterinen Infektion des Feten könnte entscheidend dazu beitragen, die Inzidenz perinatal erworbener Hirnschäden und somit die Morbidität der betroffenen Kinder zu senken.

### Abstract

There is a growing body of evidence from clinical and epidemiological studies that in utero exposure to infection plays an important role in the pathogenesis of fetal or neonatal morbidity leading to cerebral palsy. Thus, after chorioamnionitis the incidence of immature neonates suffering from periventricular white matter damage and peri- or intraventricular hemorrhage is significantly increased. Reports of elevated cytokine levels in both neonatal blood and amniotic fluid in children with cerebral palsy support the notion that cerebral palsy is preceded by a perinatal inflammatory disease. However, the mechanisms that link perinatal infection to cerebral palsy and hypoxic-ischemic encephalopathy have not been fully identified. A variety of studies support the view that proinflammatory cytokines released during intrauterine infection directly cause injury in the immature brain. On the other hand, the susceptibility of the fetus to infection and the type of neurologic sequelae change with gestational age and hence depend in part on the timing of the insult relative to the stage of maturation of both central nervous system and cardiovascular function. In this review article we provide evidence that in-utero exposure to bacterial infection may severely alter fetal cardiovascular function, resulting in dysregulation of cerebral blood flow and subsequent hypoxic-ischemic brain injury.

### Institutsangaben

<sup>1</sup> Universitätsklinikum Aachen, Frauenklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Aachen

<sup>2</sup> Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Marienhaus Klinikum St. Elisabeth Neuwied, Neuwied

### Korrespondenzadresse

Dr. med. Yves Garnier PhD · Universitätsklinikum Aachen · Frauenklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe · Pauwelsstraße 30 · 52074 Aachen · E-mail: ygarnier@ukaachen.de

**Eingang Manuskript:** 29. 8. 2003 · **Eingang revidiertes Manuskript:** 31. 12. 2003 · **Akzeptiert:** 7. 1. 2003

### Bibliografie

Geburtsh Frauenheilk 2004; 64: 464–472 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York · DOI 10.1055/s-2004-817833 · ISSN 0016-5751

## Einleitung

Trotz zahlreicher Fortschritte in der Perinatalmedizin ist die Prävalenz der infantilen Zerebralparese in den letzten 20 Jahren angestiegen [1]. Die Ätiologie dieses komplexen Krankheitsbildes ist bislang unvollständig aufgeklärt. Klinische und epidemiologische Studien belegen eine Assoziation zwischen antenataler intrauteriner Infektion und der Entwicklung von perinatalen Hirnschäden. Im Vordergrund stehen einerseits Schädigungen der weißen Hirnsubstanz (periventrikuläre Leukomalazie) und andererseits peri- bzw. intraventrikuläre Hirnblutungen [2,3]. Bei Neugeborenen- und Neonaten mit dokumentierter Infektion der Mutter zum Zeitpunkt der Geburt zeigt sich ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entstehung der periventrikulären Leukomalazie [4–7]. Dieses Schädigungsmuster wird heute als wesentliche Ursache für die spätere Entwicklung einer spastischen Zerebralparese angesehen [8]. Berichte über erhöhte Konzentrationen von proinflammatorischen Zytokinen sowohl im Blut [9,10] als auch im Fruchtwasser [11,12] von Kindern mit infantiler Zerebralparese legen die Vermutung nahe, dass diese Erkrankung auf einem inflammatorischen Prozess beruht. In der folgenden Übersicht werden die vorliegenden Daten zur Pathogenese der infektionsassoziierten perinatalen Hirnschädigung dargestellt. Besondere Berücksichtigung finden die infektionsassoziierte Einschränkung der fetalen Herz-Kreislauf-Regulation und direkt neurozytotoxische Effekte von Endotoxinen und proinflammatorischen Zytokinen.

## Definition und klinische Datenlage

Eine Chorioamnionitis ist eine Infektion der Gebärmutter und des Schwangerschaftsproduktes. Die Diagnose wird anhand von Fieber ( $> 38^\circ\text{C}$ ) und zwei oder mehr der folgenden Kriterien gestellt: Tachykardie der Mutter, Tachykardie des Feten, Schmerzhaftigkeit der Gebärmutter, übelriechendes Fruchtwasser oder mütterliche Leukozytose [13]. Die Inzidenz wird mit einer Bandbreite von 5–20% in der Literatur angegeben [14]. Histologisch ist die Chorioamnionitis durch das Vorhandensein von polymorphkernigen Infiltraten in Plazenta und Eihäuten gekennzeichnet. Betroffen sind 10% der termingerechten und bis zu 60% der frühgeburtlichen Schwangerschaften. Dashe et al. [15] zeigten in einem Frühgeborenenkollektiv, dass bei klinischer Chorioamnionitis diese auch in 80% histologisch nachweisbar war. Bei 20% der Patienten fand sich allerdings kein pathomorphologisches Korrelat. Darüber hinaus beobachteten Grether und Nelson, dass sowohl eine klinische als auch histologisch nachgewiesene Chorioamnionitis mit einem erhöhten Risiko für eine infantile Zerebralparese einhergehen (Odds Ratio 9,3; 95% Konfidenzintervall 2,7–31 für klinische Chorioamnionitis; Odds Ratio 8,9; 95% Konfidenzintervall 1,9–40 für histologische Chorioamnionitis). Eine kürzlich veröffentlichte Metaanalyse evaluierte den Zusammenhang von Chorioamnionitis und Zerebralparese bei termingerechten und frühgeborenen Neugeborenen [3]. Die Untersuchung belegte die positive Korrelation zwischen einer Chorioamnionitis und dem Auftreten sowohl einer periventrikulären Leukomalazie (Relatives Risiko 2,6; 95% Konfidenzintervall 1,7–3,9) als auch einer Zerebralparese (Relatives Risiko 1,9; 95% Konfidenzintervall 1,5–2,5).

Die perinatale Mortalität bei kongenitaler Sepsis variiert in Abhängigkeit des Gestationsalters zwischen 25 und 90% [16]. Bei Frühgeborenen vor der 33. SSW fand sich bei Vorliegen einer Chorioamnionitis und fetaler Sepsis eine Mortalitätsrate von 33% gegenüber 17% ohne Sepsis [17]. Eine fetale Bakteriämie wurde bei 33% der Fälle mit Amnion-Infektions-Syndrom gegenüber 4% bei keimfreiem Fruchtwasser beobachtet [18]. Daraus ist zu schließen, dass eine subklinische Infektion des Feten weit häufiger vorliegt, als traditionell angenommen wird.

## Übersicht der infektionsassoziierten perinatalen Hirnschädigung

In den vergangenen zwanzig Jahren haben zahlreiche experimentelle Studien die pathophysiologischen Mechanismen der perinatalen Hirnschädigung untersucht. Akute hypoxisch-ischämische Hirnläsionen in der Perinatalperiode werden überwiegend durch eine schwere intrauterine Asphyxie verursacht, die wiederum Folge einer akuten Reduktion der uterinen oder umbilikalischen Durchblutung ist [19]. Auf einen schweren Sauerstoffmangel reagiert der Fet nach Aktivierung des sympathikoadrenergen Systems mit einer Umverteilung des Herzminutenvolumens zugunsten der zentralen Organe (Gehirn, Herz und Nebennieren). Dauert der Sauerstoffmangel an, sinkt die zerebrale Perfusion. Die oxidative Phosphorylierung im Gehirn erliegt. Der membranständigen  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Pumpe steht keine Energie mehr zur Verfügung, um die Ionengradienten aufrechtzuerhalten. Nach Verlust des Membranpotenzials dringen über spannungsabhängige und glutamatgesteuerte Ionenkanäle große Mengen von Kalzium als Folge des hohen Konzentrationsgradienten in die Zelle ein. Diese so genannte Kalziumüberladung der Zelle vermittelt durch Aktivierung von Proteasen, Lipasen und Endonukleasen die neuronale Zellschädigung [20,21]. Auch in der Reperfusionphase, im Anschluss an eine zerebrale Ischämie, werden durch unterschiedliche Mechanismen die betroffenen Hirnareale geschädigt. Von besonderer Bedeutung sind hierbei die postischämische Freisetzung von Sauerstoffradikalen, die Synthese von Stickstoffmonoxid, entzündliche Reaktionen und ein Ungleichgewicht des exzitatorischen und inhibitorischen Neurotransmittersystems [19].

**Neurozytotoxische Wirkung von Endotoxinen und Zytokinen**  
Mittlerweile belegen experimentelle Untersuchungen eine direkte neurozytotoxische Wirkung von Endotoxinen und proinflammatorischen Zytokinen auf das fetale Gehirn. Insbesondere ist die periventrikuläre weiße Hirnsubstanz von Frühgeborenen unterhalb der 32. SSW betroffen.

Tierexperimentelle Studien zeigen einen Anstieg der Zytokinexpression im adulten Rattenhirn [22–24] und im fetalen Hippocampus nach Endotoxinexposition [25]. Insbesondere der Anstieg der  $\text{TNF-}\alpha$ -Expression korreliert mit der Entstehung fetaler und neonataler Hirnschäden [26]. Die Applikation von Endotoxin in Form von Lipopolysaccharid (LPS) induziert bei fetalen Ratten neben einer gesteigerten Expression von  $\text{IL-1}\beta$  und  $\text{TNF-}\alpha$  eine Schädigung der weißen Hirnsubstanz [27]. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei Kaninchenfeten [28] und neugeborenen Katzen nach intrauteriner Infektion mit Bakteriämie bzw. intraperitonealer Injektion von LPS beobachtet [29]. Wie bereits erwähnt,

steigt die Rate der periventrikulären Leukomalazie bei Frühgeborenen mit nachgewiesener intrauteriner Infektion signifikant an. Diskutiert wird eine gestörte Markscheidenreifung im Bereich der periventrikulären weißen Hirnsubstanz durch inflammatorische Prozesse. Insbesondere scheint die Ausreifung von Oligodendrozytenvorläuferstufen zu markscheidenbildenden Oligodendrozyten durch erhöhte Zytokinkonzentrationen gestört zu sein [2, 30]. Interessanterweise stimulieren niedrige TNF- $\alpha$ -Konzentrationen in glialen Zellkulturen Wachstum und Differenzierung von Oligodendrozyten, während hohe Konzentrationen zytotoxisch wirken [31, 32]. In aufgereinigten Zellkulturen von Oligodendrozytenvorläuferstufen wirkt die kombinierte Applikation von TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  bereits bei niedrigen Konzentrationen zytotoxisch und inhibiert die Ausdifferenzierung der überlebenden Zellen [33]. Die daraus resultierende Störung der Myelinisierung wird heute als wesentliche Ursache für die Entwicklung der periventrikulären Leukomalazie diskutiert.

**Endotoxine sensibilisieren das fetale Gehirn gegenüber Sauerstoffmangel**

Eine intrauterine Infektion ist perinatal häufig mit einer fetalen Hypoxämie assoziiert. Große Bedeutung kommt deshalb der Frage zu, ob das fetale Gehirn durch eine zuvor bestehende Infektion gegenüber einer nachfolgenden Sauerstoffmangelsituation sensibilisiert wird. Eklind et al. [34] konnten nachweisen, dass die intraperitoneale Applikation von Endotoxin (LPS) das fetale Rattenhirn gegenüber einem nachfolgenden hypoxisch-ischämischen Insult sensibilisiert. Ebenfalls bei neonatalen Ratten induzierte die intrazisternale Applikation von LPS eine Vergrößerung des Infarktareals nach zerebraler Hypoxie-Ischämie [35]. Diese Untersuchungen deuten darauf hin, dass das fetale Gehirn im Rahmen einer intrauterinen Infektion gegenüber einem Sauerstoffmangel sensibilisiert wird.

**Einschränkung der fetalen Herz-Kreislauf-Regulation während intrauteriner Infektion**

**Endotoxininduzierter fetaler Kreislaufschock**

Neben einer direkten zytotoxischen Wirkung von Endotoxinen und proinflammatorischen Zytokinen auf das fetale Gehirn ist die infektionsassoziierte Beeinträchtigung des fetalen Herz-Kreislauf-Systems für die perinatale Morbidität der betroffenen Kinder von wesentlicher Bedeutung (Abb. 1). Lipopolysaccharide (LPS), die während einer Infektion aus der Zellwand gramnegativer Bakterien freigesetzt werden, induzieren schwerwiegende Kreislaufalterationen. Tierexperimentelle Studien haben die Auswirkungen von intravenös applizierten LPS auf die fetale kardiovaskuläre Funktion untersucht. Die i. v. Applikation von LPS (*E. coli*; 53  $\pm$  3  $\mu$ g/kg fetales KG) bewirkte bei unreifen Schaffeten einen schweren Abfall der placentaren Perfusion, während die Durchblutung der peripheren Organe anstieg (Abb. 2) [36]. Daraus resultierte eine Hypoxämie mit Azidämie. Wurden die Tiere zusätzlich einer 2-minütigen intrauterinen Asphyxie ausgesetzt, entwickelte sich eine schwere Kreislauf-Dezentralisation, d. h. die Perfusion der lebenswichtigen zentralen Organe wie Gehirn, Herz und Nebennieren fiel ab, während die Durchblutung der peripheren Organe und der Lunge drastisch anstieg. Aufgrund der persistierenden Einschränkung der placentaren Perfusion entwickelte sich ein prolongierter Abfall des zerebralen Sauerstofftransportes.

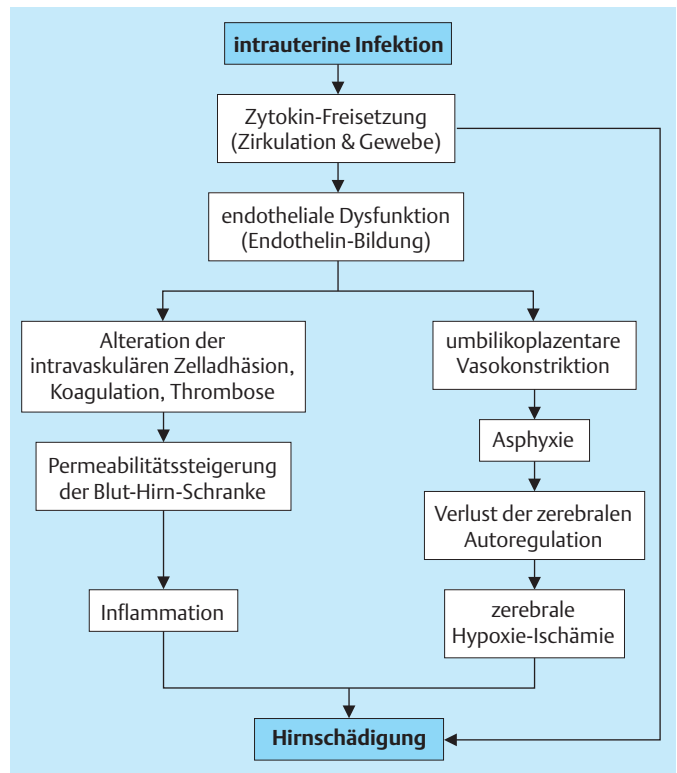


Abb. 1 Pathogenese der infektionsassoziierten perinatalen Hirnschädigung.

Bei intakter Kreislaufregulation resultiert aus einem Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung eine Vasodilatation im zerebralen Stromgebiet [37, 38]. Interessanterweise scheint dieser physiologische Kompensationsmechanismus, die so genannte zerebrale Autoregulation, durch die Gabe von LPS beeinträchtigt zu sein. Ein wesentlicher Grund liegt in der schweren LPS-induzierten Hypotension während und nach intrauteriner Hypoxie. Bei einem Abfall des arteriellen Mitteldrucks unter 25–30 mmHg kommt es zu einem zunehmenden Verlust der zerebralen Autoregulation. Betroffen von der sich daraus entwickelnden zerebralen Hypoxie-Ischämie sind vorwiegend die Parasagittalregion des Großhirns und die periventrikuläre weiße Hirnsubstanz.

Im Gegensatz zu unreifen Feten, die aufgrund der eingeschränkten Fähigkeit zur zerebralen Vasodilatation im Sauerstoffmangel einem erhöhten Risiko für hypoxisch-ischämische Läsionen ausgesetzt sind, sind reife Feten bei intakter zerebraler Autoregulation weniger empfindlich gegenüber einer intrauterinen Hypoxie [37]. Darüber hinaus scheint das ausgereifte fetale kardiovaskuläre System gegenüber einer intrauterinen Infektion weniger sensibel zu sein. Tierexperimentell wurde nachgewiesen, dass eine i. v. Applikation von LPS (*E. coli*; 50  $\mu$ g/kg fetales KG) die fetale kardiovaskuläre Funktion während und kurz nach einer intrauterinen Hypoxie zwar beeinflusst, diese Auswirkungen aber gegenüber unreifen Tieren weitaus weniger gravierend waren [36, 39]. Nach der LPS-Injektion resultierte ein Anstieg des arteriellen Blutdruckes und der Plasmakonzentrationen von Glukose, Laktat, Katecholaminen, Vasopressin und Angiotensin II. Die Durchblutung von Gehirn und Plazenta fiel ab, während sie zu Lunge, Herz, Gastrointestinaltrakt, Pankreas und Leber anstieg. Während zusätzlicher intrauteriner Asphyxie war die fetale

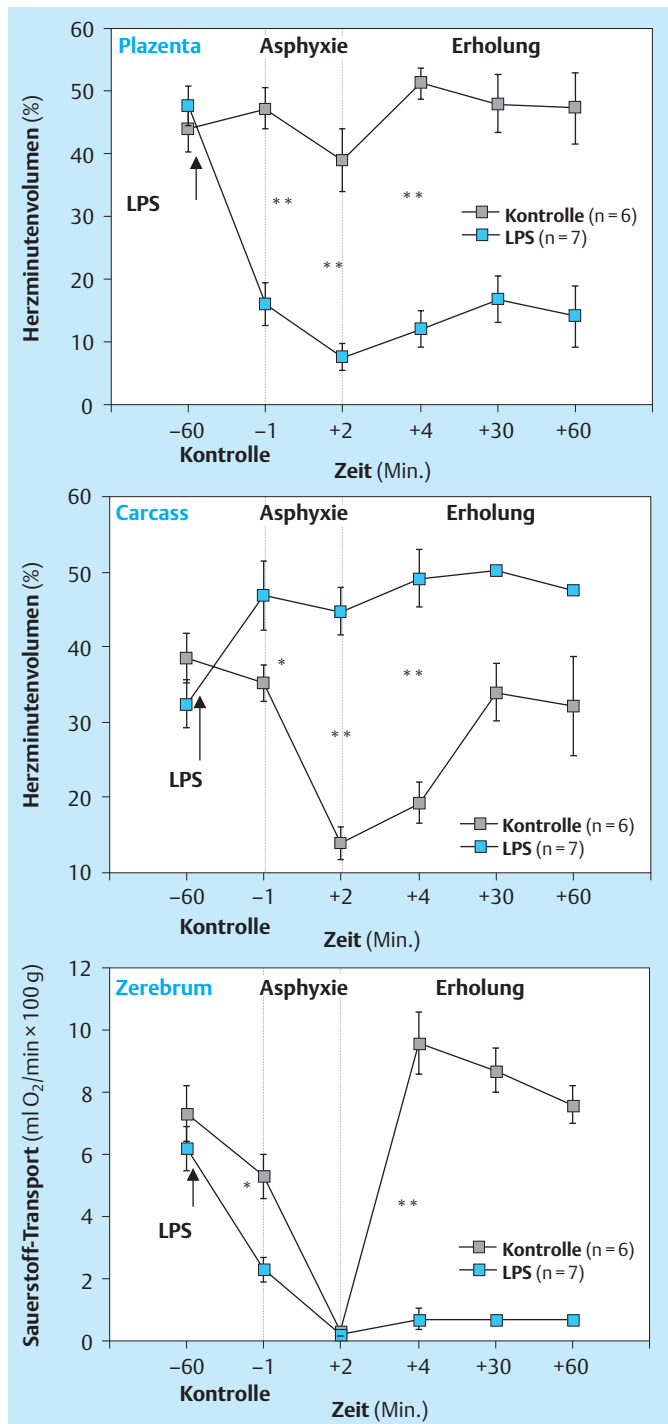


Abb. 2 Fetaler Endotoxinschock. Plazentarer und peripherer Blutfluss bei unreifen Schaffeten (entsprechend der 32. SSW des Menschen) dargestellt als prozentuales Herzminutenvolumen vor, während und nach 2-minütiger intrauteriner Asphyxie. Die Tiere der Versuchsgruppe erhielten eine Stunde vor Asphyxie Endotoxin (LPS; *E. coli*;  $53 \pm 3 \mu\text{g/kg KG}$  i.v.). Nach Gabe von LPS nahm der plazentare Blutfluss signifikant ab, während die periphere Durchblutung des Feten anstieg. Die Kombination aus Endotoxämie und Asphyxie resultierte in einer fetalen Kreislauf-Dezentralisation mit plazentarer Hypo- und peripherer Hyperperfusion. Als Zeichen einer gestörten zerebralen Autoregulation fiel der Sauerstofftransport zum fetalen Gehirn bereits während Normoxie signifikant ab und erholte sich auch nicht im Anschluss an die Asphyxie [36]. Mittelwerte  $\pm$  SD. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  (LPS vs. Kontrolle).

Kreislaufzentralisation beeinträchtigt, so dass der Anstieg der Hirndurchblutung im Sauerstoffmangel nicht erfolgte. Im Gegensatz zu den unreifen Tieren waren diese pathophysiologischen Veränderungen weniger ausgeprägt und innerhalb von zwei Stunden reversibel [36,39].

### Langfristige Kreislaufveränderungen nach Endotoxinapplikation

Die Wirkung von niedrigen Endotoxinkonzentrationen auf die kardiovaskuläre Integrität wurde bei unreifen Schaffeten über mehrere Tage untersucht. Die i.v. Applikation von LPS (*E. coli*;  $100 \text{ ng/kg}$  fetales KG) verursachte einen lang anhaltenden Abfall der plazentaren Perfusion mit chronischer Hypoxämie [40,41]. Die Plazentadurchblutung fiel eine Stunde nach LPS-Gabe ab und erreichte das Minimum ( $-40\%$ ) nach vier bis sechs Stunden (Abb. 3). In diesem Zeitraum stieg der plazentare Gefäßwiderstand um  $75\%$ . In den folgenden 12–18 Stunden erholten sich diese Parameter, erreichten bis zum Ende der Untersuchung allerdings nicht mehr das Niveau der Kontrolltiere. Sowohl die fetale Herzfrequenz als auch der arterielle Mitteldruck stiegen 4 bis 5 Stunden nach LPS-Infusion an und blieben für die folgenden 12 Stunden erhöht.

Harding et al. untersuchten ebenfalls die Wirkung von sehr geringen LPS-Dosen bei unreifen Schaffeten, unter besonderer Berücksichtigung der plazentaren und zerebralen Durchblutung [42]. Der Abfall der umbilikoplazentaren Durchblutung beeinträchtigte die fetale Oxygenierung mit chronischer Hypoxie und Azidose. Auch in dieser Untersuchung wurde die zerebrale Autoregulation durch Endotoxin negativ beeinflusst, so dass während Hypoxie ein prolongierter Abfall des zerebralen Sauerstofftransportes auftrat. Aufgrund dieser Kreislaufveränderungen entwickelten sich unterschiedliche neuronale Schadensmuster. Die morphologischen Veränderungen reichten von einer diffusen subkortikalen Schädigung bis hin zur zystischen periventriculären Leukomalazie [40,43].

### Pathogenese der infektionsassoziierten fetalen Herz-Kreislauf-Alterationen

Kennzeichnend für eine Sepsis ist das heterogene Muster von Vasokonstriktion und Vasodilatation in unterschiedlichen Organsystemen. Durch die Vasoparalyse kommt es zum Abfall des peripheren Gefäßwiderstandes und somit einer regionalen Minderdurchblutung. Diese gravierenden Veränderungen werden durch vasoaktive Substanzen, wie Stickstoffmonoxid (NO), Prostacyclin ( $\text{PGI}_2$ ), Angiotensin II und Endothelin vermittelt. Aufgrund der klinischen und experimentellen Datenlage kommen der unkontrollierten Freisetzung von NO und Endothelin eine zentrale pathogenetische Bedeutung im Rahmen der infektionsassoziierten fetalen Herz-Kreislauf-Veränderungen zu.

### Stickstoffmonoxid (NO) in der fetalen Herz-Kreislauf-Regulation

NO ist als vasodilatatorischer Mediator entscheidend an der Regulation von Gefäßtonus und Blutdruck beteiligt [44]. Darüber hinaus spielt NO während einer Hypoxie eine wichtige Rolle in der fetalen Kreislaufsteuerung und ist wesentlich an der Kreislaufzentralisation während einer intrauterinen Sauerstoffman-

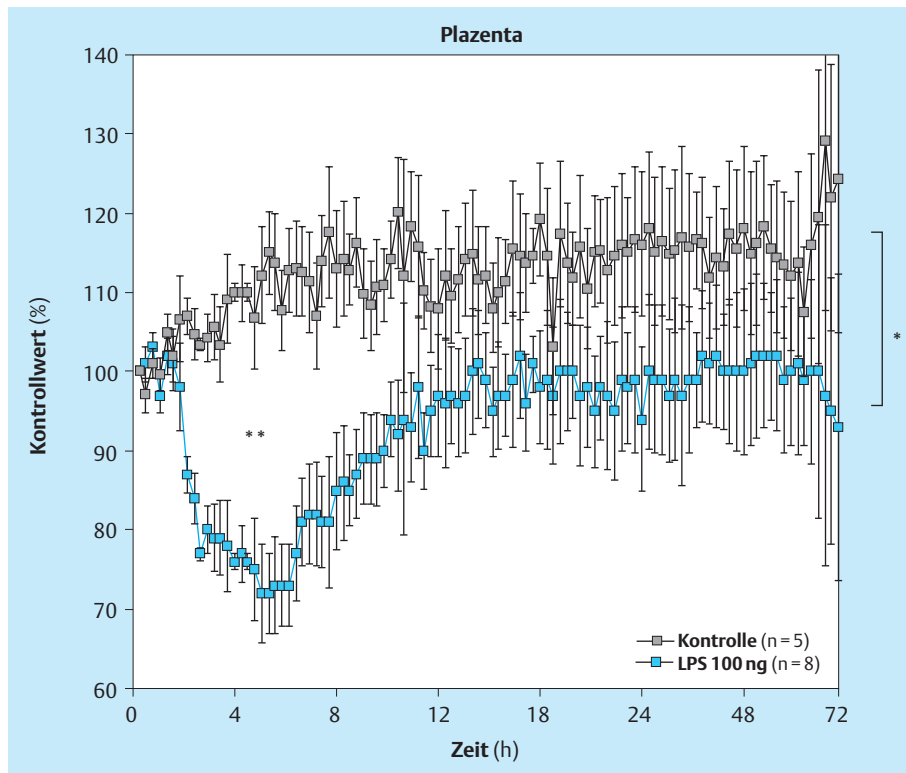


Abb. 3 Chronische Kreislaufveränderungen nach Endotoxin. Plazentarer Blutfluss bei unreifen Schaffeten (entsprechend der 32. SSW des Menschen) dargestellt als prozentualer Anteil des Kontrollwertes. Die Tiere der Versuchsgruppe erhielten drei Tage nach Instrumentierung Endotoxin i.v. infundiert (LPS; *E. coli*; 100 ng/kg fetales KG). Die plazentare Perfusion fiel 1 h nach systemischer LPS-Applikation kontinuierlich ab und erholte sich innerhalb der folgenden 16 h auf Ausgangswerte. Eine Durchblutungssteigerung im weiteren Schwangerschaftsverlauf wurde im Gegensatz zur Kontrollgruppe nach LPS-Applikation nicht beobachtet [40, 41]. Mittelwerte  $\pm$  SD. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  (LPS vs. Kontrolle).

gelsituation beteiligt [44–47]. Die Möglichkeit zur Kreislaufzentralisation schützt den fetalen Organismus und insbesondere das Gehirn vor einer hypoxieinduzierten Schädigung. Ontogenetische Untersuchungen bei Schaffeten zeigen, dass die endotheliale Form der Stickstoffmonoxidsynthase (eNOS), die nach Aktivierung NO generiert, bereits am Ende des ersten Trimenons nachweisbar ist. Die katalytische Aktivität der NO-Synthase verdreifacht sich im weiteren Schwangerschaftsverlauf [48]. Verschiedene Arbeitsgruppen untersuchten die Bedeutung von NO in der fetalen Kreislaufregulation während Normoxie und Hypoxie bei reifen und unreifen Schaffeten [45, 49, 50]. Bei reifen Schaffeten bewirkte die intravenöse Applikation des unspezifischen NO-Synthase-Inhibitors L-NAME eine Bradykardie und vorübergehende Hypertension sowie einen Abfall der Hirndurchblutung [45]. Nach einer zusätzlichen intrauterinen Hypoxie war die chemoreflektorische Bradykardie bei den mit L-NAME behandelten Tieren gegenüber Kontrollen abgeschwächt und die bekannte fetale Tachykardie in der Erholungsphase blieb aus [45]. Allerdings steigt der fetale Sauerstoffverbrauch nach Inhibition der NO-Synthase [49]. Darüber hinaus reduzierte die NO-Synthase-Hemmung während Hypoxie den Anstieg der Hirndurchblutung und den Abfall des zerebralen Gefäßwiderstandes [50]. Aufgrund dieser Daten wird die Bedeutung von NO für die zerebrale Autoregulation während intrauteriner Hypoxie deutlich.

#### Stickstoffmonoxid: Mediator des fetalen Kreislaufschocks?

Klinische und experimentelle Untersuchungen zeigen, dass die unkontrollierte Bildung von NO während Endotoxämie sowohl den akuten als auch den verzögerten, häufig therapieresistenten Abfall des Blutdruckes und die Hyporeaktivität des Gefäßsystems gegenüber endogenen und exogenen Katecholaminen vermittelt [51, 52]. Nach Endotoxinexposition resultiert unmittelbar

die Bildung von NO durch Aktivierung der endothelialen NO-Synthase (eNOS). Bei länger dauernder Endotoxämie wird zusätzlich die induzierbare NO-Synthase (iNOS) in unterschiedlichen Organen und Zellarten aktiviert. Dies trägt zu einer überschießenden Vasodilatation bei, verzögert und deaktiviert das adrenerge System und wird für das Kreislaufversagen im septischen Schock verantwortlich gemacht [52, 53].

Interessanterweise schützen Glukokortikoide, die als Induktionshemmer der NO-Synthase und der Cyclooxygenase (COX-2) gelten, vor Kreislaufversagen bei septischem und hämorrhagischem Schock [54]. Epinephrektomierte Tiere, denen es an endogenen Glukokortikoiden fehlt, entwickeln eine besonders schwere Form des Kreislaufschocks während Endotoxämie. Durch Vorbehandlung mit exogenen Glukokortikoiden werden die Symptome deutlich abgemildert. Eine verminderte Induktion der NO-Synthase durch endogene Glukokortikoide spricht für eine Toleranzentwicklung gegenüber Endotoxinen [54]. Der Großteil dieser Studien wurde allerdings bei erwachsenen Tieren durchgeführt, so dass beweiskräftige Ergebnisse für das fetale Kreislaufsystem noch ausstehen.

#### Bedeutung von Endothelin-1 während Endotoxämie

Zusätzlich zu den relaxierenden Mediatoren NO und Prostazyklin synthetisiert das Endothelium Endothelin-1 (ET-1). Ausgangsform von ET-1 ist ein Präpropeptid, das proteolytisch zu Big ET-1 gespalten wird [55]. Aus dieser Zwischenstufe entsteht durch die katalytische Aktivität der Metalloproteinase Endothelin-Converting-Enzyme-1 (ECE-1) ET-1 [56]. Die Konversion von Big ET-1 zu ET-1 determiniert die biologische Aktivität, so dass nach Inhibition des ECE-1 die Fähigkeit von Big ET-1 zum Druckanstieg verloren geht [57]. ET-1 ist der stärkste Vasokonstriktor des Organismus mit einer um den Faktor 10 höheren Potenz als

Angiotensin II [58]. Die Bildung von ET-1 wird durch unterschiedliche Stimuli wie Hypoxie [59], Endotoxämie [60] und Hypertonie [61] induziert. In Abb. 4 sind die unterschiedlichen endothelinvermittelten Wirkungen zusammengefasst.

Interessanterweise variiert die Gefäßreaktion in verschiedenen Organen während der fetalen Entwicklung und unterscheidet sich zum Teil erheblich von der des Neugeborenen- bzw. Erwachsenenorganismus. Die ET-1-induzierte Vasokonstriktion steigt mit wachsendem Gestationsalter in den femoralen, zerebralen und renalen Arterien an, während sich in den Nebennierenarterien keine Veränderungen zeigen [62]. Die hämodynamischen Effekte von ET-1 werden durch 2 Rezeptorsubtypen reguliert: ET<sub>A</sub>- und ET<sub>B</sub>-Rezeptoren. ET<sub>A</sub>-Rezeptoren und eine kleine Untergruppe der ET<sub>B</sub>-Rezeptoren, lokalisiert im Bereich der glatten Gefäßmuskulatur, vermitteln eine Vasokonstriktion. Eine größere Population der ET<sub>B</sub>-Rezeptoren, die sich auf der Oberfläche des Endothels befinden, vermitteln eine Vasodilatation durch Aktivierung einer NO-Synthase mit konsekutiver NO-Freisetzung.

Während Endotoxämie und Sepsis werden die höchsten Plasmakonzentrationen von ET-1 gemessen [63]. Die hohe Bedeutung des Endothelinsystems in der Pathogenese des septischen Schocks spiegelt sich in der Korrelation der Endothelin-Plasmakonzentration mit Morbidität und Mortalität des septischen Patienten wider [64]. Endotoxine induzieren die Expression von Präpro-ET-1-mRNA in verschiedenen Organen [65]. Erhöhte ET-1-Plasmakonzentrationen lassen sich bei zahlreichen Spezies während einer Endotoxämie nachweisen [66]. Die i.v. Applikation von ET-1 verursacht beim Menschen sepsisähnliche kardiovaskuläre Veränderungen. Das Herzminutenvolumen fällt ab, der Widerstand im pulmonalen, splanchnikalen und renalen Gefäßsystem steigt an [66]. Bei Schaffeten bewirkt ET-1 sowohl eine Vasokonstriktion der fetoplazentalen Mikrozirkulation als auch einen Abfall des fetalen Sauerstoffverbrauchs [68]. Bakteriell Endotoxin erhöht die ET-1-Plasmakonzentration in der Umbilikalarterie um den Faktor 5, so dass der Schwellenwert zur Vasokonstriktion überschritten wird [69]. Proinflammatorische Mediatoren, wie IL-1, TNF- $\alpha$  und TGF- $\beta$ , die während einer Endotoxämie produziert werden, induzieren ebenfalls die ET-1-Produktion des Endothels. In tierexperimentellen Untersuchungen lässt sich eine pulmonale Drucksteigerung nach Endothelinapplikation nachweisen. Hierbei kommt es zu einem charakteristischen biphasischen Anstieg des mittleren pulmonalarteriellen Drucks und des pulmonalen Gefäßwiderstands.

An der pulmonalen Hypertonie während Endotoxämie sind die Aktivierung der Cyclooxygenase in der Früh- und das Endothelinsystem in der Spätphase beteiligt. Experimentell werden die Spätveränderungen durch selektiven und unselektiven Endothelin-ET<sub>A</sub>-Rezeptor-Antagonismus verhindert [70,71]. Im Gegensatz zum adulten Organismus verursacht eine Endotoxämie bei Schaffeten einen Abfall des pulmonalen Gefäßwiderstandes und somit eine drastische Zunahme der Lungenperfusion [36]. Obwohl ET-1 generell eine systemische Vasokonstriktion vermittelt, unterscheidet sich die Wirkung auf die pulmonale Zirkulation in Abhängigkeit von Alter und Gefäßtonus [72,73]. In der Lunge des fetalen Lammes überwiegt die Expression von ET<sub>B</sub>-Rezeptoren. Nach Rezeptorbindung durch ET-1 wird eine endothe-

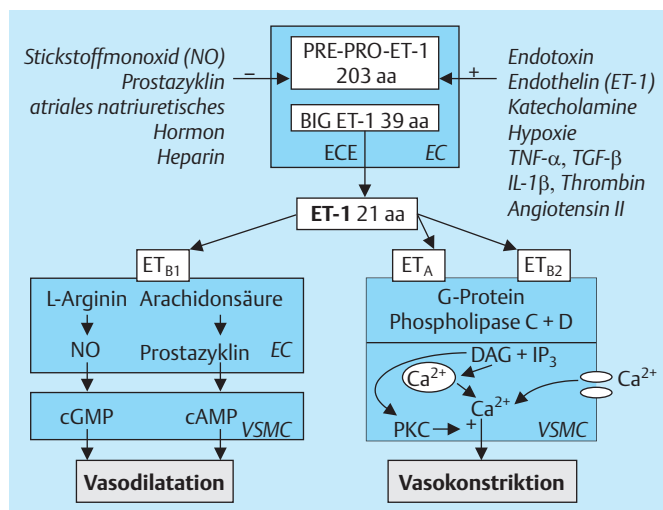


Abb. 4 Schematische Darstellung der Endothelinwirkungen. aa: Aminosäure; cAMP: zyklisches Adenosinmonophosphat; cGMP: zyklisches Guanosinmonophosphat; DAG: Diacylglycerol; EC: Endothelium; ECE: Endothelin Converting Enzyme; ET-1: Endothelin-1; ET<sub>A</sub>: Endothelinrezeptor A; ET<sub>B</sub>: Endothelinrezeptor B; IP<sub>3</sub>: Inositoltriphosphat; PKC: Proteinkinase C; VSMC: glatte Muskelzelle.

liale Form der NO-Synthase aktiviert [74]. Durch die Synthese von NO wird eine Relaxation der pulmonalen Gefäßmuskulatur und somit eine Vasodilatation in der Lungenstrombahn vermittelt.

Neben diesen grundlegenden Veränderungen am kardiovaskulären System vermittelt ET-1 weitere sepsisassoziierte pathophysiologische Mechanismen. ET-1 aktiviert neutrophile Leukozyten, stimuliert die Expression von vasculären Adhäsionsmolekülen und erhöht die Adhäsion von Leukozyten an das Endothel [75]. Die endotheliale Barriere wird durch ET-1 gestört, so dass die Permeabilität für Proteine ansteigt und eine Hämokonzentration resultiert [74]. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass ET-1 die Bildung von hochreaktiven Sauerstoffradikalen induziert, die an der Pathogenese des septischen Schocks grundlegend beteiligt sind [76].

### Stellenwert der Antibiotikatherapie

Der Nutzen der antenatalen Antibiotikatherapie bei verfrühtem vorzeitigen Blasensprung wurde mittlerweile in zahlreichen klinischen Studien belegt [77]. Insbesondere wurde nachgewiesen, dass die antibiotische Therapie die Rate an maternalen und neonatalen Infektionen senkt und eine Prolongation der Schwangerschaft von sieben Tagen ermöglicht. In der bislang größten, prospektiv randomisierten, plazebokontrollierten Multizenterstudie (ORACLE I) wurden 4826 Frauen mit verfrühtem vorzeitigen Blasensprung inkludiert und unterschiedlichen antibiotischen Therapieregimen zugewiesen [78]. Die Applikation von Erythromycin (4  $\times$  250 mg/die p.o. über 10 Tage) reduzierte nach verfrühtem vorzeitigen Blasensprung die Rate an Frühgeburten innerhalb von sieben Tagen, die Notwendigkeit einer postpartalen Surfactanttherapie und die Entwicklung einer chronischen Lungenerkrankung in der Neonatalperiode. Darüber hinaus wurde die Häufigkeit von hirnschädigenden Auffälligkeiten, d. h. pe-

ri- bzw. intraventrikuläre Hirnblutungen und periventrikuläre Leukomalazie, um 35% gesenkt.

Demgegenüber ist die Datenlage bei vorzeitiger Wehentätigkeit mit stehender Fruchtblase uneinheitlich. In einigen Studien konnte die Schwangerschaft durch Antibiotikatherapie bis zu 3 Wochen prolongiert werden, in anderen Untersuchungen wurde dieser Effekt nicht bestätigt [79–81]. In der bislang größten prospektiv randomisierten, plazebokontrollierten Multizenterstudie (ORACLE II) bei 6295 Frauen mit spontaner vorzeitiger Wehentätigkeit konnte kein positiver Effekt auf die Prolongation der Schwangerschaft und die neonatale Morbidität nachgewiesen werden [82]. Dies wird auch in einer kürzlich erschienenen Metaanalyse der Cochrane Database bestätigt [83], so dass derzeit eine antibiotische Therapie bei vorzeitiger Wehentätigkeit mit stehender Fruchtblase nur unter Studienbedingungen durchgeführt werden sollte.

### Zusammenfassung

Die dargestellten klinischen, epidemiologischen und experimentellen Daten deuten auf die zentrale Bedeutung der antenatalen Infektion des Feten in der Pathogenese perinataler Hirnschäden hin. Im Vordergrund stehen die periventrikuläre Leukomalazie und peri- bzw. intraventrikuläre Hirnblutungen. Insbesondere die Schädigung der periventrikulären und subkortikalen weißen Hirnsubstanz wird heute als wesentliche Ursache für die spätere Ausbildung einer spastischen Zerebralparese angesehen.

Die im Rahmen einer intrauterinen Infektion freigesetzten Entzündungsmediatoren beeinflussen die zerebrale Integrität auf unterschiedlichen Ebenen. Neben einer direkt neurozytotoxischen Wirkung von Endotoxinen und liberierten proinflammatorischen Zytokinen scheinen diese zudem das fetale Gehirn gegenüber einer intrauterinen Sauerstoffmangelsituation zu sensibilisieren. Die durch eine Infektion induzierte inflammatorische Antwort des Feten führt auch zu einer schweren Beeinträchtigung der fetalen Herz-Kreislauf-Regulation. Die im Tierexperiment beobachtete placentare Hypoperfusion bewirkt eine chronische Hypoxie und einen schweren Abfall des zerebralen Sauerstofftransports. Hierfür ist ein gestörtes Gleichgewicht zwischen vasodilatatorischen und vasokonstriktorisches Substanzen verantwortlich. Für die Zukunft wird die Charakterisierung der fetalen inflammatorischen Antwort entscheidend dazu beitragen, durch adäquate Intervention die Inzidenz perinatal erworbener Hirnschäden und somit die Morbidität der betroffenen Kinder zu senken. Ob und inwieweit in diesem Zusammenhang dem Einsatz von Glukokortikoiden therapeutische Bedeutung zukommt, ist Gegenstand weiterer Forschung.

### Literatur

- 1 Bhushan V, Paneth N, Kiely JL. Impact of improved survival of very low birth weight infants on recent secular trends in the prevalence of cerebral palsy. *Pediatrics* 1993; 91: 1094–1100
- 2 Dammann O, Leviton A. Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn. A Review. *Pediatr Res* 1997; 42: 1–8

- 3 Wu YW, Colford JM Jr. Chorioamnionitis as a risk factor for cerebral palsy: A metaanalysis. *JAMA* 2000; 284: 1417–1424
- 4 Verma U, Tejani N, Klein S, Reale MR, Beneck D, Figueroa R, Visintainer P. Obstetric antecedents of intraventricular hemorrhage and periventricular leukomalacia in the low-birth-weight neonate. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 275–281
- 5 Grether JK, Nelson KB. Maternal infection and cerebral palsy in infants of normal birth weight. *JAMA* 1997; 278: 247–248
- 6 Leviton A, Paneth N, Reuss ML et al. Maternal infection, fetal inflammatory response, and brain damage in very low birth weight infants. *Pediatr Res* 1999; 46: 566–575
- 7 Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim CJ, Kim SH, Choi JH, Han TR. Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 675–681
- 8 Dammann O, Leviton A. Infection remote from the brain, neonatal white matter damage, and cerebral palsy in the preterm infant. *Semin Pediatr Neurol* 1998; 5: 190–201
- 9 Nelson KB, Dambrosia JM, Grether JK. Neonatal cytokines and coagulation factors in children with cerebral palsy. *Ann Neurol* 1998; 44: 665–675
- 10 Martinez E, Figueroa R, Garry D, Visintainer P, Patel K, Verma U, Sehgal PB, Tejani N. Elevated amniotic fluid interleukin-6 as a predictor of neonatal periventricular leukomalacia and intraventricular hemorrhage. *J Matern Fetal Investig* 1998 8: 101–107
- 11 Yoon BH, Romero R, Yang SH, Jun JK, Kim IO, Choi JH, Syn HC. Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1433–1440
- 12 Yoon BH, Jun JK, Romero R, Park KH, Gomez R, Choi JH, Kim IO. Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1 b, and tumor necrosis factor-a), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 19–26
- 13 Gibbs RS, Blanco JD, St Clair PG et al. Quantitative bacteriology of amniotic fluid from patients with clinical intraamniotic infection at term. *J Infect Disease* 1989; 45: 1–8
- 14 Newton ER. Chorioamnionitis and intraamniotic infection. *Clin Obstet Gynecol* 1993; 36: 795–808
- 15 Dashe JS, Rogers BB, McIntire DD, Leveno KJ. Epidural analgesia and intrapartum fever: placental findings. *Obstet Gynecol* 1999; 93: 341–344
- 16 Gonçalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R. Intrauterine infection and prematurity. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2002; 8: 3–13
- 17 Thompson PJ, Greenough A, Gamsu HR, Nicolaidis KH, Philpott-Howard J. Congenital bacterial sepsis in very preterm infants. *J Med Microbiol* 1992; 36: 117–120
- 18 Carroll SG, Papaioannou S, Ntumazah IL, Philpott-Howard J, Nicolaidis KH. Lower genital tract swabs in the prediction of intrauterine infection in preterm prelabour rupture of the membranes. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 54–59
- 19 Berger R, Garnier Y. Pathophysiology of perinatal brain damage. *Brain Res Brain Res Rev* 1999; 30: 107–134
- 20 Monaghan DT, Bridges RJ, Cotman CW. The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology, and distinct properties in the function for the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1989; 29: 365–402
- 21 Kristian T, Siesjo BK. Calcium in ischemic cell death. *Stroke* 1998; 29: 705–718
- 22 Gatti S, Bartfai T. Induction of tumor necrosis factor-alpha mRNA in the brain after peripheral endotoxin treatment: comparison with interleukin-1 family and interleukin-6. *Brain Res* 1993; 624: 291–294
- 23 Hillhouse EW, Mosley K. Peripheral endotoxin induces hypothalamic immunoreactive interleukin-1 beta in the rat. *Br J Pharmacol* 1993; 109: 289–290
- 24 Van Dam AM, Bauer J, Tilders FJ, Berkenbosch F. Endotoxin-induced appearance of immunoreactive interleukin-1 beta in ramified microglia in rat brain: a light and electron microscopic study. *Neuroscience* 1995; 65: 815–826
- 25 Berger R, Garnier Y, Pfeiffer D, Jensen A. Lipopolysaccharides do not alter energy metabolism and protein synthesis in an in vitro model of fetal cerebral ischemia. *Pediatr Res* 2000; 48: 531–535
- 26 Barone FC, Arvin B, White RF, Miller A, Webb CL, Willette RN, Lysko PG, Feuerstein GZ. Tumor necrosis factor-alpha. A mediator of focal ischemic brain injury. *Stroke* 1997; 28: 1233–1244

- 27 Cai Z, Pan Z, Pang Y, Evans OB, Rhodes PG. Cytokine induction in fetal rat brains and brain injury in neonatal rats after maternal lipopolysaccharide administration. *Pediatr Res* 2000; 47: 64–72
- 28 Yoon BH, Kim CJ, Romero R et al. Experimentally induced intrauterine infection causes fetal brain white matter lesions in rabbits. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 406–411
- 29 Gilles FH, Averill DR Jr, Kerr CS. Neonatal endotoxin encephalopathy. *Ann Neurol* 1977; 2: 49–56
- 30 Back SA, Volpe JJ. Cellular and molecular pathogenesis of periventricular white matter damage. *Ment Retard Dev* 1997; 3: 96–107
- 31 Cammer W, Zhang H. Maturation of oligodendrocytes is more sensitive to TNF alpha than is survival of precursors and immature oligodendrocytes. *J Neuroimmunol* 1999; 97: 37–42
- 32 Selmaj KW, Raine CS. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann Neurol* 1988; 23: 339–346
- 33 Feldhaus B, Dietzel ID, Heumann R, Berger R. Effects of Interferon- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  on survival and differentiation of oligodendrocyte progenitors. *J Soc Gynecol Investig* 2003; in press
- 34 Eklind S, Mallard C, Leverin A, Gilland E, Blomgren K, Mattsby-Baltzer I, Hagberg H. Bacterial endotoxin sensitizes the immature brain to hypoxic-ischaemic injury. *Eur J Neuroscience* 2001; 13: 1101–1106
- 35 Coumans ABC, Middelans J, Garnier Y, Vaihinger HM, Leib SL, von Duering M, Hasaart THM, Jensen A, Berger R. Intracisternal application of endotoxin enhances the susceptibility to subsequent hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. *Pediatr Res* 2003; 53: 770–775
- 36 Garnier Y, Coumans A, Jensen A, Berger R, Hasaart THM. Endotoxemia severely affects circulation during normoxia and asphyxia in immature fetal sheep. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8: 134–142
- 37 Ashwal S, Dale PS, Longo LD. Regional cerebral blood flow: Studies in the fetal lamb during hypoxia, hypercapnia, acidosis, and hypotension. *Pediatr Res* 1984; 18: 1309–1316
- 38 Jensen A, Berger R. Fetal circulatory responses to oxygen lack. *J Dev Physiol* 1991; 16: 181–207
- 39 Jensen A, Lang U, Braems G. Cardiovascular effects of endotoxin and asphyxia in fetal sheep near term. In: Künzel W, Kirschbaum M (eds). *Oxygen – Basis of the Regulation of Vital Functions in the Fetus*. New York, Berlin: Springer, 1992: 156–157
- 40 Garnier Y, Coumans ABC, Vaihinger HM, von Duering M, Supçun S, Berger R, Hasaart THM. Low dose endotoxin (LPS) results in substantial umbilico-placental vasoconstriction and discrete neuropathological changes in preterm sheep. *J Soc Gynecol Investig* 2002; 9: 72 A–73 A
- 41 Coumans ABC, Garnier Y, Supçun S, Berger R, Jensen A, Hasaart THM. The effects of low dose endotoxin (LPS) on the umbilico-placental circulation in preterm sheep. *Obstet Gynecol* in press
- 42 Dalitz P, Harding R, Rees S, Cock ML. Prolonged reductions in placental blood flow and cerebral oxygen delivery in preterm fetal sheep exposed to endotoxin: Possible factors in white matter injury after acute infection. *J Soc Gynecol Investig* 2003; 10: 283–290
- 43 Duncan JR, Cock ML, Scheerlinck JP, Westcott KT, McLean C, Harding R, Rees SM. White matter injury after repeated endotoxin exposure in the preterm ovine fetus. *Pediatr Res* 2002; 52: 941–949
- 44 Gardiner SM, Compton AM, Bennet T, Palmer RMJ, Moncada S. Control of regional blood flow by endothelium derived nitric oxide. *Hypertension* 1990; 15: 486–492
- 45 Green LR, Bennet L, Hanson MA. The role of nitric oxide synthesis in cardiovascular responses to acute hypoxia in the late gestation sheep fetus. *J Physiol* 1996; 497: 271–277
- 46 Harris AP, Helou S, Gleason CA, Traystman RJ, Koehler RC. Fetal cerebral and peripheral circulatory responses to hypoxia after nitric oxide synthase inhibition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: R381–390
- 47 Iadecola C, Pelligrino DA, Moscowitz MA, Lassen NA. Nitric oxide synthase inhibition and cerebrovascular regulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14: 175–192
- 48 Northington FJ, Tobin JR, Harris AP, Traystman RJ, Koehler RC. Developmental and regional differences in nitric oxide synthase activity and blood flow in the sheep brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997; 17: 109–115
- 49 Smolich JJ. NO modulates fetoplacental blood flow distribution and whole body oxygen extraction in fetal sheep. *Am J Physiol* 1998; 274: R1331–1337
- 50 Coumans ABC, Garnier Y, Supçun S, Jensen A, Hasaart THM, Berger R. The role of nitric oxide on fetal cardiovascular control during normoxia and acute hypoxia in 0.75 gestation sheep. *J Soc Gynecol Investig* 2003; 10: 275–282
- 51 Szabo C, Mitchell JA, Thiernemann C, Vane JR. Nitric oxide-mediated hyporeactivity to noradrenaline precedes the induction of nitric oxide synthase in endotoxin shock. *Br J Pharmacol* 1993; 108: 786–792
- 52 Thiernemann C, Vane J. Inhibition of nitric oxide synthesis reduces the hypotension induced by bacterial lipopolysaccharides in the rat in vivo. *Eur J Pharmacol* 1990; 182: 591–595
- 53 Thiernemann C, Wu CC, Szabo C, Perretti M, Vane JR. Role of tumour necrosis factor in the induction of nitric oxide synthase in a rat model of endotoxin shock. *Br J Pharmacol* 1993; 110: 177–182
- 54 Szabo C, Thiernemann C, Wu CC, Perretti M, Vane JR. Attenuation of the induction of nitric oxide synthase by endogenous glucocorticoids accounts for endotoxin tolerance in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 271–275
- 55 Kido T, Sawamura T, Hoshikawa H, D'Orleans-Juste P, Denault JB, Leduc R, Kimura J, Masaki T. Processing of proendothelin-1 at the C-terminus of big endothelin-1 is essential for proteolysis by endothelin-converting enzyme-1 in vivo. *Eur J Biochem* 1997; 244: 520–526
- 56 Xu D, Emoto N, Gaid A, Slaughter C, Kaw S, deWit D, Yanagisawa M. ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. *Cell* 1994; 78: 473–485
- 57 Matsumura Y, Hisaki K, Takaoka M, Morimoto S. Phosphoramidon, a metalloproteinase inhibitor, suppresses the hypertensive effect of big endothelin-1. *Eur J Pharmacol* 1990; 185: 103–106
- 58 Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411–415
- 59 Li H, Chen SJ, Chen YF, Meng QC, Durand J, Oparil S, Elton TS. Enhanced endothelin-1 and endothelin receptor gene expression in chronic hypoxia. *J Appl Physiol* 1994; 77: 1451–1459
- 60 Nakamura T, Kasai K, Sekiguchi Y, Banba N, Takahashi K, Emoto T, Hattori Y, Shimoda S. Elevation of plasma endothelin concentrations during endothelin shock in dogs. *Eur J Pharmacol* 1991; 205: 277–282
- 61 Hishikawa K, Nakaki T, Marumo T, Suzuki H, Kato R, Saruta T. Pressure enhances endothelin-1 release from cultured human endothelial cells. *Hypertension Dallas* 1995; 25: 449–452
- 62 Docherty CC, Kalmar-Nagy J, Engelen M, Nathanielsz PW. Development of fetal vascular responses to endothelin-1 and acetylcholine in the sheep. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2001; 280: R554–R562
- 63 Battistini B, Forget MA, Laight D. Potential roles for endothelins in systemic inflammatory response syndrome with a particular relationship to cytokines. *Shock* 1996; 5: 167–183
- 64 Pittet JF, Morel DR, Hemsén A, Gunning K, Lacroix JS, Suter PM, Lundberg JM. Elevated plasma endothelin-1 concentrations are associated with the severity of illness in patients with sepsis. *Ann Surg* 1991; 213: 261–264
- 65 Hemsén A. Biochemical functional characterization of endothelin peptides with special reference to vascular resistance. *Acta Physiol Scand Suppl* 1991; 602: 1–61
- 66 Pernow J, Hemsén A, Lundberg JM. Increased plasma levels of endothelin-like immunoreactivity during endotoxin administration in the pig. *Acta Physiol Scand* 1989; 137: 317–318
- 67 Weitzberg E, Ahlberg G, Lundberg JM. Long-lasting vasoconstriction and efficient regional extraction of endothelin-1 in human splanchnic and renal tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 180: 1298–1303
- 68 Adamson SL, Whiteley KJ, Langille BL. Endothelin-1 constricts fetoplacental microcirculation and decreases fetal O<sub>2</sub> consumption in sheep. *Am J Physiol* 1996; 270: H16–H23
- 69 Lundberg JM, Ahlberg G, Hemsén A, Nisell H, Lunell NO, Pernow J, Rudehill A, Weitzberg E. Evidence for release of endothelin-1 in pigs and humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17 (Suppl): 350–353
- 70 Curzen NP, Mitchell JA, Jourdan KB, Griffiths MJ, Evans TW. Endothelin-1-induced contraction of pulmonary arteries from endotoxemic rats is attenuated by the endothelin-A receptor antagonist, BQ123. *Crit Care Med* 1996; 24: 2007–2013
- 71 Wanecek M, Oldner A, Rudehill A, Sollevi A, Alving K, Weitzberg E. Cardiopulmonary dysfunction during porcine endotoxin shock is effectively counteracted by the endothelin receptor antagonist bosentan. *Shock* 1997; 7: 364–370



- <sup>72</sup> Black SM, Johengen MJ, Soiffer SJ. Coordinated regulation of genes of the nitric oxide and endothelin pathways during the development of pulmonary hypertension in fetal lambs. *Pediatr Res* 1988; 44: 821–830
- <sup>73</sup> Wong J, Vanderford PA, Fineman JR, Chang R, Soiffer SJ. Endothelin-1 produces pulmonary vasodilation in the intact newborn lamb. *Am J Physiol* 1993; 265: H1318–H325
- <sup>74</sup> Filep J. Endothelin peptides: biological actions and pathophysiological significance in the lung. *Life Sci* 1993; 52: 119–133
- <sup>75</sup> Helset E, Ytrehus K, Tveita T, Kjaeve J, Jorgensen L. Endothelin-1 causes accumulation of leukocytes in the pulmonary circulation. *Circ Shock* 1994; 44: 201–209
- <sup>76</sup> Cheng TH, Shih NL, Chen SY, Wang DL, Chen JJ. Reactive oxygen species modulate endothelin-I-induced c-fos gene expression in cardiomyocytes. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 654–662
- <sup>77</sup> Kenyon S, Boulvain M, Neilson J. Antibiotics for preterm rupture of membranes. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; 2: CD001058
- <sup>78</sup> Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W; ORACLE Collaborative Group. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomised trial. *ORACLE Collaborative Group. Lancet* 2001; 357: 979–988
- <sup>79</sup> Cox SM, Bohman VR, Sherman ML, Leveno KJ. Randomized investigation of antimicrobials for the prevention of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 206–210
- <sup>80</sup> Gordon M, Samuels P, Shubert P, Johnson F, Gebauer C, Iams J. A randomized, prospective study of adjunctive ceftizoxime in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 1546–1552
- <sup>81</sup> Svare J, Langhoff-Roos J, Andersen LF, Kryger-Baggesen N, Borch-Christensen H, Heisterberg L, Kristensen J. Ampicillin-metronidazole treatment in idiopathic preterm labour: a randomised controlled multicentre trial. *Brit J Obstet Gynaecol* 1997; 104: 982–987
- <sup>82</sup> Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W; ORACLE Collaborative Group. Broad-spectrum antibiotics for spontaneous preterm labour: the ORACLE II randomised trial. *ORACLE Collaborative Group. Lancet* 2001; 357: 989–994
- <sup>83</sup> King J, Flenady V. Prophylactic antibiotics for inhibiting preterm labour with intact membranes. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; 4: CD000246