

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und  
Kinderkardiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Ertan Mayatepek

Quantifizierung von  
Dehydroepiandrosteron und Dehydroepiandrosteronsulfat  
in Fingernägeln von Neugeborenen zur Beurteilung der Auswirkungen  
von intrauteriner Wachstumsrestriktion und pränatalem Stress auf die  
fetale Stressbiologie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Viola Schmelter

(2018)

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Herr Prof. Dr. med. Thomas Höhn

Zweitgutachterin: Frau PD Dr.med. Ines Beyer

„Man darf nie die ganze Straße auf einmal denken, verstehst du? Man muss nur an den nächsten Schritt denken, den nächsten Atemzug, den nächsten Besenstrich. Und immer wieder den nächsten. Dann macht es Freude; das ist wichtig, dann macht man seine Sache gut. Und so soll es sein.“

- Beppo der Straßenkehrer aus Momo von Michael Ende

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Schmelter, V., Antonaci, L., Fröhlich, S., Herebian, D., Verde, P., Heil, M., Höhn, T., (2018), Quantification of fetal steroids in nails of neonates to quantify growth restriction and prenatal stress, *Biological Psychology*

Das Paper befindet sich zurzeit noch im Review-Prozess.

## I Zusammenfassung

Die Bestimmung von Hormonen in Nägeln von Neugeborenen ist eine vielversprechende Methode um das intrauterine Leben des Fetus retrospektiv zu beurteilen. Negative Einflüsse wie maternaler pränataler Stress oder eine schlechte plazentare Versorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff können fetale Hormonsysteme nachhaltig beeinflussen und frühzeitig programmieren und so kurz- und langfristige Folgen auf die kindliche Entwicklung und Gesundheit haben. In dieser Studie wird der Einfluss von pränatalem Stress und intrauteriner Wachstumsrestriktion (IUGR) auf die Aktivität der fetalen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse (HHN-Achse) untersucht. Dazu wurden Schwangere mit niedrigem Risiko sowie Schwangere mit dem Risiko für eine IUGR rekrutiert. Die Stressbelastung der Schwangeren wurde mittels zweier Fragebögen (Prenatal Distress Questionnaire [PDQ] und Life Event Survey [LES] ) erfasst und anschließend die Hormonkonzentration von Dehydroepiandrosteron (DHEA) und Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) mittels Ultra-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (UPLC-MS/MS) in den Nägeln der neugeborenen Kinder untersucht. Bei Kindern mit IUGR zeigte sich eine geringere Konzentration von DHEAS im Nagel als bei Kindern mit adäquatem Geburtsgewicht. Pränataler Stress und kindliche Konzentrationen von DHEA und DHEAS zeigten keinen Zusammenhang. Gestationsalter und Geburtsgewicht zeigten einen positiven Zusammenhang mit der DHEAS Konzentration im Nagel. Durch den kumulativen Charakter der Nagelmethode ist die Hormonkonzentration stark von der Dauer der Schwangerschaft und dem Reifegrad des Kindes abhängig. Zusätzlich ist möglicherweise die Gabe von synthetischen Glukokortikoiden mit einer supprimierten HHN-Achse assoziiert. Zukünftige Studien sollten Neugeborene in definierten Altersklassen und mit ähnlichen Grundvoraussetzungen vergleichen um Störvariablen zu reduzieren. Dennoch ist die Methode eine einfach durchführbare, nicht-invasive Möglichkeit um Rückschlüsse auf die intrauterinen Begebenheiten zu ziehen und neue Einsichten in die Funktion fetaler Hormonsysteme und die zugrundeliegenden Vorgänge der fetalen Programmierung zu erlangen.

## II Summary

Measurement of stress hormones in nails of neonates is a promising method to assess intrauterine life retrospectively. Many studies support the hypothesis that fetal hormone systems can be programmed by an adverse intrauterine environment leading to the development of diseases in later life. This study assesses the impact of prenatal stress and intrauterine growth restriction (IUGR) on the dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosteronesulfate (DHEAS) concentrations in nails of newborns. Nail samples were gained from a group of 56 newborn infants (21 with IUGR and 35 without IUGR) and tested via liquid chromatography/tandem mass spectrometry for concentrations of DHEA and DHEAS. Prenatal stress was assessed via the Prenatal Distress Questionnaire and the Life Experience Survey in pregnant women before delivery. Prenatal stress was not associated with infant nail DHEA or DHEAS concentrations. The concentration of DHEA and DHEAS was decreased in infants with IUGR. Infant nail-DHEAS increased with gestational age and birth weight. Exposition to antenatal steroids aimed at inducing lung maturity was associated with lower DHEAS concentrations in nails of newborns. In this study prenatal stress does not influence fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis notably. Due to the cumulative character of the nail method it is easily affected by length of gestation and stage of maturity. Therefore further studies will have to compare infants with defined gestational ages and matching baseline characteristics to reduce confounding variables. However it is an easily applicable and reliable method to assess the intrauterine life of the fetus with the potential to give great insights in the activity of fetal hormone systems and mechanism underlying fetal programming.

### III Abkürzungsverzeichnis

<b>11<math>\beta</math>HSD</b>	11 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase
<b>3<math>\beta</math>HSD</b>	3- $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase
<b>ACTH</b>	Adrenokortikotropes Hormon
<b>CRH</b>	Kortikotropin-releasing Hormon
<b>DHEA</b>	Dehydroepiandrosteron
<b>DHEAS</b>	Dehydroepiandrosteronsulfat
<b>HHN-Achse</b>	Hypothalamus-Hypophysen- Nebennieren-Achse
<b>IUGR</b>	Intrauterine growth restriction
<b>LES</b>	Life Experience Survey
<b>NNR</b>	Nebennierenrinde
<b>P450c17</b>	Cytochrom P450 17 $\alpha$ Hydroxylase
<b>PDQ</b>	Prenatal Distress Questionnaire
<b>SD</b>	Standardabweichung
<b>SSW</b>	Schwangerschaftswoche
<b>UKD</b>	Universitätsklinikum Düsseldorf
<b>UPLC-MS/MS</b>	Ultra Performance Liquid Tandem Mass Spectrometry
<b>VLBW</b>	Very low birth weight

## IV Inhalt

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	IUGR.....	2
1.2	Pränataler Stress .....	4
1.2.1	Stress durch kritische Lebensereignisse.....	6
1.2.2	Schwangerschaftsspezifischer Stress.....	7
1.3	Neuroendokrine Stressreaktion der Mutter.....	8
1.4	Neuroendokrine Stressreaktion des Fetus .....	10
1.4.1	Entwicklung der fetalen NNR.....	11
1.4.2	Steroidsynthese in der fetalen NNR .....	12
1.4.3	Regulation der fetalen HHN-Achse .....	14
1.5	Messbarkeit von fetalem Stress.....	16
1.6	Menschliche Nägel als Untersuchungsmaterial in der Medizin.....	18
1.6.1	Aufbau und Biologie menschlicher Nägel .....	19
1.6.2	Bisheriger Einsatz menschlicher Nägel in der medizinischen Diagnostik ....	20
1.7	Ziele der Arbeit .....	21
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>23</b>
2.1	Studiendesign.....	23
2.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien .....	23
2.1.2	Rekrutierungsprozess.....	24
2.2	Diagnostische Instrumentarien zur Erfassung von pränatalem Stress.....	26
2.2.1	LES.....	26
2.2.2	PDQ.....	27
2.2.3	Auswertung der Fragebögen .....	28
2.3	Gewinnung der Nagelproben .....	29
2.4	Quantifizierung von DHEA und DHEAS .....	30
2.5	Statistische Auswertung.....	31
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>33</b>
3.1	Stichprobenbeschreibung .....	33
3.1.1	Mütter-Stichprobe .....	33
3.1.2	Kinder-Stichprobe .....	34
3.2	Kenndaten der Stressmaße .....	36
3.3	DHEA- und DHEAS-Konzentrationen bei Müttern und Kindern.....	38
3.4	DHEA- und DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln bei Kindern mit und ohne IUGR.....	41

3.5	Prüfung möglicher Störvariablen der DHEA- und DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln.....	44
3.6	Auswirkungen von pränatalem Stress auf die DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln.....	47
3.6.1	Auswirkungen soziodemografischer Daten auf die Ergebnisse der Stressmaße .....	48
4	Diskussion.....	49
4.1	IUGR und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln.....	49
4.2	Synthetische Glukokortikoide und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln .....	51
4.3	Alter beim Nägelschneiden und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln .....	52
4.4	Pränataler Stress und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln	53
4.5	DHEA und DHEAS als Marker der fetalen Stressbiologie .....	55
4.6	Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit.....	56
4.7	Limitationen der Studie .....	57
4.8	Ausblick .....	59
4.9	Schlussfolgerung.....	60
5	Literatur- und Quellenverzeichnis.....	62
6	Anhang .....	69

# 1 Einleitung

Die Entwicklung des Fetus im Mutterleib stellt eine kritische Phase im Leben eines Menschen dar. Es gibt unterschiedlichste Faktoren, die sich negativ auf die Entwicklung und die Gesundheit des ungeborenen Kindes auswirken können. Bekannt ist zum Beispiel, dass Rauchen zu einem verminderten Geburtsgewicht führt [1, 2] und dass der Genuss von Alkohol in der Schwangerschaft das fetale Alkoholsyndrom verursacht [3]. Neben diesen selbst verursachten Risiken existieren viele weitere Faktoren, die die Entwicklung des Fetus nachhaltig negativ beeinflussen können. Die körperliche und psychische Gesundheit der Mutter sowie die Funktionstüchtigkeit der Plazenta spielen ebenfalls eine wichtige Rolle. Viele Studien weisen auf die nachteiligen Effekte von pränatalem Stress auf das ungeborene Kind hin. Kurzfristige Folgen von Stress in der Schwangerschaft sind Frühgeburtlichkeit und ein niedriges Geburtsgewicht [4, 5]. Langfristige Folgen sind zum Beispiel das gehäufte Auftreten von psychischen Erkrankungen und Entwicklungsauffälligkeiten im späteren Leben [6]. Bei Funktionsstörungen der Plazenta kann es zu einer Mangelversorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff kommen, welche das fetale Wachstum verzögert. Die IUGR als Ausdruck ungünstiger Lebensumstände des ungeborenen Kindes wird in vielen Studien mit einem gehäuften Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen und Erkrankungen des metabolischen Syndroms assoziiert [7, 8]. Die nachhaltige Beeinflussbarkeit biologischer Systeme durch Prozesse, die während der Entwicklungsphase im Mutterleib auf das ungeborene Kind einwirken, wird als fetale Programmierung bezeichnet. Wesentlich geprägt wurde dieses Feld der Forschung durch die Arbeiten von David Barker Ende der 1980er Jahre. Er zeigte in großen epidemiologischen Studien an der britischen Bevölkerung erstmalig die Verbindung zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht und einem erhöhten systolischen Blutdruck sowie dem Auftreten der koronaren Herzkrankheit bei Erwachsenen [9, 10]. Als zugrundeliegender Mechanismus für diese Assoziation wird die frühzeitige Programmierung des fetalen Genoms durch Adaptationsprozesse des Fetus auf die ungünstige intrauterine Umgebung angesehen. Kommt es beispielweise durch eine Plazentainsuffizienz zu einer Mangelversorgung des Fetus mit Nährstoffen und/oder Sauerstoff wird der Blutfluss zu den vitalen Organen wie dem Gehirn verstärkt. Außerdem werden

auch Änderungen in den Produktionsraten von fetalen und plazentaren Hormonen, die das fetale Wachstum regulieren, vorgenommen [11]. Im Rahmen dieser Adaptationsprozesse kommt es zur epigenetischen Programmierung des fetalen Genoms. Das bedeutet, es kommt über verschiedene Formen der Chromosomenmodifikation zur An- oder Abschaltung bestimmter Gene. Die vorliegende DNA-Sequenz wird dabei nicht verändert [12]. Die fetale Programmierung stellt also eine angeborene, aber nicht ererbte Ursache für spätere Krankheiten dar. Hier entstehen neue Möglichkeiten für Mediziner über das Identifizieren und Erkennen von Risikofaktoren in der Schwangerschaft präventiv gegen die Entstehung von Krankheiten vorzugehen.

Die vorliegende Studie möchte weitere Einblicke in das große Feld der fetalen Programmierung geben und untersucht inwieweit sich Stress während der Schwangerschaft und IUGR auf die HHN-Achse des Kindes auswirkt. Eine genaue Kenntnis dieser Zusammenhänge ermöglicht langfristig die Etablierung effektiver Präventionsmaßnahmen.

## 1.1 IUGR

Ein niedriges Geburtsgewicht ist häufig Ausdruck einer nachteiligen intrauterinen Umgebung. Das normale fetale Wachstum ist abhängig von maternalen, plazentaren und fetalen Faktoren und wird außerdem maßgeblich von dem individuellen genetisch vorbestimmten Wachstumspotenzial bestimmt. Maternale Faktoren, die das fetale Wachstum negativ beeinflussen sind zum Beispiel Mangelernährung, Drogen-, Nikotin- oder Alkoholabusus und Infektionen. Anlagestörungen der Plazenta oder ein verminderter plazentarer Blutfluss können zur Plazentainsuffizienz und so zur fetalen Wachstumsrestriktion führen. Desweiteren können auch fetale Chromosomenabberationen und genetische Erkrankungen zu einem geminderten Wachstum führen [13]. Insgesamt ist die IUGR also eher ein Symptom verschiedener Pathologien anstatt eine Erkrankung für sich. Eine klare Definition der intrauterinen Wachstumsrestriktion ist schwierig zu finden. Es existieren verschiedene Terminologien und viele Varianten. Ein bisher gängiges internationales Verständnis definiert die IUGR als ein Gewicht

unterhalb der zehnten Perzentile der Wachstumskurven beziehungsweise ein Gewicht zwei Standardabweichungen unterhalb des Mittelwerts der Population [14]. Dies spiegelt auch eine irische Studie aus dem Jahr 2014 wieder, die zeigte, dass die Mehrheit der befragten, erfahrenen Gynäkologen ein Geburtsgewicht unterhalb der zehnten Perzentile als ein suboptimales fetales Wachstum ansah. Vielfach genügte allein dieses Merkmal um eine IUGR zu diagnostizieren [15]. Nichtsdestotrotz gibt es aktuelle Veränderungen in der Terminologie. Viele Arbeitsgruppen definieren IUGR nun als ein Wachstum unter der zehnten Perzentile in Kombination mit einer beschriebenen Pathologie im pränatalen Ultraschall, wie zum Beispiel ein Oligohydramnion oder ein auffälliges Profil im Doppler der Nabelschnurarterie als Zeichen einer Plazentainsuffizienz [15, 16]. Die Kritik an der gängigen Definition besteht darin, dass hierbei nicht unterschieden wird zwischen pathologischen wachstumsverzögernden Prozessen und Normvarianten des fetalen Wachstums, bei denen die Kinder ausschließlich im unteren Normbereich der restlichen Population liegen, ohne dass dies einen Krankheitswert besitzt. Zum weiteren Verständnis sei darauf hingewiesen, dass in dieser Studie die bisher gängige Definition benutzt wurde, sodass IUGR gleichzusetzen ist mit einem Körpergewicht unterhalb der zehnten Perzentile.

Kinder mit IUGR haben eine erhöhte perinatale Morbidität und Mortalität. Die Rate an Frühgeburtlichkeit ist höher. Postnatal leiden Kinder mit IUGR häufiger an Thermoregulationsstörungen und metabolischen Dysregulationen. Es besteht weiterhin ein erhöhtes Risiko für hepatische Enzephalopathie, intraventrikuläre Hirnblutungen und nekrotisierende Enterokolitis [17-19]. Neben dem verschlechterten perinatalen *outcome* zeigt sich für Kinder mit IUGR auch ein schlechteres Langzeit-*outcome*. Im Hinblick auf die fetale Programmierung zeigen viele Studien eine Assoziation von IUGR und Erkrankungen aus dem Formenkreis des metabolischen Syndroms. Menschen mit niedrigem Geburtsgewicht haben ein erhöhtes Risiko an arterieller Hypertonie oder an einer koronaren Herzkrankheit zu erkranken [9, 10, 20, 21]. Daneben erhöht sich auch das Risiko für eine gestörte Glukosetoleranz und die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ zwei [22, 23]. Desweiteren zeigen Untersuchungen auch einen negativen Effekt von IUGR auf die Lungenfunktion im Kindesalter [24] und einen Zusammenhang von IUGR und dem Auftreten von kindlichem Asthma [25]. Die

IUGR ist also in vielerlei Hinsicht ein Risikofaktor für eine nachteilige fetale Entwicklung und für die Entstehung von Krankheiten im späteren Leben.

## 1.2 Pränataler Stress

Stress macht krank. Bekannt ist beispielsweise die große Bedeutung von Stress bei der Entstehung von Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems [26] oder der peptischen Ulkuserkrankung [27]. Neben diesen klassischen Stress-assoziierten Erkrankungen nimmt auch die Forschung in der Geburtshilfe, Pränatalmedizin und Neonatologie zum Thema Stress und dessen Auswirkung auf die Gesundheit von Mutter und Kind immer mehr zu. Stress, den die Mutter während der Schwangerschaft erfährt, wird als pränataler Stress bezeichnet.

Aber was ist Stress eigentlich genau? Eine allgemeingültige Antwort auf diese Frage gibt es nicht. Die gleiche Situation wird von verschiedenen Menschen als unterschiedlich stressend empfunden und verschiedene Situationen von jedem Menschen als unterschiedlich Stress erzeugend bewertet. Stress ist also individuell. Dies spiegelt sich auch in der Wissenschaft wieder, denn auch hier liegen zahlreiche verschiedene Definitionen des Stressbegriffs vor. Verschiedene Stresstheorien versuchen den Zusammenhang von Stressoren und Stressreaktionen darzustellen. Eine gute Zusammenfassung liefern Tordjman et al. mit folgender Definition: „Stress kann definiert werden als ein Zustand innerer Spannung, der durch eine Veränderung des gewöhnlichen psychologischen Zustands (zum Beispiel, eine positive oder negative Emotion), durch eine Veränderung des gewöhnlichen physischen Zustands (zum Beispiel, Krankheit) oder durch eine Veränderung der gewöhnlichen Umgebung (zum Beispiel, Umzug in ein neues Heim) Zeit, Anstrengung und eine physiologische Reaktion (Veränderung der Stresshormonspiegel) zur Adaptation erfordert.“ [6] Stress kann also immer dann entstehen, wenn eine Person mit Anforderungen konfrontiert ist, an die sich der Organismus anpassen muss, um die Homöostase aufrechtzuerhalten [28]. Dieser Anpassungsprozess wird als Adaptation bezeichnet. Über die Adaptationsvorgänge im Organismus kann Stress Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit haben. Die körperlichen

Reaktionen auf Stress beschreibt Seyle in seinem Phasenmodell als allgemeines Adaptationssyndrom. Demnach sind die Aktivierung des sympathikoadrenergen Systems und die Aktivierung der HPA-Achse Anpassungsreaktion des Körpers auf eine akute Stressexposition. Schon Seyle beschrieb aber auch, dass neben der sogenannten Alarmphase mit oben genannten Körperreaktionen auch eine Erschöpfungsphase folgt, wenn Stressoren mit den physiologischen Anpassungsvorgängen des Körpers nicht eliminiert werden können. Die Erschöpfungsphase ist gekennzeichnet durch das Unvermögen des Körpers auf chronische Stressoren langfristig adäquat zu reagieren [29]. An diesem Punkt wird Stress zu einem pathogenen Faktor, der zur Auslösung von Krankheiten führen kann.

Pränataler Stress kann sich aus verschiedenen Faktoren zusammensetzen. Schwangere sind genau wie andere Menschen potenziell Stress erzeugenden Anforderungen wie besonderen Lebensereignissen oder Alltagsbelastungen ausgesetzt. Hinzu kommen aber auch die physischen und psychischen Anforderungen durch die Schwangerschaft selbst. Auch diese können als eigenständige Stressoren wirken. Auswirkungen von maternalem Stress auf den Schwangerschaftsverlauf, auf die fetale und auf die kindliche Entwicklung wurden vielfach untersucht. Viele Studien zeigen Zusammenhänge zwischen pränatalem Stress, niedrigem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit. Da Frühgeburtlichkeit und niedriges Geburtsgewicht die Hauptursachen für die perinatale Mortalität darstellen, ist ihr Zusammenhang mit pränatalem Stress von besonderem wissenschaftlichem und klinischem Interesse. Neben den kurzfristigen Effekten auf den Schwangerschaftsausgang gibt es auch Untersuchungen, die langfristige Effekte von pränatalem Stress auf die kindliche Entwicklung zeigen. Ähnlich wie die IUGR kann Stress zur fetalen Programmierung beitragen und somit den Grundstein für Erkrankungen im Erwachsenenalter legen. In der vorliegenden Studie wurden zwei Aspekte von pränatalem Stress und ihre Auswirkungen auf die fetale Stressantwort untersucht. Dabei handelt es sich um das Erleben von kritischen Lebensereignissen und schwangerschaftsspezifischem Stress, auf die im Folgenden genauer eingegangen wird.

### 1.2.1 Stress durch kritische Lebensereignisse

Die *life-event*-Forschung beschäftigt sich schon seit vielen Jahren mit der Frage welche Auswirkungen kritische Lebensereignisse auf die Entstehung und den Verlauf von psychischen und körperlichen Störungen haben. Die Definition was ein kritisches Lebensereignis ist, variiert von Autor zu Autor. Besonders geprägt wurde der Begriff durch Holmes und Rahe. Sie definierten ein stressreiches Lebensereignis, als ein Ereignis, dessen „Eintreten entweder eine bedeutsame Veränderung im Leben des Individuums erfordert oder auf eine solche hindeutet“ [30]. Antonovsky und Kats benutzen den Begriff der Lebenskrise und definieren ihn als eine „Erfahrung, die entweder Leid aufbürdet oder eine Rollentransformation erfordert“ [31]. Filipp definiert ein kritisches Lebensereignis, als „systemimmanente Widersprüche in der Person-Umwelt-Beziehung, die einer Lösung bedürfen bzw. die Herstellung eines neuen Gleichgewichts fordern“ [32]. Ein Lebensereignis ist also dadurch gekennzeichnet, dass der normale Ablauf des Lebens unterbrochen wird und eine spezifische Anpassungsleistung (Adaptation) des Individuums erforderlich ist um diese Situation zu bewältigen und die Homöostase wiederherzustellen. Dabei wird deutlich, dass Lebensereignisse nicht ausschließlich negativer Natur sein müssen. Auch positiv assoziierte Ereignisse wie Heirat, Geburt eines Kindes oder Abschluss einer Ausbildung können ein einschneidendes Ereignis sein, auf das die oben genannten Definitionen zutreffen. Weiterhin sind Lebensereignisse für jeden Menschen unterschiedlich belastend, da sie subjektiv unterschiedlich bewertet werden. Dies erklärt sich durch das transaktionale Stressmodell von Lazarus und Launier. Hierbei hängt das Ausmaß des Stressempfindens von der Kombination der primären und sekundären Stressbewertung ab. Bei der primären Stressbewertung wird zunächst festgelegt, ob das vorliegende Lebensereignis als herausfordernd, bedrohlich oder schädigend empfunden wird und bei der sekundären Stressbewertung wird überprüft, ob genügend Ressourcen verfügbar sind um die Situation zu bewältigen [33]. Ein kritisches Lebensereignis muss also nicht unbedingt von jeder Person als stressend empfunden werden, wenn die Einschätzung vorliegt, die Situation angemessen bewältigen zu können. Die Hypothese der *life-event*-Forschung besagt, dass das Auftreten von vielen belastenden Lebensereignissen in einem bestimmten Zeitraum pathogene Effekte besitzt und somit krankheitsauslösend sein kann. Die Auswirkungen von kritischen Lebensereignissen auf die

Schwangerschaft und die fetale Entwicklung wurde bereits vielfach untersucht. So zeigen zum Beispiel zwei Studien aus den Jahren 2008 und 2009 an über einer Million dänischer Frauen, dass das Auftreten schwerwiegender Lebensereignissen, definiert als Tod oder schwere Erkrankung eines nahen Angehörigen innerhalb der ersten sechs Schwangerschaftsmonate, signifikant mit einem niedrigerem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit assoziiert ist [34, 35]. Eine weitere Studie an über 8000 chilenischen Frauen aus dem Jahr 2010 ergab, dass das Erleben eines Erdbebens im zweiten bis dritten Schwangerschaftsmonat zu einem deutlich niedrigerem Geburtsgewicht und Gestationsalter führte [36]. Zhu et al. untersuchten das Auftreten von belastenden Lebensereignissen im ersten, zweiten und dritten Trimester bei 1800 chinesischen Frauen und konnte einen Zusammenhang von Frühgeburtlichkeit und einer höheren Anzahl kritischer Lebensereignisse im ersten und zweiten Trimester feststellen. Außerdem zeigte sich eine Verminderung des Geburtsgewichts um fast 100 Gramm pro Anzahl der erlebten kritischen Lebensereignisse [5]. Im Hinblick auf langfristige Auswirkungen auf die kindliche Entwicklung konnte ebenfalls an oben genannter dänischer Population gezeigt werden, dass schwerwiegende Lebensereignisse im ersten Trimester mit einem erhöhten Risiko für Schizophrenie beim Nachwuchs assoziiert sind [37]. Auch eine verminderte kognitive und sprachliche Leistung bei Kindern im Alter von fünfeneinhalb Jahren, deren Mütter in der Schwangerschaft eine Naturkatastrophe erlebt hatten, wurde festgestellt [38]. Deutlich wird also, dass das Erleben kritischer Lebensereignisse in der Schwangerschaft Auswirkungen auf Geburtsgewicht und Schwangerschaftsdauer hat und auch im Hinblick auf die frühzeitige Programmierung des fetalen Genoms und somit das Entstehen von Krankheit im späteren Leben eine Rolle spielt.

### 1.2.2 Schwangerschaftsspezifischer Stress

Stress, der im direkten Zusammenhang mit der Schwangerschaft steht, scheint unabhängig von Stress anderer Ursache, einen großen Einfluss auf *outcome* und Verlauf der Schwangerschaft zu haben [39]. Studien zeigen, dass ein hohes Stressempfinden im Bezug auf die Schwangerschaft nur zu geringen Anteilen

durch eine Neigung zur generellen Ängstlichkeit erklärt werden kann [40]. Schwangerschaftsbezogener Stress ist also ein besonderes Phänomen und tritt nicht nur bei Frauen auf, die sowieso schon ängstlich sind. Schwangerschaftsspezifischer Stress beinhaltet Ängste, die sich um die Gesundheit des Kindes, körperliche Symptome, zwischenmenschliche Beziehungen, Wehen und Geburt und die Elternschaft drehen [41-43]. Lobel et al. zeigten 2008, dass schwangerschaftsspezifischer Stress direkt zur Frühgeburtlichkeit beiträgt und diese sogar besser vorhersagt als allgemeiner Stress [4]. Ebenso zeigten Kramer et al. 2009, dass insbesondere schwangerschaftsspezifischer Stress mit einer erhöhten Rate an spontanen Frühgeburten zusammenhängt und indirekt durch eine höhere Rate an rauchenden Müttern auch zu einem vermindertem Geburtsgewicht führt [44]. Schwangerschaftsspezifischer Stress zeigt auch Effekte auf die Verhaltens- und Emotionsregulation bei Kleinkindern. In einer longitudinalen Studie aus Holland zeigten Kinder im Alter von 27 Monaten von Müttern mit hoher schwangerschaftsbezogener Ängstlichkeit mehr Probleme in der Temperament- und Verhaltensregulation [45]. Ebenso zeigt sich auch eine verminderte Aufmerksamkeitsspanne im Alter von drei Monaten bei Kindern von Müttern mit hoher schwangerschaftsbezogener Ängstlichkeit [46]. Ebenso wie kritische Lebensereignisse hat also auch schwangerschaftsspezifischer Stress kurz- und langfristige Auswirkung auf die Gesundheit der Kinder.

### **1.3 Neuroendokrine Stressreaktion der Mutter**

Der Körper reagiert auf Stress mit verschiedenen Adaptationsvorgängen. Zu den psycho-biologischen Systemen der physiologischen Stressantwort gehört auch die Aktivierung der HHN-Achse. Bei Stress kommt es über neuronale Projektionen vom Kortex, Amygdala und limbischem System und Hippocampus zur Ausschüttung von Kortikotropin-*Releasing*-Hormon (CRH) im Hypothalamus. Der Anstieg von CRH in der Blutbahn bewirkt eine Freisetzung von Adrenokortikotropin-*Releasing*-Hormon (ACTH) in der Hypophyse, welches wiederum die Ausschüttung von Glukokortikoiden in der Nebennierenrinde (NNR)

zur Folge hat. Eine akute Erhöhung der Kortisolspiegel im Blut wirkt wiederum negativ rückkoppelnd auf das HHN-Achse. Über Glukokortikoidrezeptoren führt Kortisol am Hypothalamus zu einer verminderten Ausschüttung von CRH. Bei wiederholten oder dauerhaft bestehenden Stressoren kommt es hingegen zu einer *down*-Regulierung der Rezeptoren und so zu einer verminderten Empfindlichkeit der übergeschalteten Zentren für Kortisol. Die negativen *feedback*-Mechanismen fallen aus und die Glukokortikoidkonzentrationen sind dauerhaft erhöht [47, 48].

In der Schwangerschaft ist HHN-Achse wesentlich durch den Einfluss der Plazenta verändert. In der Plazenta werden große Mengen an CRH gebildet [49, 50]. Die plazentare CRH-Produktion steigt mit dem Verlauf der Schwangerschaft an und erreicht zum Geburtstermin die Höchstwerte. Plazentares CRH ist in seiner Struktur und Aktivität identisch mit hypothalamischem CRH. Somit führt auch plazentares CRH zur Ausschüttung von ACTH und Kortisol [51]. Plazentares CRH unterliegt allerdings nicht den negativen *feedback*-Schleifen durch Kortisol wie die anderen vorgeschalteten Bereiche der maternalen NNR sondern wird im Gegenteil durch Kortisol weiter stimuliert [52]. Somit kommt es in der Schwangerschaft zu einem positiven Rückkopplungsmechanismus also einer erhöhten Konzentration von CRH, ACTH und Kortisol im Blut [53]. Trotz des Hyperkortisolismus während der Schwangerschaft konnte gezeigt werden, dass Stress weiterhin zu einer Erhöhung der Kortisolkonzentrationen im mütterlichen Speichel führt [54, 55]. Abbildung 1 zeigt die maternale HHN-Achse während der Schwangerschaft [56].

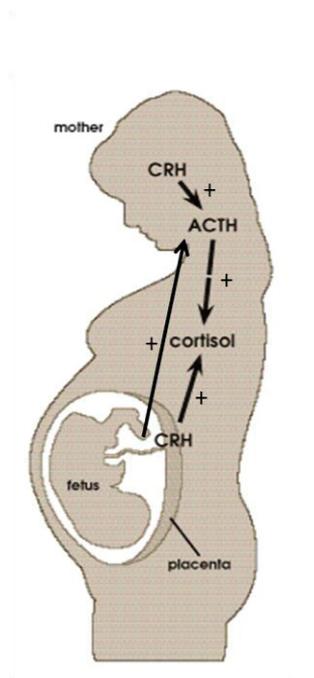


Abbildung 1: **Die HHN-Achse in der Schwangerschaft (modifiziert nach [57]).** CRH aus Hypothalamus und Plazenta stimulieren die ACTH-Ausschüttung aus der Hypophyse. ACTH stimuliert die Kortisolproduktion in der NNR. Kortisol hat einen *feed-forward*-Mechanismus auf die placentare CRH-Ausschüttung.

## 1.4 Neuroendokrine Stressreaktion des Fetus

Die fetale HHN-Achse reguliert die Synthese und Ausschüttung der Steroidhormone beim Fetus und ist Teil der physiologischen fetalen Stressantwort. Diese Hormonachse wird durch die intrauterine Umgebung und die mütterlichen Hormone wesentlich beeinflusst. Sowohl placentare Funktionsstörungen als auch maternale Stresshormone können über verschiedene Mechanismen eine Aktivierung der fetalen HHN-Achse bewirken. Fetale Steroidhormone der Nebennierenrinde sind notwendig zur Erhaltung der intrauterinen Homöostase, für die fetale Organreifung und für die Einleitung der Geburt. Die fetale HHN-Achse bildet mit der Plazenta die feto-placentare Einheit, deren Zusammenspiel eine wichtige Rolle für den regelrechten Schwangerschaftsverlauf und die fetale Entwicklung spielt. Im Folgenden wird die embryonale Entwicklung und Funktionalität sowie die Regulation der fetalen HHN-Achse beschrieben.

### 1.4.1 Entwicklung der fetalen NNR

Die Entwicklung der menschlichen Nebenniere beginnt um die vierte SSW und erstreckt sich bis in das Erwachsenenalter. Sucheston und Cannon beschrieben eine Entwicklung der menschlichen Nebenniere in fünf Stadien. Stadium eins (dritte bis vierte SSW) und Stadium zwei (vierte bis sechste SSW) beinhalten die Kondensation und Proliferation der Rindenzone ausgehend vom Zölomepithel. Ab Stadium drei (achte bis zehnte SSW) zeigt sich erstmalig die morphologische Differenzierung der Zellen in zwei verschiedene Zonen, die innere fetale Zone und die äußere definitive Zone [57]. Die äußere definitive Zone ist hier nur ein schmales Band von Zellen, welches die fetale Zone umgibt. Zwischen äußerer definitiver Zone und innerer fetaler Zone entwickelt sich erst in der späten Schwangerschaft eine dritte sogenannte Übergangszone. Die fetale Zone macht 80 – 90 % des Volumens der fetalen NNR aus. Im Bezug auf die Morphologie der erwachsenen NNR entwickelt sich die äußere definitive Zone zur Zona glomerulosa (Ort der Mineralkortikoidsynthese) die mittlere Übergangszone zur Zona fasciculata (Ort der Glukokortikoidsynthese) und die innere fetale Zone zur Zona reticularis (Ort der Androgensynthese) [58]. Abbildung 2 zeigt Morphologie und Histologie der fetalen und adulten Nebennierenrinde.

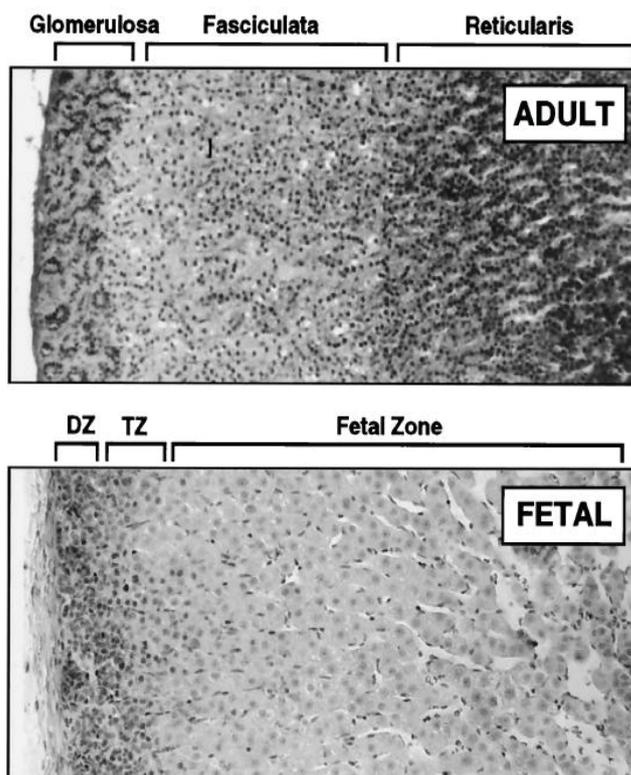


Abb. 2: **Morphologie der fetalen und adulten Nebenniere [58].** Die adulte NNR gliedert sich in Zona glomerulosa, Zona fascicularis und Zona reticularis. Die fetale NNR gliedert sich in äußere Zone (DZ), Übergangszone (TZ) und fetale Zone. Die fetale Zone macht 80-90% der fetalen NNR aus.

Ab der zehnten SSW nimmt die fetale Nebenniere stetig an Größe zu. Das Wachstum beschränkt sich dabei hauptsächlich auf die fetale Zone. Bis zur 30. SSW verdoppelt sich die Größe der fetalen Nebenniere und auch danach findet weiteres Wachstum statt. Postnatal entwickelt sich die fetale Zone sehr bald zurück (Stadium vier nach Sucheston und Cannon) und das relative Gewicht der Nebenniere nimmt rapide ab. Es wird angenommen, dass die fetale Zone sich durch Apoptose zurückbildet, während gleichzeitig definitive Zone und Übergangszonen weiter proliferieren. Das Stadium fünf nach Sucheston und Cannon beschreibt schließlich die Etablierung und Stabilisierung der Nebennierenrindenzonen bis zum 20. Lebensjahr [58].

#### 1.4.2 Steroidsynthese in der fetalen NNR

Die Steroidsynthese in der fetalen Nebenniere ist zonenspezifisch und abhängig von dem zonenspezifischen Zelltyp und dessen exprimierten Enzymen. Ausgangsprodukt aller Steroidhormone ist Cholesterin welches in der Nebenniere zu Pregnenolon konvertiert wird. Der weitere Weg von Pregnenolon wird bestimmt durch die beiden Schlüsselenzyme Cytochrom P450 17 $\alpha$ -Hydroxylase (P450c17) und 3 $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (3 $\beta$ -HSD). Werden beide Enzyme exprimiert sind die Zellen in der Lage aus Pregnenolon Kortisol zu synthetisieren. Wird nur 3 $\beta$ -HSD exprimiert richtet sich die Steroidsynthese in Richtung Mineralkortikoide bzw. Aldosteron. Wird andererseits nur P450c17 exprimiert wird vor allem DHEA gebildet. Dementsprechend ist das Enzym 3 $\beta$ -HSD essentiell für die Neusynthese von Mineralkortikoiden und Glukokortikoiden aus Pregnenolon, während das Enzym P450c17 essentiell für die Synthese der Androgenvorstufen wie DHEA ist [58]. Einen Überblick über die Steroidbiosynthese gibt Abbildung 3.

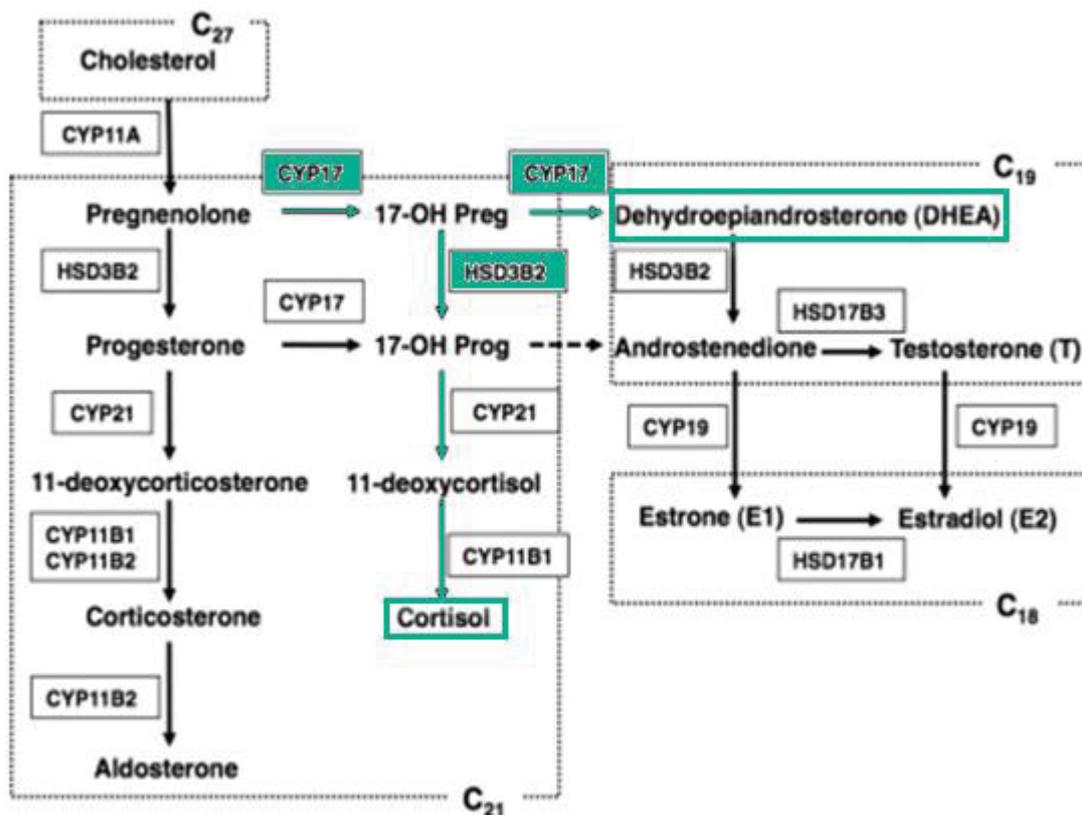


Abb. 3: **Ablauf der Steroidbiosynthese (modifiziert nach [59]).** (Synthese von DHEA und Cortisol türkis hervorgehoben) Voraussetzung für die Synthese von DHEA ist Cytochrom P450 17 $\alpha$ -Hydroxylase (CYP17). Für die Synthese von Cortisol wird weiterhin 3 $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (HSD3B2) benötigt.

Entsprechend dieser Grundlagen zeigen immunhistochemische Untersuchungen fetaler Nebennierenrindenzellen, dass in der fetalen Zone schon ab der zehnten Schwangerschaftswoche P450c17 exprimiert wird, aber zu keinem Zeitpunkt der Schwangerschaft 3 $\beta$ -HSD [58, 60]. Dies legt nahe, dass in der fetalen Zone hauptsächlich DHEA produziert wird. Ein Nachweis von 3 $\beta$ -HSD in der definitiven und transitionalen Zone kann erst für die spätere Schwangerschaft gezeigt werden [61, 62]. Das bedeutet, dass in der fetalen Nebennierenrinde für den größten Teil der Schwangerschaft kein Cortisol oder Aldosteron *de novo* synthetisiert wird, da Pregnenolon nicht zu Progesteron konvertiert werden kann. Da die fetale Zone den größten Teil der fetalen Nebenniere einnimmt und dort C19-Steroide produziert werden, ist das Hauptsyntheseprodukt der fetalen Nebenniere DHEA. Die Synthese von DHEAS findet also fast über den gesamten Zeitraum der Schwangerschaft statt und steigt zudem im zweiten und dritten Trimester deutlich an. Zum Entbindungstermin liegt die tägliche DHEAS-Produktion der fetalen Nebennierenrinde bei circa 200 mg [63]. Der Hauptteil von DHEA wird noch in der

fetalen Nebenniere über die Sulfotransferase zum biologisch inaktiven DHEAS sulfatiert und als solches in den Blutkreislauf abgegeben [62]. In der Plazenta wird über die Sulfatase DHEAS wieder zum biologisch aktiven DHEA konvertiert und so der Synthese von Östrogenen zugeführt.

### 1.4.3 Regulation der fetalen HHN-Achse

Die Regulation von Wachstum und Steroidsynthese der fetalen Nebenniere ist abhängig von mehreren Faktoren. Sowohl hypophysäres ACTH als auch plazentares CRH und das Zusammenspiel mit mütterlichen Hormonen nehmen Einfluss auf die Aktivität der fetalen HHN-Achse. ACTH ist Hauptstimulus für das Wachstum und Aktivität der fetalen NNR. Unter ACTH-Stimulation zeigen Nebennierenrindenzellen in vitro eine vermehrte Expression von  $3\beta$ -HSD und eine gesteigerte Produktion von DHEAS [58, 64]. Das Fehlen der Hypophyse und somit das Fehlen von ACTH verursacht bei anenzephalen Feten eine Atrophie der NNR und eine mangelnde plazentare Östrogenproduktion, bei fehlender fetaler DHEA-Synthese [65]. Plazentares CRH stimuliert über die Ausschüttung von fetalem ACTH die weitere Ausschüttung fetaler Steroidhormone und wirkt weiterhin auch direkt über eigene Rezeptoren stimulierend auf die DHEAS-Produktion fetaler Nebennierenrindenzellen [66].

Wichtig für die Regulation der fetalen HHN-Achse ist auch die Interaktion mit der Plazenta. Das Konzept der feto-plazentaren Einheit erklärt das Zusammenspiel der fetalen NNR und der Plazenta durch die Produktion von DHEA und DHEAS in der fetalen NNR und deren Weiterverwendung zur Biosynthese von Östrogenen in der Plazenta. Die hormonelle Wirkung von Östrogenen in der Schwangerschaft ist vielfältig und essentiell für den physiologischen Verlauf der Schwangerschaft. Die Plazenta selbst kann keine C19-Steroide herstellen, da ihr das Enzym P450c17 fehlt um aus Pregnenolon oder Progesteron C19-Steroide zu synthetisieren. Hauptsubstrate für die plazentare Synthese von Östrogenen sind daher fetales DHEA bzw. DHEAS [58]. Nach Abspaltung der Sulfatgruppe von DHEAS durch die Sulfatase konvertiert die  $3\beta$ -HSD DHEA zu Androstendion, welches dann zu Östrogen aromatisiert wird [67]. Abbildung 4 zeigt die fetoplazentare Einheit.

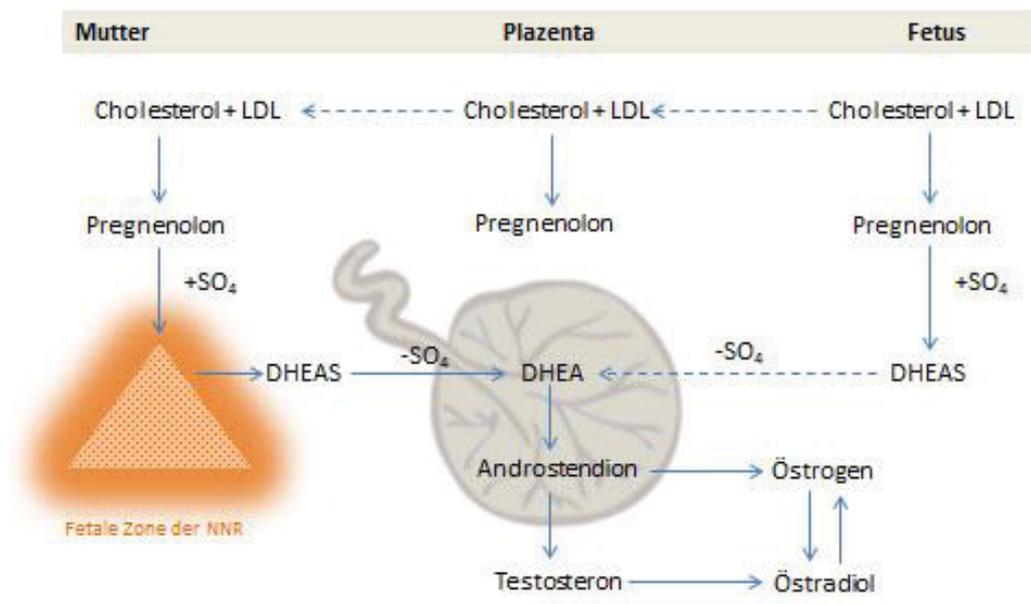


Abb. 4: Die fetoplazentare Einheit (modifiziert nach [68]). Cholesterin und *low density lipoprotein* (LDL) sind die Ausgangssubstrate der Steroidsynthese. In der Nebenniere wird daraus DHEAS produziert. In der Plazenta wird fetales und maternales DHEAS nach Abspaltung der Sulfatgruppe (SO<sub>4</sub>) weiter zu Östrogenen synthetisiert.

Die fetale NNR exprimiert Östrogenrezeptoren. Hohe Östrogenspiegel vermindern über diese Rezeptoren die Empfindlichkeit der Nebennierenrinde für ACTH, sodass weniger DHEAS gebildet wird [69, 70]. Im letzten Trimester der Schwangerschaft wird die Expression von Östrogenrezeptoren in der fetalen NNR herunter reguliert, sodass der negative Feedbackmechanismus von Östrogen wegfällt und es zu einem Anstieg der Östrogenwerte in der Plazenta kommt [68]. Zusätzlich steigern hohe Östrogenspiegel die Oxidationsrate von Kortisol zum biologisch inaktiven Kortison durch das plazentare Enzym 11beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11β-HSD) [71, 72]. Für den größten Teil der Schwangerschaft kann der Fetus kein eigenes Kortisol *de novo* produzieren [60, 61, 73, 74], da aber die Plazenta für mütterliches Kortisol permeabel ist, erreicht trotzdem eine gewisse Menge an Kortisol den fetalen Kreislauf. Über das Enzym 11β-HSD wird reguliert wie viel maternales Kortisol den Fetus erreicht. Kurzfristig haben hohe Kortisolspiegel einen negativen *feedback*-Mechanismus auf die HHN-Achse. Langfristig zeigt sich aber, dass erhöhte Kortisolspiegel zu einer Aktivierung der

fetalen HHN-Achse führen. Abbildung 5 zeigt die verschiedenen Regulationsmechanismen der fetalen NNR.

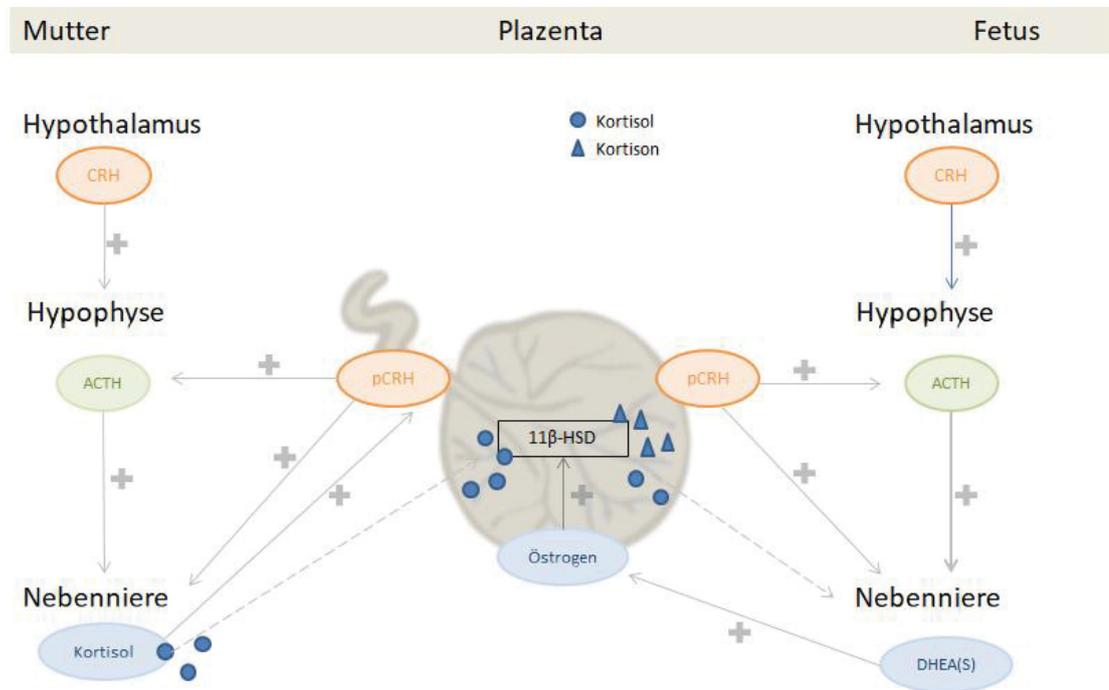


Abb. 5: **Regulation der fetalen HHN-Achse (modifiziert nach [75]).** Die Abbildung zeigt das Zusammenspiel der maternalen, plazentaren und fetalen Einheit in der Regulation der fetalen HHN-Achse. Maternales Kortisol (Kreise) stimuliert die plazentare CRH-Produktion. Plazentares CRH (pCRH) stimuliert die maternale und fetale HHN-Achse. Hohe Östrogenspiegel fördern die Konversion von Kortisol zu Kortison (Dreiecke) durch die 11 $\beta$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11 $\beta$ -HSD).

## 1.5 Messbarkeit von fetalem Stress

Die oben beschriebenen Grundlagen der fetalen HHN-Achse und deren Interaktion mit Plazenta und mütterlicher HHN-Achse beruhen zum großen Teil auf in vitro Untersuchungen humaner Zellen bzw. Untersuchungen an Säugetieren und Primaten. Die aktive Messbarkeit von fetalem Stress über Quantifizierung der Hormonkonzentrationen der HHN-Achse gestaltet sich aufgrund mangelnder non-invasiver Verfahren während der Schwangerschaft und Mangel an postnatal durchführbaren retrospektiven Untersuchungen schwierig. Grund dafür ist die

mangelnde Zugänglichkeit zur fetalen HHN-Achse in der Schwangerschaft. Meist ist eine invasive Diagnostik während der Schwangerschaft erforderlich um eine direkte Verknüpfung zwischen mütterlichen Änderungen der Stresshormonkonzentrationen und fetalen Hormonkonzentrationen zu zeigen. Hier bleiben als direkte Zugangswege zum Fetus nur Nabelschnurblutentnahmen und Untersuchung der Amnionflüssigkeit. Auch der Mangel an postnatal durchführbaren Methoden, die noch Rückschlüsse auf die intrauterine Zeit liefern, stellt eine weitere Schwierigkeit dar. Blut-, Speichel- und auch Urinproben haben den Nachteil, dass nur kurzzeitige Veränderungen der Hormonkonzentrationen gemessen werden können. Eine Aussage, die einen längeren Zeitraum des fetalen Lebens umfasst ist nicht möglich. Die meisten Autoren untersuchen dabei Kortisol als Marker der fetalen HHN-Achsen Aktivität. Insbesondere im Hinblick auf das fetale Stresshormonprofil am Ende der Schwangerschaft und zu Beginn der Geburtsperiode wurden einige Untersuchungen durchgeführt. Oh et al. untersuchten eine Kohorte von 374 Einlingsschwangerschaften auf die Plasmakonzentrationen von Kortisol und DHEAS in Abhängigkeit von Gestationsalter und Geburtsmodus. Material wurde dabei entweder während pränatal durchgeführter Cordozentesen oder durch Nabelschnurblutentnahmen nach Entbindung gewonnen. Zeigen konnten die Autoren, dass fetale DHEAS-Konzentrationen zum Ende der Schwangerschaft ansteigen, jedoch kein akuter Anstieg zum Beginn der Wehentätigkeit stattfindet. Für Kortisol hingegen konnte ein Anstieg in Verbindung mit dem Einsetzen der Wehen bei Geburt gezeigt werden [76]. Die Auswirkungen von akuten Stressoren auf die HHN-Achse des Fetus wurden von Gitau et al. im Rahmen von intrauterinen Bluttransfusionen untersucht. Hier zeigte sich ein Anstieg der venösen Kortisolkonzentration des Fetus bei Punktion der fetalen Vena hepatica durch das fetale Abdomen, jedoch kein Anstieg bei Punktion der nicht sensorisch-innervierten Nabelschnur [77]. Weitere Untersuchungen der fetalen HHN-Achse erfolgten auch im Hinblick auf die Auswirkungen einer pränatalen Behandlung mit synthetischen Glukokortikoiden zum Beispiel im Rahmen der Prophylaxe des fetalen Atemnotsyndroms oder einer mütterlichen Asthma-Therapie. Eine aufwendig durchgeführte Rezension von Tegethoff et al. aus dem Jahr 2009 fasst die Ergebnisse von Untersuchungen der Auswirkungen pränatal applizierter synthetischer Glukokortikoide auf die fetale HHN-Achse zusammen. Zusammenfassend zeigt ihre Analyse, dass sowohl Kortisol als auch ACTH und

DHEAS in glukokortikoid-expositionierten Feten in der Amnionflüssigkeit und dem Nabelschnurblut supprimiert sind [78]. Im Hinblick auf die Auswirkungen von maternalem Stress auf die fetale HHN-Achse untersuchten Tegethoff et al. eine Gruppe von 80 neugeborenen Kindern auf ihre DHEA und DHEAS Konzentration im Nagel im Bezug auf die maternale pränatalen Stress während der Schwangerschaft. Es konnte hierbei gezeigt werden, dass Kinder von Stress-expositionierten Müttern erhöhte Konzentrationen für DHEA in ihren Nägeln aufwiesen [79]. Diese Untersuchung gab den Impuls für die vorliegende Studie. Die non-invasive Messung der fetalen Hauptsteroidhormone DHEA und DHEAS im Nagel stellt eine vielversprechende Methode dar um kumulative Hormondosen zu messen und so eine Aussage über die intrauterine Aktivität der fetalen HHN-Achse treffen zu können.

## **1.6 Menschliche Nägel als Untersuchungsmaterial in der Medizin**

Die Verwendung von Nagelmaterial als Spezimen in der Medizin erfolgt bisher vor allem unter forensischen und toxikologischen Gesichtspunkten. In letzter Zeit gewinnen allerdings Materialien wie Haare und Nägel immer mehr Aufmerksamkeit im Bezug auf das *biomonitoring* exogener Schadstoffe oder Medikamente und auch in der Analyse endogener Stoffe. Insbesondere durch die frühe embryonale Entwicklung der Nagelanlage und leichter Zugänglichkeit eignen sich Nägel auch als Untersuchungsmaterial bei Neugeborenen. Im Folgenden wird die embryonale Entwicklung, Morphologie und Biologie der Fingernägel beschrieben und anschließend auf die Verwendbarkeit von Nägeln als Untersuchungsmaterial in der Medizin eingegangen.

### 1.6.1 Aufbau und Biologie menschlicher Nägel

Die Nagelplatten sind ein kontinuierliches Produkt der Nagelmatrix. Die Nagelmatrix ist die epitheliale Keimschicht unterhalb des Nagels und setzt sich aus dem proximalen Teil im Bereich der Lunula, dem intermediären Anteil im Bereich der proximalen Nagelfalte und dem distalen Anteil im Bereich des Nagelbetts zusammen (siehe Abbildung 6). Hauptbestandteil der Nagelplatten sind dicht gepackte keratinisierte Epithelzellen. Die Bindung von stark gefalteten Proteinen über Disulfidbrücken trägt wesentlich zur Stabilität der Nagelplatten bei. Im Gegensatz zum Stratum corneum der Haut zeigen die Disulfidbrücken in Nägeln und Haaren eine andere Geometrie. Somit erklärt sich der geringere Wassergehalt von Nägeln im Vergleich zur Haut, was bedeutet, dass metabolische Prozesse, die in der Haut ablaufen im Nagel nicht mehr nachgewiesen werden können [80]. Die Nagelanlage bildet sich in der embryonalen Entwicklung zu einem sehr frühen Zeitpunkt. Schon mit der Ausbildung der Finger lässt sie sich ab der neunten Schwangerschaftswoche nachweisen [81]. Zu diesem Zeitpunkt präsentiert sich die Nagelanlage als dünne Epidermis, die die Spitze der embryonalen Finger überzieht. Um die 14. SSW beginnt die Nagelplatte aus der proximalen Nagelfalte herauszuwachsen. Nach 17 Wochen bedeckt die Nagelplatte bereits einen Großteil des Nagelbetts und mit 20 Wochen erreicht sie die Fingerspitze. Mit der Geburt sind die Nägel zum Teil schon über die Fingerbeere hinaus gewachsen [82]. Die Wachstumsrate menschlicher Nägel beträgt 1.9 mm - 4 mm pro Monat, mit einem durchschnittlichen Wachstum von 3 mm im Monat [82, 83].

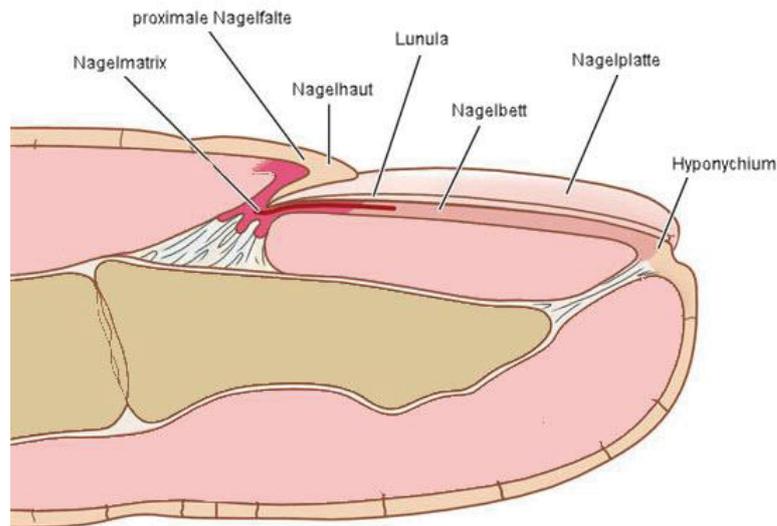


Abb. 6: **Anatomie des Nagelapparats (modifiziert nach [84])**. Die Nagelplatte bildet sich aus der Nagelmatrix, die sich im Bereich der proximalen Nagelfalte, der Lunula und auch dem Nagelbett befindet

### 1.6.2 Bisheriger Einsatz menschlicher Nägel in der medizinischen Diagnostik

Nägel und Haare sind aufgrund ihrer stabilen Struktur gut geeignet um endogene und exogene Substanzen nachzuweisen, auch wenn diese im Blut nicht mehr nachzuweisen sind. Substanzen gelangen über einen zweifachen Mechanismus in die Nägel. Zum einen werden durch den Blutfluss in der Nagelmatrix Substanzen an der Wurzel des heranwachsenden Nagels abgelagert, zum anderen werden über das Nagelbett Metabolite in die Nagelplatte inkorporiert. Es gibt bisher eine Vielzahl von Studien, in denen Nägel zum *Biomonitoring* verschiedener Substanzen benutzt wurden. Exogene Substanzen, die im Nagel nachgewiesen werden können sind zum Beispiel Schwermetalle [85], Arsen [86] oder Drogen [87-89]. So können Nägel von Neugeborenen zum Beispiel benutzt werden um einen Drogen-, Koffein- oder Nikotinkonsum der Mutter in der Schwangerschaft nachzuweisen [90]. Neben exogenen Substanzen können sich aber auch körpereigene Stoffwechselmetabolite und Hormone in Nägeln ablagern. Auch Steroidhormone der HHN-Achse lassen sich in menschlichen Nägeln nachweisen. Choi et al. bestimmten beispielweise Pregnenolon und Testosteron-

Konzentrationen mittels Gaschromatografie und Massenspektrometrie in menschlichen Nägeln. Warnock et al. benutzen die Nagelmethode zum ersten Mal um über die Bestimmung von Kortisol und DHEA die Stressexposition von Studenten zu messen [91, 92]. 2010 berichtete Ben Kheli et al. dass mittels UPLC-MS/MS Analytik auch der Nachweis von DHEA und DHEAS in niedrigen Mengen menschlicher Nägeln möglich ist [93]. Tegethoff et al. benutzen diese Methode als erstes um die fetale HHN-Achsen Aktivität über die Konzentration von DHEA und DHEAS in Nägeln von Neugeborenen zu quantifizieren [79]. Besonders interessant sind die Konzentrationen von Stresshormonen in Nägeln, da sie, im Gegensatz zu den Untersuchungsmaterialien Blut, Speichel oder Urin, das Ergebnis einer Akkumulation sind. Da die Inkorporation von Substanzen in den Nagel kontinuierlich erfolgt und Nägel eine langfristig stabile Struktur haben, erlaubt eine Analyse der Nägel eine retrospektive Aussage über systemische Metabolite, die möglicherweise schon vor Wochen aus Blut, Speichel oder Urin verschwunden sind.

## 1.7 Ziele der Arbeit

Ziel dieser explorativen Studie ist es die fetale Stressexposition mittels der Messung von DHEA und DHEAS in Fingernägeln von Neugeborenen zu quantifizieren. Bisher wurde die Hormonbestimmung nur bei gesunden reifgeborenen Neonaten durchgeführt. Frühgeburtlichkeit und niedriges Geburtsgewicht sind häufig Ausdruck einer nachteiligen intrauterinen Umgebung. Daher wurden in dieser Studie gezielt Neugeborene mit den beschriebenen Pathologien berücksichtigt. Es ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Lassen sich auch bei Frühgeborenen und wachstumsretardierten Kindern valide und reproduzierbar die Hormonkonzentrationen für DHEA und DHEAS in Fingernägeln messen?
- Wie unterscheiden sich die Hormonkonzentrationen Kindern mit und ohne intrauteriner Wachstumsretardierung

Desweiteren soll die Studie zur Klärung der Frage beitragen, in welchem Ausmaß mütterliche Hormone den Fetus tatsächlich betreffen. Die Studie untersucht daher den Zusammenhang von pränatalem Stress und der Hormonkonzentrationen von DHEA und DHEAS im Nagel. Dabei wird auf zwei Formen von pränatalem Stress Bezug genommen:

- Was sind die Auswirkungen von kritischen Lebensereignissen auf die Hormonkonzentrationen von DHEA und DHEAS in Fingernägeln von Neugeborenen?
- Was sind die Auswirkungen von schwangerschaftsspezifischem Stress auf die Hormonkonzentration von DHEA und DHEAS in Fingernägeln von Neugeborenen?

Desweiteren untersucht die Studie auch mütterliche Nägel auf die Hormonkonzentration von DHEA und DHEAS um die Frage zu beantworten:

- Wie unterscheiden sich kindliche Hormonkonzentrationen von DHEA und DHEAS im Nagel von den mütterlichen Hormonkonzentrationen?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Die vorliegende Studie gliedert sich in zwei Teile, die prospektive Erfassung der maternalen Stressexposition während der Schwangerschaft und die anschließende Untersuchung der mütterlichen und kindlichen Nägel auf ihre Konzentration von DHEA und DHEAS im Labor der Kinderklinik der Universitätsklinik Düsseldorf. Über einen Zeitraum von Februar 2013 bis Juli 2013 wurden Schwangere in Form von zwei psychologischen Fragebögen zur pränatalen Stressexposition befragt. Das diagnostische Instrumentarium setzte sich aus dem PDQ (Anhang 1) zur Erfassung von schwangerschaftsspezifischem Stress und der LES (Anhang 2) zur Erfassung von kritischen Lebensereignissen zusammen. Nach der Entbindung erfolgte die Gewinnung der Nägel. Mütter schnitten binnen sieben Tage nach Geburt ihre Fingernägel. Kindliche Nägel wurden innerhalb der ersten drei Lebensmonate der Kinder von den Eltern zuhause gesammelt und an die Uniklinik zurückgesendet. In Februar/März 2014 erfolgte die analytische Untersuchung aller Nagelproben im Labor der Kinderklinik der Uniklinik Düsseldorf. Ein positives Ethikvotum (Nummer 4079) der Universität Düsseldorf liegt vor.

#### 2.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Voraussetzungen für die Teilnahme an der Studie waren ausreichende Deutschkenntnisse zum Bearbeiten der Fragebögen sowie eine unterschriebene Einverständniserklärung. Ansonsten wurden keine Kriterien für die Teilnahme an der Studie festgelegt. Als Ausschlusskriterien ergaben sich:

- Mangelnde Deutschkenntnisse
- Fehlende Einverständniserklärung
- Das Fehlen von einem oder beiden psychologischen Fragebögen
- Das Fehlen mütterlicher und/oder kindlicher Nagelproben
- Totgeburt oder Versterben des Kindes nach Entbindung

## 2.1.2 Rekrutierungsprozess

Schwangere wurden in einem dreistufigen Prozess an der Frauenklinik der Universitätsklinik Düsseldorf für die Studie rekrutiert. Initial erklärten 79 Frauen ihre Teilnahmebereitschaft an der Studie. Insgesamt umfasste die Stichprobe am Ende 50 verwertbare Ergebnisse (siehe Abbildung 7).

Frauen mit komplikationsloser Schwangerschaft wurden während des Termins zur Geburtsanmeldung über den Kreissaal der Universitätsklinik Düsseldorf rekrutiert. Diese erste Rekrutierungsphase erfolgte im Februar 2013. Es wurden zunächst 32 Frauen über diesen Weg für die Studie rekrutiert. Bei einer *drop-out*-Rate von 50%, blieben Daten von 16 Patientinnen zur Auswertung. In dem Zeitraum zwischen Anmeldung und Arztgespräch erfolgte vor Ort das etwa fünf bis achtminütige Aufklärungsgespräch über Zweck und Ablauf der Studie. Die Schwangeren erhielten nach dem Aufklärungsgespräch den Aufklärungsbogen (Anhang 3) sowie die Fragebögen zur Erfassung des maternalen Stresses. Die Studienteilnehmerinnen wurden gebeten eine schriftliche Einverständniserklärung und Erklärung zum Datenschutz zu unterschreiben und die Fragebögen innerhalb der Wartezeit, die circa 15 – 20 min betrug, auszufüllen. Die Frauen gaben die Fragebögen dementsprechend vor Verlassen der Klinik im Sekretariat des Kreissaals ab. Frauen dieser Rekrutierungsgruppe füllten die psychologischen Fragebögen durchschnittlich in einem Schwangerschaftsalter von 34.2 SSW (Spannweite: 31 – 38 SSW) aus. Der zweite Kontakt mit den Studienteilnehmerinnen erfolgte nach der Entbindung. Es wurden den Teilnehmerinnen frankierte und adressierte Briefumschläge sowie Behältnisse zum Sammeln der kindlichen Nägel ausgehändigt. Aus Standardisierungsgründen waren die Mütter angehalten noch vor Verlassen der geburtshilflichen Station Proben ihrer eigenen Fingernägel abzugeben. Alle Frauen gaben daher innerhalb einer Woche nach Geburt ihre eigenen Nagelproben ab.

Der zweite Teil der Rekrutierung erfolgte über die geburtshilfliche Station der Universitätsklinik Düsseldorf. In Absprache mit gynäkologischen Stationsärzten, Pränatalmedizinerinnen und Neonatologen wurden Frauen, bei deren Kindern Hinweise auf eine IUGR vorlagen ausgewählt und gezielt angesprochen an der Studie teilzunehmen. Initial wurden in diesem Rahmen 37 Frauen rekrutiert, von denen 29 mit ihren Daten in die Studie einfließen. Die Aufklärung erfolgte im

Rahmen eines circa zehnmütigen persönlichen Einzelgesprächs im Krankenzimmer der Patientin, bei dem Aufklärungsbögen, Einverständniserklärungen und Fragebögen ausgehändigt wurden. Die Patientinnen mit stationärem Aufenthalt hatten durchschnittlich drei Tage Zeit zur Bearbeitung der Fragebögen. Die lange Bearbeitungsdauer der Fragebögen erklärt sich durch die besonderen Umstände während des stationären Aufenthalts der Patientinnen. Zum einen wurde durch Untersuchungen, Arztgespräche und Besuch im Krankenhaus das Ausfüllen verlängert, zum Anderen verzögerte auch die körperliche Verfassung der Patientin bei Erkrankung und die emotionale Verfassung bei Sorge um das ungeborene Kind durch Schwangerschaftskomplikationen, das Ausfüllen der Fragebögen. Frauen aus dieser Rekrutierungsgruppe füllten die Fragebögen in einem durchschnittlichen Schwangerschaftsalter von 30.1 SSW aus (Spannweite: 19 - 38 SSW). Nach dem Einsammeln der Fragebögen erhielten die Teilnehmerinnen die Behältnisse zum Sammeln der Nägel sowie frankierte und adressierte Briefumschläge zum Zurücksenden der Nagelproben.

Der dritte Teil der Studienpatientinnen erfolgte über den Sitz der Praxis praenatal.de an der Universitätsfrauenklinik. Durch die betreuende Ärztin Frau Dr. S. Fröhlich wurden Frauen ausgewählt, bei deren Kindern sonografisch eine IUGR diagnostiziert wurde. Auf diesem Weg wurden initial neun Frauen rekrutiert, von fünf dieser Patientinnen flossen Daten in die Studie ein. Die Frauen bekamen die Fragebögen und Einverständniserklärungen, Sammelbehältnisse und frankierten Briefumschläge während eines Untersuchungstermins von der Ärztin ausgehändigt. Das Ausfüllen der Fragebögen erfolgte zu Hause. Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt des Ausfüllens betrug 31.9 SSW (Spannweite: 24 - 38 SSW). Unterschriebene Einverständniserklärung, Fragebögen und Untersuchungsmaterialien wurden nach Geburt der Kinder zusammen an die Universitätsklinik zurückgesendet.

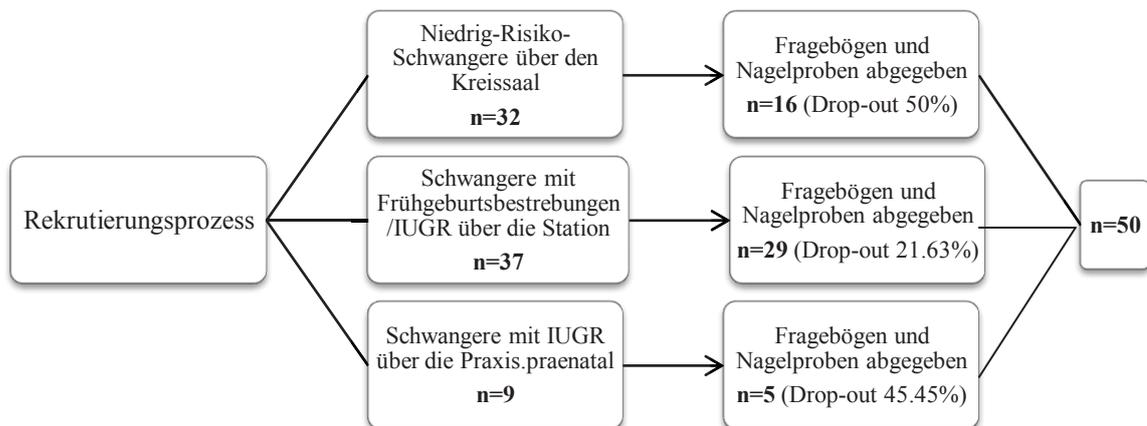


Abb. 7: **Ablauf der Patientinnenrekrutierung.** Die Rekrutierung der Studienteilnehmerinnen erfolgte in einen dreistufigen Prozess über Kreissaal und geburtshilfliche Station der Frauenklinik des UKD sowie über die Praxis praenatal.de

## 2.2 Diagnostische Instrumentarien zur Erfassung von pränatalem Stress

### 2.2.1 LES

Dieses Instrument erfasst die Art und die subjektive Beurteilung widerfahrener Lebensereignisse. Auf einer sieben-stufigen Bewertungsskala von (- 3 äußerst negativ bis + 3 äußerst positiv) wird das Ausmaß des Ereignisses auf das eigene Leben bewertet. Der Fragebogen enthält eine Auflistung von 47 Lebensereignissen und kann von den Probanden selbst noch um drei weitere Ereignisse ergänzt werden. Das Instrument spricht Veränderungen in verschiedenen Lebensbereichen an.

1. Familienkonstellation (Hochzeit, Scheidung, Familienzuwachs, Auszug eines Kindes)
2. Veränderungen der finanziellen Situation (Kreditaufnahme, Wertverlust einer Geldanlage)

3. berufliche Veränderungen (Anstellungswechsel, Arbeitsplatzverlust)
4. Veränderungen der eigenen körperlichen Integrität oder derer nahestehender Personen (körperliche Erkrankung, Tod, Fehlgeburt)
5. veränderte interpersonelle Beziehungen (sexuelle Probleme, Streit mit dem Partner)
6. Veränderungen der Lebensgewohnheiten (Wohnungswechsel, Veränderung der Schlafgewohnheiten)
7. kleinere Gesetzeskonflikte

Dabei wird das gesamt letzte Lebensjahr abgefragt, unterteilt in die letzten 0 - 6 Monate und die davor liegenden letzten 7 - 12 Monate. Durch Aufsummieren der Bewertungseinträge für unerwünschte oder erwünschte Ereignisse kann ein Gesamtwert für negative oder positive aufgetretene Lebensereignisse ermittelt werden. Die Autoren beschreiben eine relative Unabhängigkeit von Tendenzen der sozialen Erwünschtheit und aktuellen Stimmungslage und eine *Test-Retest*-Reliabilität für negative Veränderungswerte von  $r = 0.56$  bzw.  $r = 0.88$  nach fünf bis sechs Wochen. Zusätzlich zeigen die negativen Veränderungswerte der LES signifikante Korrelationen mit anderen wichtigen stressassoziierten psychologischen Maßen wie Angst und Angstneigung (*State-Trait Anxiety Inventory*), Depression (*Beck Depression Inventory*) und externaler Kontrollüberzeugung (*Rotters Locus of Control*) [94].

### 2.2.2 PDQ

Der PDQ dient der schnellen Erfassung von schwangerschaftsspezifischem Stress. Er beinhaltet 12 *items*, die den Grad der Besorgnis der Schwangeren über verschiedene schwangerschaftsbezogene Themen auf einer 5-stufigen Likert-Skala (0 trifft gar nicht zu bis 4 trifft sehr stark zu) abfragen und kann innerhalb von fünf Minuten ausgefüllt werden. Die 12 *items* beinhalten drei Faktoren[41]:

1. Besorgnis über die Geburt und das Baby („Ich mache mir Sorgen darüber, ein krankes Kind zur Welt zu bringen“ , „Ich habe Angst vor den Wehen und der Geburt“)

2. Besorgnis über Gewicht und Körpergestalt („Mich stören Gewichtszunahmen in der Schwangerschaft.“, „Insgesamt belasten mich die Veränderungen meiner Figur und meines Körperumfangs“)
3. Besorgnis über Emotionen und Beziehungen („Mich plagen die gefühlsmäßigen Höhen und Tiefen während der Schwangerschaft.“, „Ich mache mir Sorgen darüber, dass sich durch das Baby die Beziehung zum Vater des Kindes ändern wird.“)

Die Originalversion des Fragebogen wurde an drei großen amerikanischen Kohorten getestet, die Erst- und Mehrfachgebärende, Frauen mit hohem und niedrigem sozioökonomischen Status sowie Frauen mit Hochrisikoschwangerschaften und komplikationslosen Schwangerschaften beinhalteten. Es zeigt sich eine gute interne Konsistenz von  $\alpha = 0.81$ . [42, 95, 96]. Außerdem konnten signifikante Zusammenhänge ( $r = 0.53$   $p < 0.05$ ) mit nicht spezifischen globalen Stressmaßen gefunden werden. Trotz des signifikanten Zusammenhangs mit globalen Stressmaßen deutet die Größe des Korrelationskoeffizienten darauf hin, dass die schwangerschaftsspezifische Stressbelastung erfasst durch den PDQ einen eigenen und unabhängigen Anteil an der akuten Stressbelastung hat [42]. Eine deutsche Version des Fragebogens wurde bisher nicht veröffentlicht, daher wurde der Fragebogen ins Deutsche übersetzt.

### 2.2.3 Auswertung der Fragebögen

Fragebögen wurden digitalisiert mittels Übertragung in SPSS Version 22.0. Für den PDQ wurde ein Gesamtpunktwert errechnet. Dabei erfolgte die Punkteverteilung nach folgendem Schema:

Likert-Skala	Punkte
Trifft gar nicht zu	0
Trifft ein wenig zu	1
Trifft mäßig zu	2
Trifft stark zu	3
Trifft sehr stark zu	4

Folglich konnte ein Gesamtpunktwert zwischen 0 und 48 Punkten erreicht werden.

Für den LES wurde ein negativer Veränderungswert durch Aussummierung aller als negativ eingestufte Lebensereignisse errechnet. Dabei richtete sich der Punktwert nach der Einstufung der Ereignisse.

<b>Likert-Skala</b>	<b>Punkte</b>
Äußerst negativ	3
Ziemlich negativ	2
Etwas negativ	1
Keine Auswirkungen	0
Etwas positiv	1
Ziemlich positiv	2
Äußerst positiv	3

Folglich konnte für den negativen Veränderungswert ein Wert zwischen 0 und maximal 345 Punkten erreicht werden.

### **2.3 Gewinnung der Nagelproben**

Mütterliche Nagelproben wurden durch eigenhändiges Schneiden aller zehn Fingernägel mittels Nagelschere gewonnen. Dabei wurde ein zeitlicher Rahmen von null bis sieben Tage nach Entbindung festgelegt. Mütter wurden beim Aufklärungsgespräch für die Teilnahme an der Studie dazu angehalten keine Kosmetikprodukte an den Nägeln im weiteren Verlauf anzuwenden. Alle Nagelproben schienen augenscheinlich frei von Lack oder Kunststoff. Nägel von Müttern, die in der Frauenklinik der Universitätsklinik Düsseldorf entbanden, wurden direkt vor Ort eingesammelt und in den Laboren der Kinderklinik des UKD bei - 20°C gelagert. Mütter, die außerhalb entbanden, schickten ihre Nägel in vorgefertigten frankierten und adressierten Briefumschlägen in einer klarsichtigen verschließbaren Plastiktüte an die Universitätsklinik Düsseldorf, woraufhin auch diese Nägel bei - 20°C gelagert wurden.

Die Gewinnung kindlicher Nägel erfolgte über elterliches Nägelschneiden zuhause bzw. auf Station im Krankenhaus. Aus ethischen Gründen hielten wir ein vorzeitiges Nagelschneiden beim Neugeborenen für nicht angebracht und legten

zur Erhöhung der Compliance fest, dass die Eltern die abgeschnittenen Nägel, der ersten drei regulären Male Nägelschneiden sammeln und dann an das UKD zurücksenden sollten. Für das Sammeln der Nägel wurden den Eltern klarsichtige verschließbare Plastiktüten mitgegeben. Insgesamt sollte die Zeit bis zum Zurücksenden der Nägel nicht länger als drei Monate dauern. Eltern wurden nach vier, acht und zwölf Wochen telefonisch oder per Mail an das Schneiden der kindlichen Nägel erinnert. Nach Eintreffen der Nägel in der Kinderklinik des UKD per Post wurden auch die kindlichen Nägel bis zur Durchführung der Laboranalysen bei - 20°C gelagert.

## 2.4 Quantifizierung von DHEA und DHEAS

Für die Untersuchung der Nägel mittels UPLC-MS/MS wurden die Proben zunächst von Hand mit einem Skalpell in ein bis zwei Millimeter große Stücke zerkleinert und in Eppendorf-Röhrchen gelagert. Von jeder Nagelprobe wurde zur Analyse eine Menge von ein bis zwei Milligramm eingewogen. Zur Aufbereitung wurden alle Proben zunächst zweimalig mit destilliertem Wasser gereinigt und danach zweimalig mit Methanol gewaschen. Nach jedem Waschvorgang erfolgten die Zentrifugation und das Verwerfen des Überstandes. Zur Extraktion wurden die Proben jeweils mit 1ml einer Methanol/Hydroxylamin-Lösung im Verhältnis 70/30 versetzt. Zu diesem Zeitpunkt erfolgte die Zugabe des internen Standards von jeweils 1 ng d5-DHEA und d5-DHEA-S aus 100 ng/ml. Danach wurden alle Proben für 15 Minuten in ein Ultraschallbad überführt und anschließend im Thermomixer bei 70°C und 400 rpm für eine Stunde inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation wurde zentrifugiert und der Überstand in ein Eppendorf-Röhrchen überführt und schließlich unter Stickstoff eingedampft. Die Wiederaufnahme des Überstandes erfolgte in 100 µl Methanol/Wasser im Verhältnis 70/30 zur Injektion in den UPLC-MS/MS Analyten. Eine Kalibration erfolgte nach folgendem Schema.

DHEA DHEA- S	0,1	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5	ng/100µ L
--------------------	-----	------	-----	------	---	------	-----	--------------

Die UPLC-MS/MS Analytik wurde an der Anlage der Firma Waters durchgeführt. Das verwendete Massenspektrometer war Xevo-TQS, ein Tripelquadrupol System. Die Trennanlage war eine UPLC-H Class. Mit Hilfe der Elektrospray-Ionisation wurde DHEA im positiven und DHEAS im negativen Modus nach der Hydroxylamin-Derivatisierung ionisiert. Folgende Massenübergänge wurden zur Quantifizierung der Analyten in den Extrakten verwendet: 304 > 253 m/z für DHEA, 309 > 258 m/z für d5-DHEA, 382 > 97 m/z für DHEAS und 388 > 98 m/z für d6-DHEAS. Die Analyten wurden mit Hilfe einer UPLC Säule BEH C18 (100 mm x 1.7 µm x 2.1 mm, Firma Waters) aufgetrennt. Es wurden zwei verschiedene mobile Phasen zur Auftrennung der beiden Substanzen verwendet. Die erste bestand aus 5 mM Ammonium Acetat mit 0.1%iger Ameisensäure (mobile Phase A). Die zweite mobile Phase bestand aus Acetonitril (mobile Phase B). Der Fluss betrug 0.4 ml/min und der Gradientenverlauf der mobilen Phase war wie folgt: 0-0.5 min: 80% A (20%B), 0.5-3.5 min 5% A (95%B), 3.5-3.9 min 5% A (95%B), 3.9-4.2 min 80% A (20% B) und 4.2-6.0 min 80% A (20% B). Die Elutionszeit der Analyse betrug insgesamt sechs Minuten pro Probe. Bei ausreichendem Nagelmaterial wurden von jedem Studienteilnehmer (Mutter und Kinder) zwei Ansätze einer Einwaage von ein bis zwei Milligramm Nagel analysiert. Die endgültigen Messwerte für DHEA und DHEAS wurden als Mittelwert der beiden Proben berechnet.

## 2.5 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 22.0 (SPSS Inc., U.S.A.) durchgeführt. Die Darstellung der metrischen Variablen erfolgte als Mittelwerte und Mediane, während die Streumaße als Standardabweichungen (SD) oder Quartile angegeben wurden. Die kategorisierten beziehungsweise nominalen Daten wurden als absolute und relative Häufigkeit angegeben. Die metrischen Variablen wurden mittels des Shapiro-Wilk-Tests hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Während einige der getesteten Variablen keine Normalverteilung aufwiesen (Shapiro-Wilk-Test:  $p < 0.05$ ), konnte für andere Variablen eine Normalverteilung berechnet werden

(Shapiro-Wilk-Test:  $p \geq 0.05$ ). Bei den Vergleichen der Stichproben wurden daher Tests für normalverteilte Stichproben und nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben herangezogen. Beim Vergleich von zwei unabhängigen, normalverteilten Stichproben wurde der t-Test verwendet. Dabei wurde vorher zur Überprüfung der Homogenität der Varianzen der Levene-Test durchgeführt. Beim Vergleich von zwei unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben wurde der Mann-Whitney *U*-Test und bei mehr als zwei unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben der H-Test nach Kruskal und Wallis angewendet. Die kategorisierten Daten dagegen wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests bzw. des exakten Tests nach Fisher ausgewertet. Die Korrelation zwischen zwei Parametern wurde durch den Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho berechnet. Dabei wurde der Korrelationskoeffizient nach folgender Einteilung bewertet:

$r < 0.2$	→ sehr geringe Korrelation
$r = 0.2 - 0.5$	→ geringe Korrelation
$r = 0.5 - 0.7$	→ mittlere Korrelation
$r = 0.7 - 0.9$	→ hohe Korrelation
$r = > 0.9$	→ sehr hohe Korrelation

Bei allen durchgeführten Tests erfolgte eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung, wobei für alle statistischen Tests ein  $p$ -Wert  $< 0.05$  als statistisch signifikant angenommen wurde.

In den grafischen Darstellungen, die ebenfalls mit SPSS erstellt wurden, wurden zur Veranschaulichung der Mediane und Quartilsabstände bei nicht normalverteilten Stichproben Boxplots verwendet. Während in den Boxen der Median sowie die 25.-75. Perzentile aufgetragen sind, entsprechen die T-Balken dem kleinsten und größten Wert, sofern diese keine Ausreißer bzw. Extremwerte sind. Die Ausreißer sind dabei Werte, die zwischen eineinhalb bis drei Boxlängen außerhalb der Box liegen und sind in den Grafiken als Kreise dargestellt, während Extremwerte, die mehr als drei Boxlängen außerhalb der Box gemessen wurden, als Kreuze aufgetragen sind.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Stichprobenbeschreibung

#### 3.1.1 Mütter-Stichprobe

Die Studie umfasst eine Fallzahl von 50 Frauen. Die schwangeren Frauen befanden sich zum Zeitpunkt der Rekrutierung in einem Alter zwischen 23 Jahren bis 44 Jahren. Das durchschnittliche Alter der Mütter betrug 34.34 Jahre ( $SD = 4.9$ ). Die Kohorte setzt sich aus ungefähr gleichen Anteilen von erstgebärenden ( $n = 22$ ) und mehrfachgebärenden ( $n = 25$ ) Teilnehmerinnen zusammen. Etwa 30% der Patientinnen hatten bereits eine Frühgeburt erlitten. Die psychologischen Fragebögen wurden von den Teilnehmerinnen im Mittel in der 31 SSW ( $SD = 4.4$ ) ausgefüllt.

19 von 50 Frauen aus der vorliegenden Stichprobe entbanden ein Kind mit einem Geburtsgewicht unter der zehnten Perzentile und/oder wurden während der Schwangerschaft durch pränatalen Ultraschall mit einer IUGR des Kindes diagnostiziert. Das mütterliche Alter lag bei Müttern von Kindern mit IUGR mit einem Mittelwert von 34.7 ( $SD = 5.2$ ) Jahren etwas niedriger als bei Müttern von Kindern mit IUGR (Mittelwert = 33.8,  $SD = 4.6$ ). Dies stellte aber keinen signifikanten Unterschied dar. Das Schwangerschaftsalter zum Ausfüllzeitpunkt der Fragebögen lag bei beiden Gruppen ähnlich mit einem Mittelwert um die 31 SSW. Im Hinblick auf die Parität befanden sich in der Gruppe der Mütter von Kindern mit einer IUGR mehr erstgebärende Frauen ( $n = 13$ ; 81.2 %), als in der Gruppe der Mütter von Kindern ohne IUGR ( $n = 9$ ; 29.0 %). Dieser Unterschied zeigte sich mit einem p-Wert von 0.002 im exakten Test nach Fisher signifikant. Das Auftreten von vorausgegangenen Aborten zeigte sich über beide Gruppen ausgeglichen mit jeweils etwa einem Drittel an Frauen, die Fehlgeburten in der Anamnese beschrieben. Tabelle 1 zeigt die soziodemographischen Kenndaten der Mütter-Stichprobe.

<i>Kategorische Variablen</i> <i>Anzahl (%)</i>	Gesamte Stichprobe (n = 50)	Mütter von Kindern ohne IUGR (n = 31 )	Mütter von Kindern mit IUGR (n = 19)	Signifikanz
Parität				
Primipara	22 (46.8%)	9 (29.0%)	13 (81.2%)	<b>p = 0.002</b>
Multipara	25 (53.2%)	22 (71.0%)	3 (18.8%)	
Anamnestische Aborte				
keine	33 (70.2%)	22 (71.0%)	11 (68.8%)	p = 1.000
≥ 1	14 (29.8%)	9 (29.0%)	5 (31.2%)	
<i>Metrische Variablen</i> <i>Mittelwert ± SD (Median)</i>				
Alter (in Jahren)	34.3 ± 4.9 (33.2)	34.7 ± 5.2 (33.8)	33.8 ± 4.4 (32.1)	p = 0.523
Schwangerschaftsalter beim Ausfüllen der Fragebögen (in Tagen)	31.6 ± 4.4 (32.5)	31.6 ± 4.4 (32.9)	31.5 ± 4.4 (32.0)	p = 0.749

Tabelle 1: **Kenndaten der Mütter.** Die Tabelle zeigt die Kenndaten der soziodemografischen Parameter für die gesamte Mütter-Stichprobe, sowie aufgeteilt für Mütter von Kindern mit und ohne IUGR.

### 3.1.2 Kinder-Stichprobe

Die Studie umfasst eine Fallzahl von 56 Kindern. Sie beinhaltet vier Zwillingspärchen sowie ein Drillingspärchen. Die Geschlechterverteilung ist mit 37 (66,1%) weiblichen Neugeborenen und 19 (33,9%) männlichen Neugeborenen zu Gunsten des weiblichen Geschlechts verschoben. In der Stichprobe befinden sich 21 Kindern mit der Diagnose IUGR. Dabei wurden ein Geburtsgewicht und/oder ein Fetalgewicht intrauterin zwei Standardabweichungen unter der Norm bzw. unter der zehnten Wachstumsperzentile als krankhaft gewertet. Wachstumsperzentilen wurden berechnet mit dem Ultraschallprogramm der Praxis praenatal.de, welches Referenz nimmt zu Wachstumskurven, die von Marsál et al. im Jahr 1996 veröffentlicht wurden [97]. Etwas über die Hälfte der Kinder (53.6%) wurden vor der 37. Schwangerschaftswoche entbunden und sind somit Frühgeborene. Die Kinder kamen zum Großteil in der Geburtsklinik der Universität Düsseldorf zur Welt. Drei von 56 Kindern wurden in Krankenhäusern im näheren Umkreis von Düsseldorf geboren.

Im Bezug auf die Kategorie Wachstumsrestriktion teilt sich die Kohorte in 35 (62,5%) Kindern ohne IUGR und 21 (37,5%) Kinder mit IUGR. Innerhalb dieser Kategorie befinden sich 16 Kinder, die vor der 37 SSW zur Welt kamen, also frühgeboren sind. Dies stellt einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen dar. Dabei erreichten Kinder mit normalem Geburtsgewicht ein mittleres Gestationsalter von 37,4 SSW und Kinder mit IUGR ein mittleres Gestationsalter von 33,8 SSW. Bezüglich der Geschlechterverteilung sind die meisten Kinder mit einer IUGR weiblich, dies zeigt sich jedoch nicht statistisch signifikant. Im Hinblick auf die Geburtsmaße sind Kinder mit einer IUGR signifikant leichter und kleiner als Kindern ohne IUGR und zeigen außerdem einen geringeren Kopfumfang. Etwa die Hälfte (45,7%) der Kinder ohne IUGR erhielten pränatal eine RDS-Prophylaxe. Kinder mit IUGR erhielten in über 80% der Fälle eine RDS-Prophylaxe. Das durchschnittliche Lebensalter beim Schneiden der Fingernägel lag bei Kindern ohne IUGR mit durchschnittlich 46 Tagen etwa eine Woche niedriger als bei Kindern mit Wachstumsrestriktion. Dies stellt aber keinen statistisch signifikanten Unterschied dar. Tabelle 2 fasst die Kenndaten der Kinder für die gesamte Stichprobe sowie für die Kategorie Wachstumsrestriktion ja/nein zusammen.

<i>Kategorische Variablen</i> <i>Anzahl (%)</i>	Gesamte Stichprobe (n = 56)	Kindern ohne IUGR (n = 35 )	Kindern mit IUGR (n = 21)	Signifikanz
Geschlecht				
weiblich	37 (66.1%)	20 (57.1%)	17 (81.0%)	$p = 0.086$
männlich	19 (33.9%)	15 (42.9%)	4 (19.0%)	
Reifegrad				
reifgeboren	26 (46.4%)	21 (60.0%)	5 (23.8%)	$p = 0.013$
frühgeboren	30 (53.6%)	14 (40.0%)	16 (76.2%)	
RDS-Prophylaxe				
keine	22 (41.5%)	19 (54.3%)	3 (16.7%)	$p = 0.010$
erhalten	31 (58.5%)	16 (45.7%)	15 (83.3%)	
<i>Metrische Variablen</i> <i>Mittelwert ± SD</i>				
Gestationsalter (in Wochen)	36.0 ± 3.7 (36.4)	37.4 ± 2.7 (38.1)	33.8 ± 4.0 (33.9)	$p < 0.001$
Geburtsgewicht (in g)	2.668,1 ± 964.8 (2.825,0)	3.136,3 ± 718.0 (3.170,0)	1.887,8 ± 812.6 (1.730,0)	$p < 0.001$
Körperlänge (in cm)	46.7 ± 5.8 (49.0)	49.4 ± 3.4 (50.0)	42.1 ± 6.2 (42.0)	$p < 0.001$
Kopfumfang (in cm)	32.6 ± 3.3 (33.5)	34.2 ± 1.7 (34.5)	30.0 ± 3.6 (30.0)	$p < 0.001$
Alter beim Nägelschneiden (in Tagen)	49.3 ± 25.2 (46.3)	46.3 ± 24.4 (45.0)	54.0 ± 26.2 (48.0)	$p = 0.389$

Tabelle 2: **Kenndaten der Kinder.** Die Tabelle zeigt die Kenndaten der Charakteristika der Kinder-Stichprobe für die gesamte Stichprobe, sowie aufgeteilt für Kinder mit und ohne IUGR.

### 3.2 Kenndaten der Stressmaße

Der mittlere negative Veränderungswert des LES der gesamten Untersuchungsstichprobe betrug 7.8 (SD = 7.5; Median = 5.0). Der Kolmogorov-Smirnov Test ergab keine Normalverteilung. Mütter von Kinder ohne IUGR erreichten einen mittleren Score von 7.1 (SD = 7.0; Median = 5.0). Mütter von Kindern mit IUGR erreichten einen mittleren Score von 8.9 (SD = 8.4; Median = -

6.0). Dabei zeigte sich dieser Unterschied nicht in der statistischen Testung nicht signifikant.

	LES negativ Score (Punkte)		
	Gesamt (n=50)	Kind mit IUGR	
		Nein (n=31)	Ja (n=19)
Mittelwert	7.78	7.10	8.89
Standardabweichung	7.53	7.02	8.37
Perzentil 25	9.00	9.00	14.00
Median	5.00	5.00	6.00
Perzentil 75	3.00	3.00	3.00
Minimum	30	25	30
Maximum	0	0	0

Tabelle 3: **Kenndaten der LES.** Tabelle 3 zeigt die deskriptiven Daten der LES-Ergebnisse für die gesamte Mütter-Stichprobe, sowie den Vergleich der Daten für Mütter von Kindern mit und ohne IUGR.

Mittelwert und Standardabweichung ( $M \pm SD$ ) des PDQ wurden mit  $12.8 \pm 7.4$  für die gesamte Untersuchungsstichprobe berechnet. Dies liegt etwas unter der berichteten Normstichprobe, die die Daten mit  $14.9 \pm 7.2$  angibt. Auch hier lag keine Normalverteilung vor. Mütter von Kindern ohne IUGR erreichten einen Mittelwert von 12.5 ( $SD = 7.4$ ; Median = 11.0). Mütter von Kindern mit IUGR erreichten einen mittleren Wert von 13.4 ( $SD = 8.4$ ; Median = 10.0). Dieser Unterschied zeigte sich in der statistischen Testung ebenfalls nicht signifikant.

	PDQ gesamt Score (Punkte)		
	Gesamt (n=50)	Kind mit IUGR	
		Nein (n=31)	Ja (n=19)
Mittelwert	12.84	12.48	13.42
Standardabweichung	7.40	6.84	8.40
Perzentil 25	8.00	7.00	8.00
Median	11.00	11.00	10.00
Perzentil 75	17.00	17.00	19.00
Minimum	0	0	1.0
Maximum	31.0	26.0	31.0

Tabelle 4: **Kenndaten des PDQ.** Tabelle 4 zeigt die deskriptiven Daten der PDQ-Ergebnisse für die gesamte Mütter-Stichprobe, sowie den Vergleich der Daten für Mütter von Kindern mit und ohne IUGR.

### 3.3 DHEA- und DHEAS-Konzentrationen bei Müttern und Kindern

Es zeigte sich eine hohe Korrelation von DHEA und DHEAS-Konzentrationen in mütterlichen Nägeln ( $r = 0.828$ ;  $p < 0.01$ ). Auch bei Kindern zeigte sich eine mittlere Korrelation zwischen den beiden Hormonen ( $r = 0.549$ ;  $p < 0.01$ ).

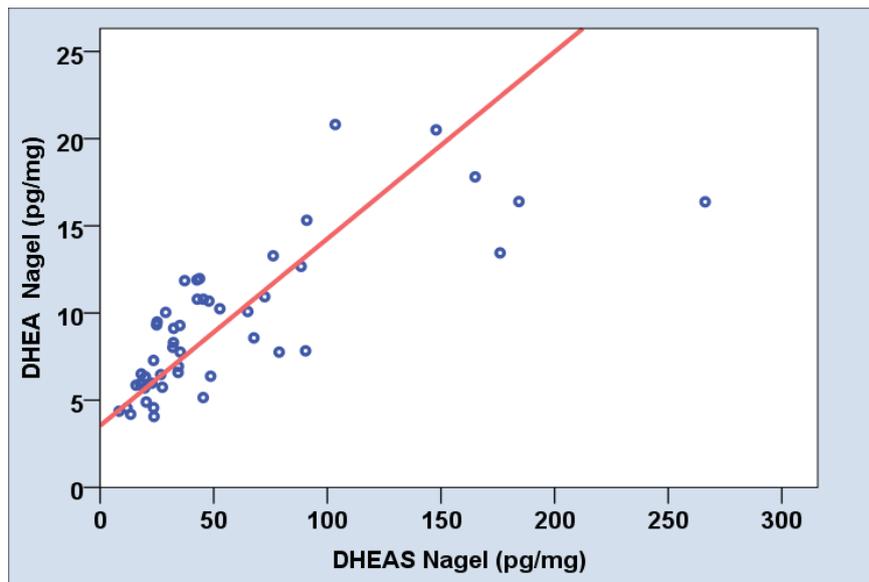


Abb. 8: **Zusammenhang von DHEA und DHEAS-Konzentrationen in mütterlichen Nägeln.** DHEA und DHEAS-Konzentrationen haben einen starken positiven Zusammenhang.

DHEA und DHEAS konnten in allen Nagelproben der Mütter quantifiziert werden. Dabei betrug die mediane Konzentration von DHEA in den Nägeln 8.4 pg/mg (25./75. Perzentil: 6.0/11.9) und die mediane Konzentration von DHEAS 35.2 pg/mg (25./75.Perzentil: 23.6/72.4). Weitere Kennwerte sind Tabelle 5 zu entnehmen.

	DHEA (pg/mg Nagel)	DHEAS (pg/mg Nagel)
Mittelwert	10.97	69.29
Standardabweichung	12.62	112.39
Perzentil 25	5.98	23.55
Median	8.44	35.17
Perzentil 75	11.86	72.41
Minimum	4.07	8.34
Maximum	93.64	760.31

Tabelle 5: **DHEA und DHEAS in mütterlichen Nägeln.** Die Tabelle zeigt die deskriptiven Daten der DHEA und DHEAS-Konzentrationen in mütterlichen Nägeln

DHEA und DHEAS konnten ebenfalls in allen kindlichen Nagelproben quantifiziert werden. Dabei betrug die mediane Konzentration von DHEA in der gesamten Kinder-Stichprobe 7.4 pg/mg (25./75. Perzentil: 6.2/9.7) und die mediane Konzentration von DHEAS 158.1 pg/mg (25./75. Perzentil: 85.9/388.0). Weitere Kennwerte für die Hormonkonzentrationen der gesamten Kinder-Stichprobe sind in Tabelle 6 aufgeführt.

	DHEA (pg/mg Nagel)	DHEAS (pg/mg Nagel)
Mittelwert	8.54	289.57
Standardabweichung	4.40	320.47
Perzentil 25	6.17	85.94
Median	7.37	158.14
Perzentil 75	9.72	387.98
Minimum	3.63	33.12
Maximum	33.23	1612.09

Tabelle 6: **DHEA- und DHEAS in kindlichen Nägeln.** Die Tabelle zeigt die deskriptiven Daten der DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln

Mütter zeigten also deutlich niedrigere Konzentrationen für DHEAS, als Kinder. Im Vergleich der beiden Kohorten mittels Mann-Whitney *U*-Test ergab sich höchste statistische Signifikanz für diesen Unterschied ( $p < 0.01$ ). Im Bezug auf die DHEA-Konzentrationen im Nagel zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied. Eine Korrelation kindlicher und mütterlicher Konzentrationen ergab keinen Zusammenhang.

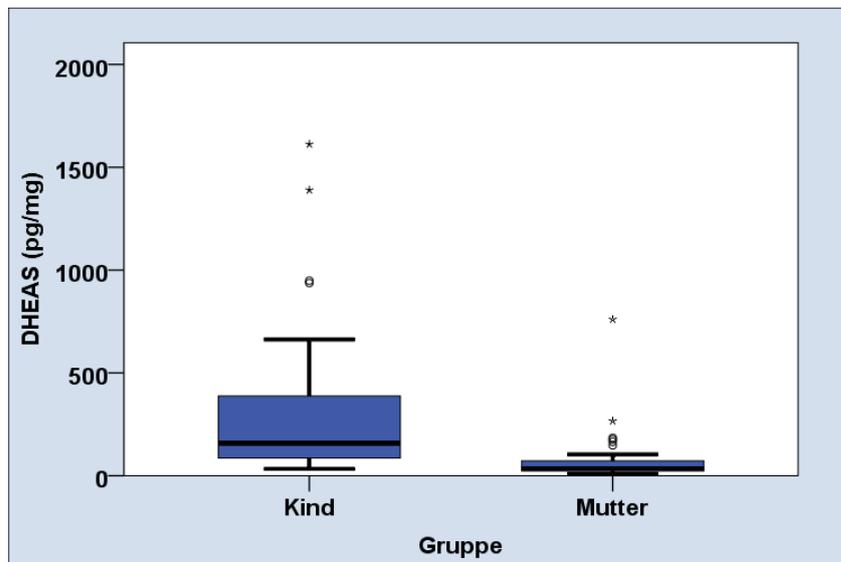


Abb. 9: **DHEAS-Konzentrationen im Nagel bei Müttern und Kindern.** Im Vergleich weisen Mütter deutlich niedrigere Werte für DHEAS in ihren Nägeln auf als Kinder. (Kreise = Ausreißer, Kreuze = Extremwerte)

### 3.4 DHEA- und DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln bei Kindern mit und ohne IUGR

Beim Vergleich von Kindern mit und ohne IUGR zeigen Kindern mit IUGR eine mediane DHEA-Konzentration von 6.49 pg/mg (25./75. Perzentil: 5.93/7.51) und Kinder ohne IUGR eine mediane Konzentration von 7.79 pg/mg (25./75. Perzentil: 6.39/11.62). Die deskriptiven Daten der DHEA und DHEAS-Konzentrationen bei Kindern mit und ohne IUGR werden in Tabelle 7 und 8 zusammengefasst.

	DHEA (pg/mg Nagel)	
	IUGR	
	Nein (n=35)	Ja (n=21)
Mittelwert	9.32	7.25
Standardabweichung	5.03	2.72
Perzentil 25	6.39	5.93
Median	7.79	6.49
Perzentil 75	11.62	7.51
Minimum	4.11	3.63
Maximum	33.23	16.14

Tabelle 7: **Deskriptive Daten der DHEA-Konzentration in Nägeln von Kindern mit und ohne IUGR**

	DHEAS (pg/mg Nagel)	
	IUGR	
	Nein (n=35)	Ja (n=21)
Mittelwert	344.50	198.02
Standardabweichung	326.57	295.02
Perzentil 25	101.38	65.59
Median	283.30	105.89
Perzentil 75	503.05	168.49
Minimum	39.42	33.12
Maximum	1612.09	1388.99

Tabelle 8: **Deskriptive Daten der DHEAS-Konzentration in Nägeln von Kindern mit und ohne IUGR**

Es zeigten sich also sowohl für die Konzentration von DHEA als auch für die Konzentration von DHEAS niedrigere Werte in Nägeln von Kindern mit IUGR verglichen mit Kindern ohne IUGR. Dieser Unterschied ist sowohl für die Nagelkonzentration von DHEA ( $p = 0.037$ ) als auch für die Nagel-Konzentration von DHEAS ( $p < 0.001$ ) im Mann-Whitney  $U$ -Test signifikant.

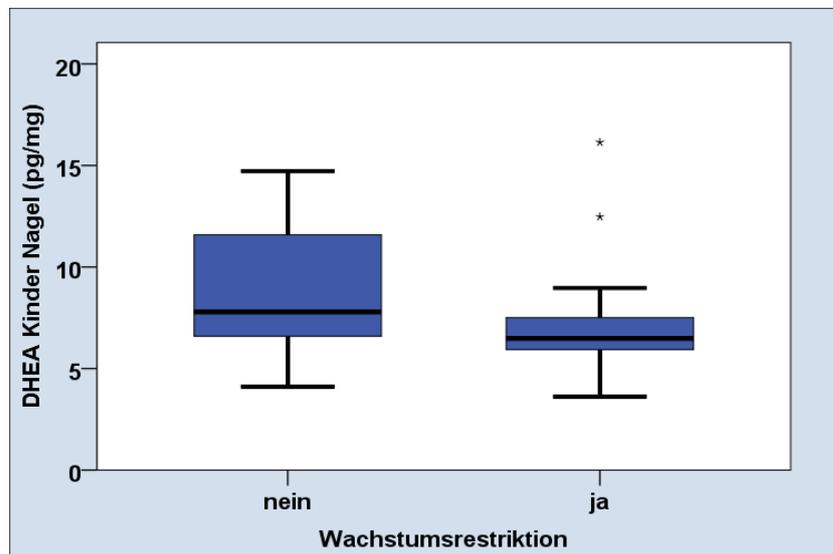


Abb. 10: **DHEA-Konzentration bei Kindern mit und ohne IUGR.** Kinder mit IUGR weisen niedrigere Werte für DHEA in ihren Nägeln auf. (Kreuze = Extremwerte)

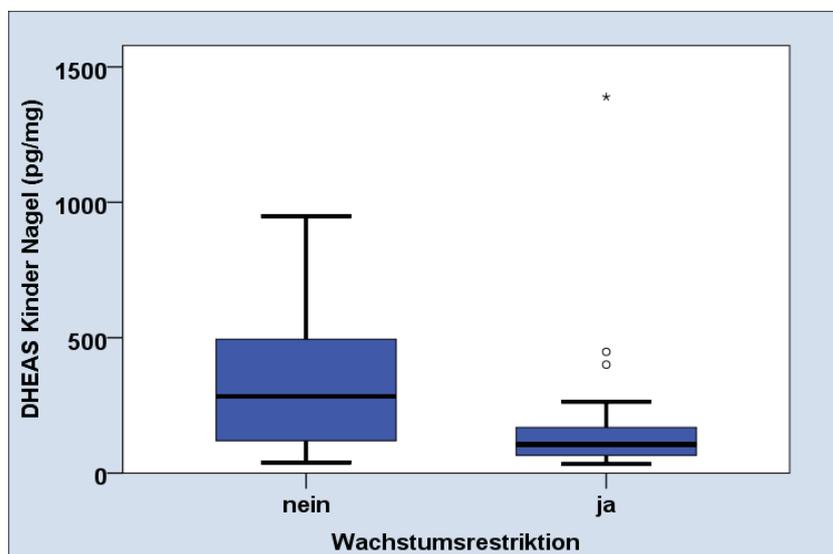


Abb. 11: **DHEAS-Konzentration bei Kindern mit und ohne IUGR.** Kinder mit IUGR weisen niedrigere Werte für DHEAS in ihren Nägeln auf. (Kreise = Ausreißer, Kreuze = Extremwerte)

### 3.5 Prüfung möglicher Störvariablen der DHEA- und DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln

Um mögliche Einflüsse weiterer Variablen auf die Hormonkonzentration von DHEA und DHEAS in kindlichen Nägeln zu überprüfen, wurden für folgende Variablen ebenfalls Mann-Whitney-U Tests (kategoriale Variablen) und Kruskal-Wallis Tests (intervallskalierte Variablen) durchgeführt:

- Geschlecht
- Gestationsalter
- Geburtsgewicht
- Alter beim Schneiden der Nägel
- RDS-Prophylaxe

Das Geschlecht zeigte keinen Einfluss auf die Konzentrationen von DHEA oder DHEAS in kindlichen Nägeln.

Bei der Überprüfung des Einflusses vom Gestationsalter auf die Hormonkonzentration zeigte sich, dass ein zunehmendes Gestationsalter mit erhöhten DHEAS aber nicht DHEA-Werten einhergeht. Hierbei war der Median in der Gruppe mit einem Gestationsalter unter 34 SSW 67.92 pg/mg (25/75 Perzentil: 52.71/105.85) und stieg auf mediane Werte von 402.48 pg/mg (25/75 Perzentil: 216.08/645.16) in der Gruppe mit einem Gestationsalter über 40 SSW an. Bezüglich diesen Zusammenhangs ließ sich im Kruskal-Wallis Test höchste statistische Signifikanz nachweisen ( $p < 0.01$ ).

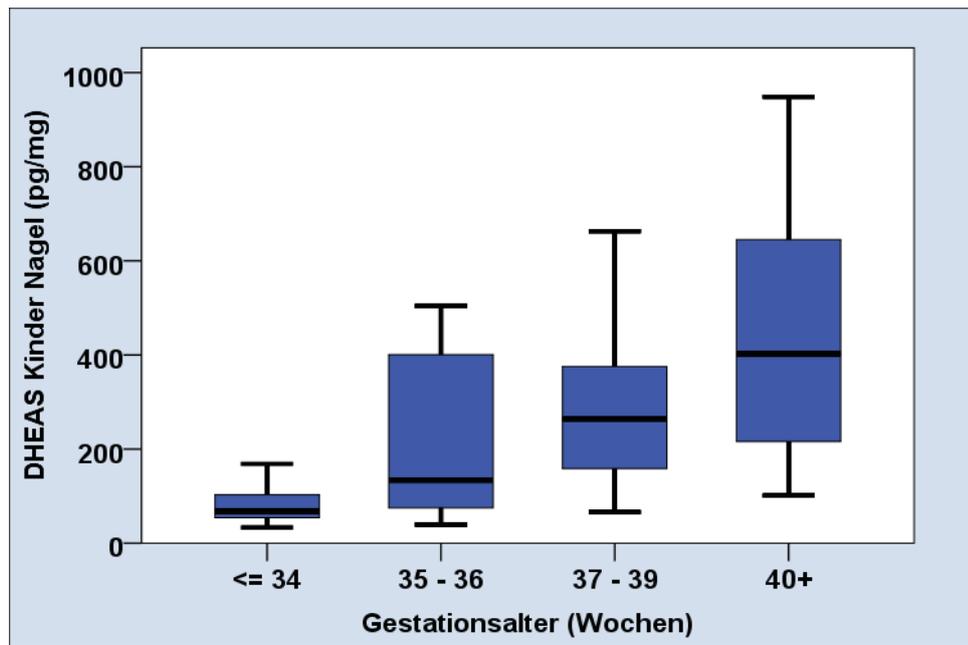


Abb. 12: **DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln und Gestationsalter.** Bei dem Vergleich unterschiedlicher Gestationsaltersgruppen nimmt die DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln mit steigendem Gestationsalter zu.

Ebenfalls zeigte sich, dass auch ein zunehmendes Körpergewicht mit erhöhten DHEAS-Werten in kindlichen Nägeln einhergeht. Auch hier errechnete sich mittels Kruskal-Wallis Test höchste statistische Signifikanz ( $p < 0.01$ ).

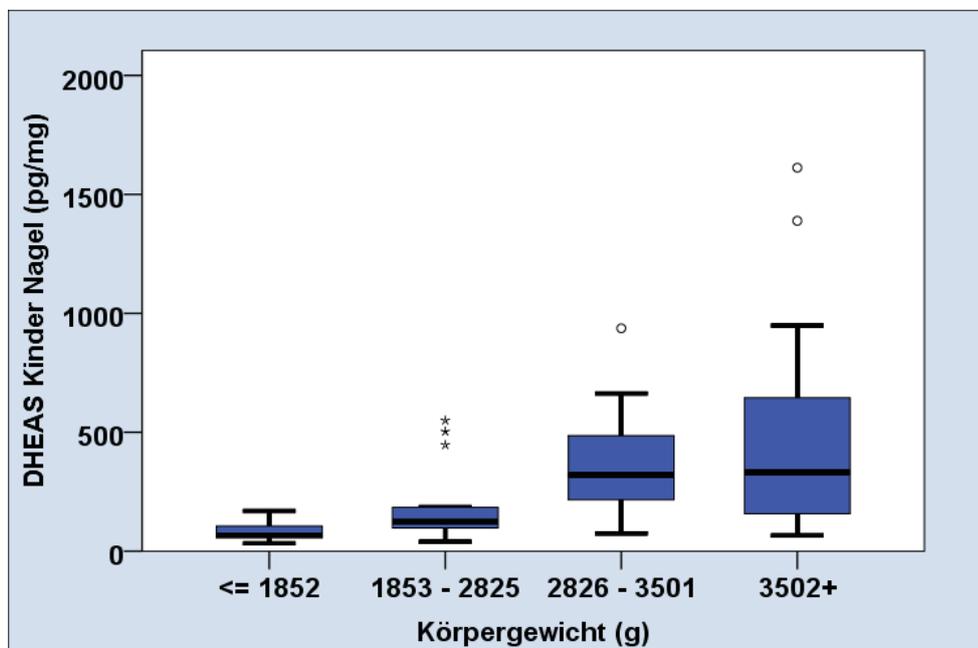


Abb. 13: **DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln und Geburtsgewicht.** Bei dem Vergleich unterschiedlicher Gewichtsgruppen nimmt die DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln mit steigendem Gewicht zu. (Kreise = Ausreißer, Kreuze = Extremwerte)

Kinder von Müttern, die pränatal eine Behandlung mit Kortikosteroiden zur Induktion der Lungenreifung erhielten, zeigten mediane DHEA-Konzentrationen von 6.5 pg/mg ( 25/75 Perzentil:5.7/9.0) und mediane DHEAS-Konzentrationen von 97.9 pg/mg (25/75 Perzentil:58.6/184.9). Dagegen wiesen Kinder von Müttern, die keine solche Behandlung erhielten, leicht erhöhte DHEA Konzentrationen (Median: 7.5 pg/mg; 25/75 Perzentil: 7.0/11.6) und etwa dreimal höhere DHEAS-Konzentrationen (Median: 295.8 pg/mg; 25/75 Perzentil:157.6/555.6) in ihren Nägeln auf. Für DHEAS aber nicht für DHEA ergab sich dabei im Mann-Whitney-U Test eine statistische Signifikanz von  $p < 0.01$ .

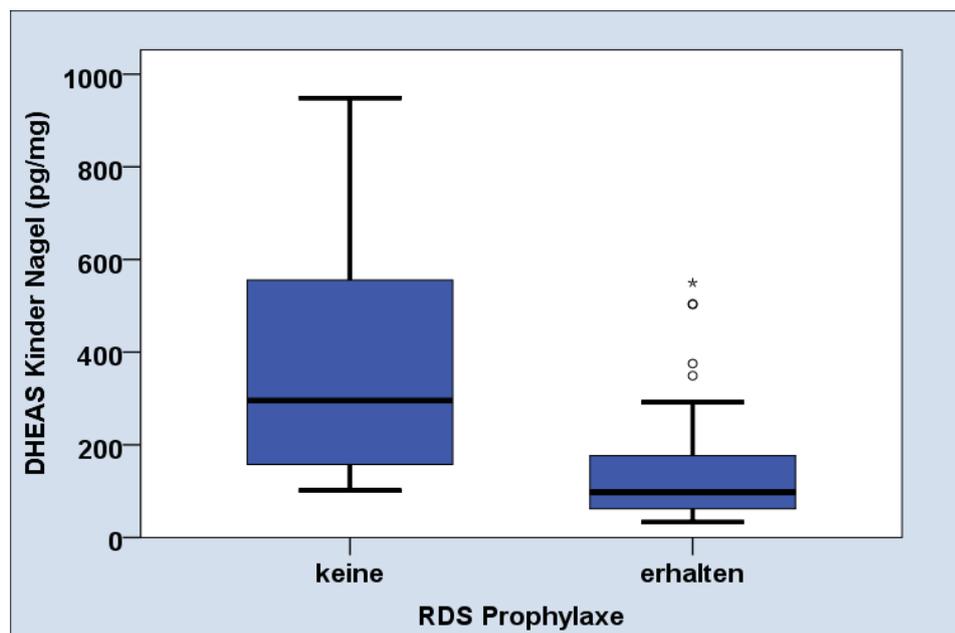


Abb. 14: **DHEAS-Konzentration in kindlichen Nägeln und Exposition gegenüber synthetischen Glukokortikoiden.** Kinder, die im Rahmen der RDS-Prophylaxe eine Exposition gegenüber synthetischen Glukokortikoiden hatten, weisen niedrigere DHEAS-Werte in ihren Nägeln auf. (Kreise = Ausreißer, Kreuze = Extremwerte)

Die Hormonkonzentration von DHEAS aber nicht DHEA in kindlichen Nägeln nahm mit zunehmendem durchschnittlichen Alter beim Schneiden der Nägel ab. Dabei ergaben sich für Kinder in der Gruppe mit einem durchschnittlichen Lebensalter von  $> 63$  Tagen zum Zeitpunkt des Nägelschneidens mediane DHEAS-Werte von 83.1 pg/mg (25/75 Perzentile: 51.7/130.1), während Kindern in der Gruppe mit einem durchschnittlichen Lebensalter von  $< 29$  Tagen beim Nägelschneiden mediane Werte von 220.5 pg/mg (25/75 Perzentile: 137.7/645.2) aufwiesen. Dieser Zusammenhang ergab im Kruskal-Wallis Test ein Signifikanzniveau von  $p = 0.032$ .

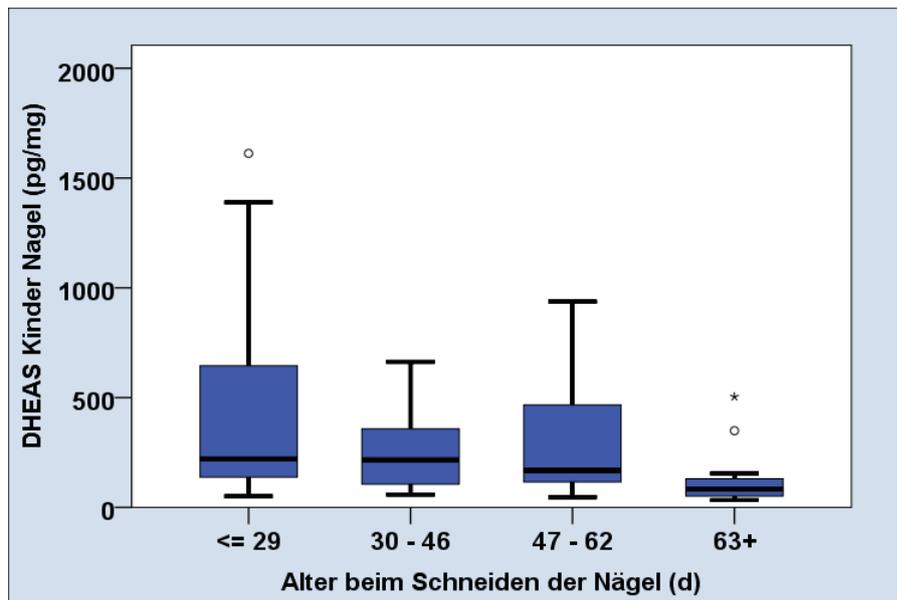


Abb. 15: Vergleich der DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln und Alter zum Zeitpunkt des Nägelschneidens. Mit steigendem Lebensalter (d= in Tagen) nimmt die DHEAS-Konzentration im Nagel ab. (Kreise = Ausreißer, Kreuze = Extremwerte)

### 3.6 Auswirkungen von pränatalem Stress auf die DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln

Zur Überprüfung der postulierten Hypothese, dass die Nagel-DHEA/S Menge der Kinder mit dem Ausmaß der pränatalen Stressbelastung der Mutter zusammenhängt, wurden der Zusammenhang zwischen der Höhe der erreichten Fragebögenscores in PDQ und LES mit den kindlichen Hormonkonzentrationen getestet. Dazu wurden aus den Fragebögenscores Quartile gebildet und mittels Kruskal-Wallis Test berechnet, ob erhöhte Fragebögenscores mit erhöhten kindlichen Hormonkonzentrationen einhergehen. Es zeigte sich, dass kindliche Hormonkonzentrationen weder mit hohen Punktwerten im PDQ noch mit hohen Punktwerten im LES einhergehen. Um eine mögliche Verzerrung der Ergebnisse durch den hohen Anteil an Frühgeborenen in der Kohorte zu umgehen, wurde die Analyse unter Ausschluss aller Frühgeborenen nur mit reifgeborenen Kindern durchgeführt. Auch hier zeigte sich kein Zusammenhang von Fragebögenscores und Stresshormonkonzentration in kindlichen Nägeln.

### 3.6.1 Auswirkungen soziodemografischer Daten auf die Ergebnisse der Stressmaße

Um mögliche Effekte demografischer Daten auf die pränatale Stressbewertung der Mütter festzustellen, wurde der Einfluss von folgenden Faktoren auf die Ergebnisse der Fragebögen getestet:

- Parität
- Vorausgegangene Aborte
- Alter der Mutter
- Gestationsalter zum Zeitpunkt des Ausfüllens der Fragebögen

Die Unterschiede innerhalb der kategorialen Variablen Parität und vorausgegangene Aborte wurden dabei im Mann-Whitney-U Test analysiert. Hierbei konnte kein signifikanter Unterschied in der Höhe der erreichten Punktescores in PDQ und LES für Erstgebärende und Mehrfachgebärende oder für Frauen mit Fehlgeburten in der Anamnese und Frauen ohne vorausgegangene Fehlgeburten gefunden werden.

Der Einfluss der intervallskalierten Variablen Alter der Mutter und Gestationsalter zum Zeitpunkt des Ausfüllens der Fragebögen wurden über die Einteilung in Quartile und den Kruskal-Wallis Test untersucht. Hier zeigte sich über die verschiedenen Alters- und Gestationsaltergruppen keine signifikante Veränderung in der Höhe der erreichten Punktwerte im PDQ oder LES.

## 4 Diskussion

Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass Säuglinge mit IUGR niedrigere DHEA und DHEAS-Konzentrationen in ihren Nägeln aufweisen, als normalgewichtige Säuglinge. Für pränatalen Stress ließen sich keine Zusammenhänge zur kindlichen Hormonkonzentration von DHEA oder DHEAS finden. Es zeigten sich wesentliche Effekte von Gestationsalter und Geburtsgewicht auf die Höhe der gemessenen Konzentrationen von DHEAS. Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse zur Hormonkonzentration von DHEA und DHEAS in kindlichen Nägeln sowie der Einfluss möglicher Störvariablen vor dem Hintergrund der bestehenden Literatur diskutiert. Anschließend werden methodische Schwachpunkte und Limitierungen der Studie beleuchtet. Zum Abschluss wird ein Ausblick auf mögliche Anknüpfungspunkte der vorliegenden Studie gegeben.

### 4.1 IUGR und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln

Die Ergebnisse zu den Auswirkungen einer IUGR auf die Hormonkonzentration von DHEA und DHEAS zeigten im Gruppenvergleich überraschenderweise eine signifikant niedrigere Hormonkonzentration von DHEA und DHEAS in der Gruppe von Kindern mit IUGR. Bisherige ausgedehnte Untersuchungen am Schafmodell zeigen, dass eine schlechte plazentare Versorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff zu einer relativen Gewichtszunahme der fetalen Nebenniere und erhöhten ACTH- und Kortisolspiegeln führt [98-100]. Dieses lässt sich als eine Aktivierung der fetalen HPA-Achse als Reaktion auf eine Plazentainsuffizienz, die häufig einer IUGR zu Grunde liegt, deuten. Unter dieser Annahme wurden in der vorliegenden Studie erhöhte Konzentrationen von DHEA und DHEAS in Nägeln von Neugeborenen mit IUGR erwartet. Eine Kontrolle für potentielle Störvariablen zeigte einen starken Zusammenhang des Gestationsalters und auch des Geburtsgewicht mit der Hormonkonzentration für DHEAS. Dabei lassen sich die beiden Faktoren nicht definitiv voneinander trennen, denn mit zunehmendem

Gestationsalter nimmt schließlich auch das Gewicht zu. Die Ergebnisse werden stark beeinflusst durch die Tatsache, dass in der vorliegenden Stichprobe eine IUGR regelmäßig mit einem niedrigen Gestationsalter einhergeht. Da eine IUGR häufig Ausdruck einer ungünstigen intrauterinen Umgebung ist und mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität einhergeht, wird häufig eine vorzeitige Entbindung mittels Kaiserschnitt eingeleitet um schwerwiegenden Schäden vorzubeugen. Somit sind die meisten Kinder mit IUGR in der vorliegenden Stichprobe gleichzeitig frühgeboren. Entsprechend dem kumulativen Charakter der Nagelmethode, macht ein Anstieg der Hormonkonzentration in kindlichen Nägeln mit zunehmendem Gestationsalter Sinn. Studien zur Entwicklung der fetalen Nebenniere zeigen einen progressiven Anstieg der fetalen Steroidhormonkonzentration im Nabelschnurblut in Kombination mit einem stetigen Wachstum der fetalen Nebenniere im zweiten und dritten Trimester der Schwangerschaft [76, 101]. Das Gestationsalter beeinflusst also die Nagelkonzentration von DHEAS nicht nur über die Kumulation des Hormons im Nagel sondern auch über den Reifungsgrad der fetalen Nebenniere und die damit steigenden Produktionsraten des Hormons.

Die Studienlage zu den langfristigen Auswirkungen von niedrigem Geburtsgewicht auf die spätere Funktion der Nebenniere ist widersprüchlich. Bei Erwachsenen wurden mehrfach erhöhte Serum Kortisolkonzentrationen und auch eine erhöhte Kortisol-*response* nach Stimulus gefunden [102-104]. Auch für die Serumkonzentrationen von Androgenen gibt es Studien, die erhöhte Werte bei Kindern und Jugendlichen, die mit einem niedrigen Geburtsgewicht auf die Welt kamen, zeigen [105, 106]. Gleichzeitig zeigte eine große Studie an Grundschulkindern aus dem Jahr 2004, dass Serumkonzentrationen von DHEAS negativ mit dem Geburtsgewicht zusammenhängen [107]. Auch Beck Jensen et al. konnten in ihrer Studie keinen Zusammenhang von fetaler Wachstumsgeschwindigkeit sowie niedrigem Geburtsgewicht und den DHEAS-Serumkonzentrationen oder der Exkretion von Androgenmetaboliten im Urin bei jugendlichen männlichen Probanden finden [108]. Allerdings ist der direkte Vergleich mit der aktuellen Studienlage eingeschränkt, da der Messzeitpunkt in dieser Studie deutlich früher liegt als der der bisherigen Untersuchungen und auch die Nagelmethode dazu bisher nicht verwendet wurde.

## 4.2 Synthetische Glukokortikoide und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln

In der vorliegenden Studie ergaben sich bei dem Vergleich der Gruppen von Säuglingen mit und ohne Exposition gegenüber synthetischen Glukokortikoiden durch die pränatale Durchführung einer RDS-Prophylaxe bei der Mutter, signifikant niedrigere Werte für die DHEAS-Konzentration im Nagel in der Gruppe der exponierten Säuglinge. In Deutschland ist die antenatale Kortikosteroidtherapie leitliniengerecht bei allen schwangeren Frauen mit drohender oder medizinisch indizierter Frühgeburt ab dem Erreichen der Lebensfähigkeit des Fetus bis zur 34 SSW indiziert. Typische Indikationen zur Einleitung der Kortikosteroidtherapie sind vorzeitige Wehentätigkeit, funktionelle Verkürzungen der Zervix, vorzeitiger Blasensprung oder IUGR. Dabei erfolgt die Prophylaxe mittels einer zweimaligen Gabe von 12 mg Betamethason intramuskulär in einem Abstand von 24 Stunden. Bei weiterhin bestehender Frühgeburtsgefahr erhalten Frauen gegebenenfalls eine Wiederholung dieser Therapie. Die antenatale Kortikosteroidtherapie ist die effektivste Maßnahme zur Verhinderung schwerer Komplikationen beim Frühgeborenen. Sie senkt die neonatale Mortalität, das Risiko für das Auftreten eines Atemnotsyndroms sowie auch die Häufigkeit intraventrikulärer Hirnblutungen und das Auftreten einer nekrotisierenden Enterokolitis [109]. Die RDS-Prophylaxe geht in unserer Studie mit einer verminderten Nagel-Konzentration von DHEAS einher. Dies ist möglicherweise ebenfalls durch die Tatsache beeinflusst, dass hauptsächlich Mütter deren Kinder tatsächlich zu früh geboren wurden eine RDS-Prophylaxe erhielten. Dennoch ist zu beachten, dass es in der Literatur viele Hinweise darauf gibt, dass exogen zugeführte Kortikosteroide in der Schwangerschaft zu einer Suppression der fetalen HHN-Achse führen. In einer systematischen Rezension aus dem Jahr 2009 fassen Tegethoff et al. die Effekte von synthetischen Kortikosteroiden auf die fetale HHN-Achse zusammen. Hierbei zeigte sich das unter anderem auch die Hormone DHEA und DHEAS in der Amnionflüssigkeit und dem Nabelschnurblut bei Kindern mit Exposition gegenüber synthetischen Glukokortikoiden im Vergleich mit nicht exponierten Kindern vermindert war. Bis zu zwei Wochen postnatal zeigte sich eine verminderte HHN-Achsenaktivität und bis zu vier Monate nach Geburt auch eine verminderte HHN-

Achsenreaktivität auf schmerzbedingtem Stress [78]. Die Exposition gegenüber synthetischen Kortikosteroiden im Rahmen der RDS-Prophylaxe bei Schwangeren kann also auch durchaus einen eigenständigen Effekt auf die Hormonkonzentration von DHEAS in kindlichen Nägeln haben.

### **4.3 Alter beim Nägelschneiden und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln**

In der Studie war ein höheres durchschnittliches Lebensalter zum Zeitpunkt des Nägelschneidens mit erniedrigten DHEAS Konzentrationen im Nagel assoziiert. Die Spannweite des durchschnittlichen Alters zum Zeitpunkt der Nagelgewinnung war dabei mit einem Minimum drei Tage und einem Maximum 104 Tage sehr groß. Dies lässt sich auf die hohe Rate an Frühgeborenen in der Stichprobe zurückführen. Kinder mit einem Gestationsalter unter 37 SSW bekamen ihre Nägel durchschnittlich 14 Tage später geschnitten als Kinder mit einem Gestationsalter über 37 SSW. Dies liegt daran, dass die Nägel frühgeborener Kinder oftmals zum Zeitpunkt der Geburt noch nicht weit genug gewachsen sind um sie atraumatisch zu schneiden. Der Zeitpunkt des ersten Nägelschneidens verzögert sich dabei. Daher ist es wahrscheinlich, dass der Zusammenhang nicht beim Alter des Nägelschneidens liegt, sondern ebenfalls beim Gestationsalter. Bei der Untersuchung von DHEA und DHEAS in Nägeln von Reifgeborenen von Tegethoff et al. im Jahr 2011 zeigte das Alter beim Schneiden der Nägel keinen Effekt auf die Hormonkonzentration [79]. Einen Verlust der Substanzen aus dem Nagel mit zunehmendem Lebensalter ist unwahrscheinlich. Aufgrund der besonderen Faltstruktur der Nagelproteine und stabilen Disulphidbrücken enthalten Nägel sehr wenig Wasser, welches wiederum den Ablauf von metabolischen Prozessen verhindert [82]. Daher ist davon auszugehen, dass Stoffe, die einmal in den Nagel inkorporiert wurden von weiteren metabolischen Prozessen, die normalerweise im restlichen Körper ablaufen, unbeeinflusst bleiben.

#### 4.4 Pränataler Stress und DHEA- und DHEAS-Konzentrationen in kindlichen Nägeln

Die Annahme eines Zusammenhangs von objektiven Stressoren der Mutter in der Schwangerschaft und einer entsprechenden physiologischen Stressreaktion des Fetus in Form einer Aktivierung der HHN-Achse, wie von Tegethoff et al. 2011 beschrieben, konnte in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Weder schwangerschaftsspezifischer Stress noch kritische Lebensereignisse zeigten einen Zusammenhang mit kindlichen Konzentrationen von DHEA oder DHEAS im Nagel. Die Ergebnisse dieser Studie entsprechen aber bekannten Befunden eines generell niedrigen positiven Zusammenhangs zwischen berichtetem Stress und physiologischen Reaktionsmaßen. So konnten in einer Studie von Wadwha et al. nur 13% der Varianz, des bei Schwangeren gemessenen Kortisols auf das subjektive Stresserleben zurückgeführt werden [110]. Auch der Transfer von maternalem Stress auf das ungeborene Kind ist nicht gänzlich verstanden. Verschiedene Studien postulieren ein Modell, bei dem maternaler Stress über den vermehrten Transfer mütterlicher Glukokortikoide Einfluss auf den Fetus nimmt. Stress aktiviert die maternale HHN-Achse, welche dann vermehrt das Endprodukt Kortisol ausschüttet [111]. Kortisol wiederum hat aktivierende Effekte auf die Ausschüttung von plazentarem CRH, welches wiederum die fetale HHN-Achse aktiviert [75, 112, 113]. Gleichzeitig konnte in Tierversuchen gezeigt werden, dass dauerhaft erhöhte Kortisol-Spiegel über eine Abnahme der zentralen Mineral- und Glukokortikoidrezeptordichte zu einem verminderten negativen Feedbackmechanismus der HHN-Achse führen [114-116]. Eine dadurch erhöhte fetale HHN-Achsen-Aktivität könnte sich dann in erhöhten kumulativen Konzentrationen von DHEA und DHEAS im Nagel widerspiegeln, wie es bei der Studie von Tegethoff et al. 2011 der Fall war. Es gibt allerdings viele verschiedene Wege, die den Fetus vor den endokrinen Veränderungen im mütterlichen Kreislauf während der Schwangerschaft schützen und so für den fehlenden Zusammenhang von pränatalem Stress und Hormonkonzentrationen von DHEA und DHEAS in kindlichen Nägeln verantwortlich sein können. Einer dieser Schutzmechanismen funktioniert über das plazentare Enzym 11 $\beta$ -HSD. Es reguliert wie viel des maternalen Stresshormons Kortisol den fetalen Kreislauf

erreicht, indem es Kortisol in seine inaktive Form Kortison umwandelt [71, 117]. Durch diesen Mechanismus sind die Konzentrationen von Kortisol im fetalen Kreislauf bis zu zehnfach niedriger gegenüber denen im mütterlichen Kreislauf [118]. Ein direkter linearer Transfer der mütterlichen Stresshormonkonzentrationen auf den Fetus bleibt also aus. Daneben zeigt sich in vielen Studien, dass die Empfindlichkeit gegenüber Stress sich im Verlauf der Schwangerschaft verändert. In Untersuchungen zur emotionalen Stressbewertung zeigte sich, dass negative Lebensereignisse in der Frühschwangerschaft belastender bewertet werden, als in der Spätschwangerschaft [51, 119, 120]. Auf physiologischer Ebene zeigen die übergeordneten zentralen Regionen im mütterlichen Gehirn während der Schwangerschaft eine Adaptation, sodass die körperliche Stressreaktion mit Fortschritt der Schwangerschaft schwächer ausfällt. Studien an Tiermodellen zeigen hier beispielsweise eine reduzierte basale CRH-Rate im Nukleus paraventricularis des Hypothalamus sowie eine reduzierte Genexpression des Vorläuferhormons Proopiomelanocortin in der Hypophyse [121, 122]. Ebenso konnten bei Frauen in der Spätschwangerschaft verminderte Kortisolspiegel nach Stressexposition gemessen werden, was ebenfalls auf eine verminderte Empfindlichkeit der HPA-Achse hinweist [123]. Diese verminderte Empfindlichkeit gegenüber Stress stellt einen weiteren Schutzmechanismus dar, der das ungeborene Kind vor einem Glukokortikoidüberschuss schützt. Daher wird deutlich, dass der Transfer von maternalem Stress auf das ungeborene Kind von einer Vielzahl von Faktoren beeinflusst wird und es durchaus möglich ist, dass sich dieser nicht im direkten Zusammenhang mit den fetalen Stresshormonen DHEA und DHEAS zeigt.

Desweiteren ist festzuhalten, dass in dieser Studie in keiner Hinsicht alle Aspekte von pränatalem maternalen Stress erfasst wurden. Wie in der Einleitung beschrieben, ist Stress ein multimodales Konzept, das neben Stressoren auch Bewertungssysteme und Bewältigungsstrategien enthält. Der Fokus lag in dieser Studie lediglich auf zwei Stressoren, schwangerschaftsspezifischer Stress und kritische Lebensereignisse. Diese beiden Faktoren wurden ausgewählt, da sie gute Testgütekriterien aufweisen, bereits in verschiedenen Kohorten erprobt wurden und in anderen Studien negative Schwangerschaftsverläufe wie Frühgeburtlichkeit und niedriges Geburtsgewicht gut vorausgesagt haben [4, 5, 34-36]. Individuelle Bewertungs- und Bewältigungsstrategien wurden in dieser

Studie nicht abgefragt. Diese beeinflussen jedoch die Stressreaktion des Körpers und somit auch die hormonelle Stressreaktion mit. So ist es möglich, dass ein Stressor von einer Schwangeren zwar als sehr belastend bewertet wird, sie aber gute soziale und persönliche Ressourcen hat ihn zu bewältigen. Somit kann ein regelrechter Adaptationsprozess ablaufen und die Anforderung als Stressor eliminiert werden. Es entsteht keine chronische Belastung. Gleichzeitig kann soziale Isolierung, Gewalterfahrung, Ängstlichkeit oder Depression die Stresswahrnehmung und -verarbeitung im negativen Sinne beeinflussen [124]. So können also viele Faktoren zu Stress beitragen oder protektiv auf das Stresserleben wirken. In der Studienplanung wurde sich bewusst gegen eine erweiterte Auswahl an psychologischen Fragebögen entschieden die weitere Faktoren des Stressphänomens erfassen, um die Compliance der Studienteilnehmerinnen durch einen geringen Zeitaufwand und möglichst wenige zusätzliche Belastung zu erhöhen.

#### **4.5 DHEA und DHEAS als Marker der fetalen Stressbiologie**

Obwohl sich in dieser Studie der erwartete Zusammenhang zwischen DHEA und DHEAS in kindlichen Nägeln und maternalem Stress bzw. IUGR nicht zeigten, sprechen viele Gründe für die Eignung dieser Hormone als Marker der fetalen HHN-Achsenaktivität. Die meisten Studien ziehen bisher für die Beurteilung der fetalen HHN-Achsenaktivität Kortisol heran. Dies ist jedoch nicht unbedingt gut geeignet, da die Fähigkeit zur Neusynthese von Kortisol in der fetalen Nebenniere erst spät in der Schwangerschaft erworben wird [60, 61, 74]. Zudem zeigen Untersuchungen, dass über ein Drittel der Varianz der fetalen Kortisolkonzentration durch mütterliches Kortisol erklärt wird [125]. Dahingegen übersteigen fetale Produktionsraten von DHEA und DHEAS die der Mutter bei Weitem, da fetales DHEA und DHEAS in der Schwangerschaft Hauptsubstrat für die plazentare Östrogensynthese ist [58, 126, 127]. Passend dazu zeigten sich in der vorliegenden Studie deutlich höhere Werte dieser Hormone in kindlichen Nägeln im Vergleich zu mütterlichen Nagelkonzentrationen. Gleichzeitig zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang von DHEA und DHEAS-

Konzentrationen in kindlichen und mütterlichen Nägeln. Weiterhin ist es wahrscheinlich, dass sich die im Nagel gemessenen Konzentrationen von DHEA und DHEAS während der Schwangerschaft angesammelt haben, da nach der Geburt mit dem von der Plazenta produzierten CRH einer der Hauptstimuli für die Synthese von fetalen DHEA und DHEAS wegfällt. Postnatal kommt es rasch zu einer Involution der fetalen Zone der NNR. Dafür wächst die Zona fasciculata und die Kortisolproduktion steigt [57, 58].

In den vorliegenden Ergebnissen ergeben sich regelmäßig höhere Konzentrationen für DHEAS als für DHEA, ebenso sind die meisten Ergebnisse nur im Bezug auf die sulfatierte Form statistisch signifikant. Dies ist möglicherweise erklärt durch die Tatsache, dass der Großteil des in der Nebenniere gebildeten DHEA als DHEAS in den Blutstrom abgegeben wird. Die Sulfatierung überführt das Hormon in eine inaktive Speicherform und führt zu einer deutlich längeren Halbwertszeit sowie einer verminderten *clearance* [127, 128]. Dementsprechend erreicht DHEAS in höheren quantitativen Mengen die kindlichen Nägel und kann dort gespeichert werden.

#### **4.6 Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit**

Für die Bestimmung von fetalen Stresshormonen in Nägeln sprechen viele Argumente. Rückblickend ist vor allem die einfache Durchführbarkeit der Methode ein großer Vorteil. Die einfache Zugänglichkeit zu kindlichen Nägeln und die Probengewinnung über die Eltern selbst, führte zu einer großen Bereitschaft unter den Befragten an der Studie teilzunehmen. Im Gegensatz zu einer Blutentnahme ist das Nägelschneiden atraumatisch und nicht schmerzhaft für die Kinder. Zudem stellt es keine zusätzliche Belastung für die Familien dar, da es eine Notwendigkeit ist und im Alltag von den Eltern selbst durchgeführt wird. Ebenso ergeben sich bei kindlichen Nägeln keine Probleme aufgrund der Anwendung von Kosmetika wie beispielsweise Nagellacken. Weitere Vorteile der Nagelmethode zeigen sich auch in der einfachen Aufbewahrung und dem Transport. Es besteht keine Notwendigkeit für eine spezielle Verpackung oder Lagerung. Nägel sind nicht infektiös und können lange aufbewahrt werden. So war es möglich die Nägel über

einen längeren Zeitraum zu sammeln und die Laboruntersuchung am Tandemmassenspektrometer für alle Proben gleichzeitig durchzuführen. Unter Anwendung der Tandemmassenspektrometrie konnte die benötigte Materialmenge auf 1mg Nagel reduziert werden, dies ist vorteilhaft im Hinblick darauf, dass insbesondere Nägel von Frühgeborenen nur in sehr geringen Mengen gewonnen werden können. In den Laboruntersuchungen wurden jeweils zwei Probenansätze pro Proband/in angesetzt. Dabei zeigte sich eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Messungen.

#### **4.7 Limitationen der Studie**

Insgesamt ist bei der Interpretation der vorliegenden Daten der explorative Charakter der Studie und die kleine Stichprobengröße zu berücksichtigen. Die Ergebnisse sind mit Zurückhaltung auszulegen. Es können keine allgemeingültigen Aussagen abgeleitet werden.

Hinsichtlich der Stichprobenziehung ist kritisch zu betrachten, dass die Rekrutierung der Studienteilnehmerinnen an sich zu einer Sensibilisierung für das Thema Stress in der Schwangerschaft führen kann. Dies kann sich möglicherweise bereits im Sinne einer Intervention dahingehend ausgewirkt haben, dass Studienteilnehmerinnen ein erhöhtes Maß an Achtsamkeit und Entspannung vornahmen. Gleichzeitig zeigte sich im Hinblick auf das Auftreten kritischer Lebensereignisse unter den Studienteilnehmerinnen eher eine geringe Stressbelastung, während das Ausmaß von schwangerschaftsspezifischem Stress möglicherweise durch die Tatsache, dass gezielt Frauen mit Schwangerschaftskomplikationen rekrutiert wurden, insgesamt eher erhöht war. Desweiteren wurde eine einmalige prospektive Stresstestung in der Schwangerschaft durchgeführt. Dabei wurden die Fragebögen im Mittel während der 31. SSW ausgefüllt. Das bedeutet bei termingerechter Geburt wurden so allerdings bis zu zehn Wochen der Schwangerschaft hinsichtlich des Auftretens von Stress nicht erfasst. Außerdem verändert sich wie in Kapitel 4.4 beschrieben,

das Stressempfinden und auch die physiologische Stressreaktion mit Verlauf der Schwangerschaft. Die Fragebögen spiegeln demnach möglicherweise nicht das Stressempfinden in früheren Abschnitten der Schwangerschaft wieder.

Hinsichtlich der Gruppenbildung zur Bestimmung der Hormonkonzentration von DHEA und DHEAS in kindlichen Nägeln ist anzumerken, dass es sinnvoll gewesen wäre Kinder mit und ohne IUGR in definierten Gestationsaltersgruppen zu vergleichen, zum Beispiel frühgeborene Kinder mit IUGR und ohne IUGR, sowie reifgeborene Kinder mit IUGR und ohne IUGR. Aufgrund der Tatsache, dass die meisten Säuglinge mit IUGR gleichzeitig frühgeboren waren und aufgrund der geringen Stichprobengröße war es jedoch nicht möglich diese Einteilung vorzunehmen. Hierfür wäre ein deutlich größeres N nötig gewesen. Es ist anzunehmen, dass die starke Abhängigkeit vom Gestationsalter auch für andere Substrate gilt, die sich in kindlichen Nägeln messen lassen. Künftige Untersuchungen müssen diesen Aspekt berücksichtigen.

Die Bestimmung von DHEA und DHEAS in mütterlichen Nägeln zeigte signifikant niedrigere Werte für DHEAS im Vergleich zu Werten in kindlichen Nägeln. Beim Untersuchen mütterlicher Nägel ist zu beachten, dass hier weitaus mehr Variablen Einfluss auf die Hormonkonzentration nehmen können. Zwar wurden die Studienteilnehmerinnen im Rahmen der Rekrutierung angewiesen keine Kosmetikprodukte auf ihren Nägeln zu verwenden, jedoch konnte dies für den Zeitraum vor der Rekrutierung nicht festgelegt werden. Ben Khelil et al. fanden zwar keine Unterschiede der DHEA und DHEAS-Konzentration in Nägeln von Frauen, die solche Kosmetika benutzten, doch weist die Forschungsgruppe daraufhin, dass eine weitere Abklärung an einer größeren Stichprobe notwendig sei um diesen Aspekt abschließend zu klären [93]. Desweiteren wurde lediglich zu einem Zeitpunkt postpartal mütterliches Nagelmaterial gewonnen. Im Hinblick auf die Wachstumsrate menschlicher Nägel von 1.9 – 4 mm und die stark variierende Physiognomie der Nägel bei den Studienteilnehmerinnen ist nicht klar, inwieweit gemessene Hormonkonzentrationen den Zeitraum der Schwangerschaft widerspiegeln.

Ein weiterer Kritikpunkt ist die Definition der IUGR in der vorliegenden Studie. Alle Kinder mit einem Geburtsgewicht unterhalb der zehnten Perzentile sowie alle Kinder, die während pränataler Ultraschalluntersuchungen unterhalb der zehnten

Perzentile mit ihrem Gewicht lagen, wurden in die Untersuchungen aufgenommen. Aktuell gibt es aber an dieser Definition Kritik. Neuere Studien zeigen, dass bis zu 72% der Kinder mit sonografisch geschätztem Gewicht unter der zehnten Perzentile ein normales perinatales *outcome* haben. Lediglich Kinder mit einem geschätzten Gewicht unter der dritten Perzentile und/oder einem pathologischen Dopplerprofil der Nabelschnurarterie hatten ein erhöhtes Risiko für einen schlechten Schwangerschaftsausgang [129]. In der vorliegenden Studie liegt der Gruppe der Kinder mit IUGR jedoch eine Vielzahl möglicher Pathologien zugrunde. So wurden zum Beispiel auch Mehrlinge und Säuglinge unterhalb der zehnten Perzentile, deren Plazenta keine messbaren Störungen aufwies, mitberücksichtigt. Dies ist möglicherweise eine zu schwache Abgrenzung gegenüber schwerwiegenden Pathologien, da ein geringes Geburtsgewicht allein nicht unbedingt Ausdruck einer negativen intrauterinen Umgebung sein muss.

#### 4.8 Ausblick

Die Nagelmethode bietet viel Potenzial großflächige Untersuchungen mit retrospektivem Charakter an Säuglingen durchzuführen. Im Hinblick auf die, in dieser Studie gezeigten Zusammenhänge von Hormonkonzentrationen und Gestationsalter, sollten dabei Säuglinge in fest definierten Altersklassen hinsichtlich einzelner bestimmter Merkmale untersucht werden. Es ist denkbar weitere Faktoren hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf die Hormonkonzentrationen von DHEAS im Nagel zu untersuchen. Sicherlich interessant sind zum Beispiel die Auswirkungen von Diabetes oder bestimmten Infektionen in der Schwangerschaft auf die Aktivität der fetalen HHN-Achse. Auch so extreme Eingriffe in das intrauterine Leben wie sie im Rahmen der Fetalchirurgie stattfinden, könnten sich in den DHEAS-Konzentrationen im kindlichen Nagel widerspiegeln.

Weiterhin können über die Nagelmethode auch weitere biologische Systeme, die in die fetale Stressreaktion involviert sind, untersucht werden. Neben der HHN-Achse könnten beispielsweise auch Katecholaminmetabolite des sympathikoadrenergen Systems untersucht werden.

Im Hinblick auf langfristige Auswirkungen im Rahmen der fetalen Programmierung wären auch *follow-up* Untersuchungen der Probanden hinsichtlich der Entwicklung bestimmter mit pränatalem Stress oder niedrigem Geburtsgewicht assoziierten Erkrankungen wie Bluthochdruck, Übergewicht, erhöhter Insulinresistenz oder eingeschränkter kognitiver Entwicklung interessant.

Zur weiteren Klärung der Frage inwieweit pränataler Stress der Mutter den Fetus erreicht, wäre die Untersuchung eines direkten Maßes der physiologischen Stressreaktion der Mutter wie zum Beispiel den Kortisolwerten im Speichel oder Blut der Mutter interessant. Dies gilt insbesondere im Hinblick auf den häufig beschriebenen mangelnden Zusammenhang von objektivem Stress und physiologischer Stressreaktion.

#### **4.9 Schlussfolgerung**

Abschließend ist zu sagen, dass die vorliegende Studie zunächst nicht daraufhin weist, dass es unter einer intrauterinen Wachstumsrestriktion zu einer deutlich messbaren Überaktivität der fetalen HHN-Achse kommt. Es ist zu bedenken, dass der ausbleibende Zusammenhang, nicht zwangsläufig bedeutet, dass keine Anpassungsprozesse stattgefunden haben. Vielmehr ist denkbar, dass die gewählte Methode in der kleinen Stichprobengröße nicht geeignet ist diese frühen, möglicherweise auch sehr subtilen, Anpassungsprozesse abzubilden, beziehungsweise, dass deren Folgen erst später ersichtlich werden.

Auch wenn Stress in der Schwangerschaft in vielen Untersuchungen als nachteilig für das ungeborene Kind bewertet wird, weisen die Ergebnisse dieser Studie eher auf geringe Auswirkungen von pränatalem Stress, wie er in unserer Gesellschaft vorhanden ist, auf den Fetus hin. Inwieweit das auch für Frauen gilt, die extremen Stressbelastungen ausgesetzt sind bleibt unbeantwortet. Es ist sicherlich wichtig das ungeborene Kind möglichst gut vor unnötigen Risiken zu schützen und ein gewisses Maß an Achtsamkeit und Vorsicht in der Schwangerschaft einzuhalten. Jedoch ist das Auftreten kritischer Lebensereignisse meist unvermeidbar und die individuell unterschiedliche Wahrnehmung von Stress schwer zu beeinflussen. So

ist das Ergebnis dieser Studie möglicherweise eine Erleichterung für werdende Mütter. Es nimmt etwas von der Sorge, während der neunmonatigen Schwangerschaft schon das ganze Leben des Kindes negativ geprägt zu haben und lässt hoffen, dass die körpereigenen Regulations- und Schutzmechanismen so gut sind, dass sie die unabwendbaren Widrigkeiten des Lebens erfolgreich meistern können.

## 5 Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Agrawal, A., et al., *The effects of maternal smoking during pregnancy on offspring outcomes*. *Prev Med*, **2010**. 50(1-2): p. 13-8.
2. Suzuki, K., et al., *Association Between Maternal Smoking During Pregnancy and Birth Weight: An Appropriately Adjusted Model From the Japan Environment and Children's Study*. *J Epidemiol*, **2016**. 26(7): p. 371-7.
3. Williams, J.F., V.C. Smith, and A. Committee On Substance, *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*. *Pediatrics*, **2015**. 136(5): p. e1395-406.
4. Lobel, M., et al., *Pregnancy-specific stress, prenatal health behaviors, and birth outcomes*. *Health Psychol*, **2008**. 27(5): p. 604-15.
5. Zhu, P., et al., *Prenatal life events stress: implications for preterm birth and infant birthweight*. *Am J Obstet Gynecol*, **2010**. 203(1): p. 34 e1-8.
6. Gaignic-Philippe, R., et al., *Effects of prenatal stress on fetal and child development: a critical literature review*. *Neurosci Biobehav Rev*, **2014**. 43: p. 137-62.
7. Salam, R.A., J.K. Das, and Z.A. Bhutta, *Impact of intrauterine growth restriction on long-term health*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, **2014**. 17(3): p. 249-54.
8. Chan, P.Y., et al., *The long-term effects of prematurity and intrauterine growth restriction on cardiovascular, renal, and metabolic function*. *Int J Pediatr*, **2010**. 2010: p. 280402.
9. Barker, D.J., et al., *Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease*. *BMJ*, **1989**. 298(6673): p. 564-7.
10. Barker, D.J., et al., *Weight in infancy and death from ischaemic heart disease*. *Lancet*, **1989**. 2(8663): p. 577-80.
11. Braems, G., *Fetal hypoxemia on a molecular level: adaptive changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and the lungs*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, **2003**. 110 Suppl 1: p. S63-9.
12. Roth, T.L. and J.D. Sweatt, *Annual Research Review: Epigenetic mechanisms and environmental shaping of the brain during sensitive periods of development*. *J Child Psychol Psychiatry*, **2011**. 52(4): p. 398-408.
13. Baschat, A.A., *Pathophysiology of fetal growth restriction: implications for diagnosis and surveillance*. *Obstet Gynecol Surv*, **2004**. 59(8): p. 617-27.
14. McMillen, I.C., et al., *Fetal growth restriction: adaptations and consequences*. *Reproduction*, **2001**. 122(2): p. 195-204.
15. Unterscheider, J., et al., *Definition and management of fetal growth restriction: a survey of contemporary attitudes*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, **2014**. 174: p. 41-5.
16. Lausman, A., et al., *Screening, diagnosis, and management of intrauterine growth restriction*. *J Obstet Gynaecol Can*, **2012**. 34(1): p. 17-28.
17. von Beckerath, A.K., et al., *Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction*. *Am J Obstet Gynecol*, **2013**. 208(2): p. 130 e1-6.
18. Longo, S., et al., *Short-term and long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR)*. *J Matern Fetal Neonatal Med*, **2013**. 26(3): p. 222-5.
19. Smith, G.C. and R.C. Fretts, *Stillbirth*. *Lancet*, **2007**. 370(9600): p. 1715-25.

20. Lever, A.F. and S.B. Harrap, *Essential hypertension: a disorder of growth with origins in childhood?* J Hypertens, **1992**. 10(2): p. 101-20.
21. Bjarnegard, N., et al., *Cardiovascular function in adulthood following intrauterine growth restriction with abnormal fetal blood flow*. Ultrasound Obstet Gynecol, **2013**. 41(2): p. 177-84.
22. Crume, T.L., et al., *The long-term impact of intrauterine growth restriction in a diverse U.S. cohort of children: the EPOCH study*. Obesity (Silver Spring), **2014**. 22(2): p. 608-15.
23. Hales, C.N. and D.J. Barker, *Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis*. Diabetologia, **1992**. 35(7): p. 595-601.
24. Pike, K., J. Jane Pillow, and J.S. Lucas, *Long term respiratory consequences of intrauterine growth restriction*. Semin Fetal Neonatal Med, **2012**. 17(2): p. 92-8.
25. Kallen, B., et al., *Association between preterm birth and intrauterine growth retardation and child asthma*. Eur Respir J, **2013**. 41(3): p. 671-6.
26. Cebelin, M.S. and C.S. Hirsch, *Human stress cardiomyopathy. Myocardial lesions in victims of homicidal assaults without internal injuries*. Hum Pathol, **1980**. 11(2): p. 123-32.
27. Lee, S.P., et al., *The effect of emotional stress and depression on the prevalence of digestive diseases*. J Neurogastroenterol Motil, **2015**. 21(2): p. 273-82.
28. McEwen, B.S., *The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance*. Brain Res, **2000**. 886(1-2): p. 172-189.
29. Seyle, H., *The stress of life*. McGraw-Hill, 1956.
30. Holmes, T.H. and R.H. Rahe, *The Social Readjustment Rating Scale*. J Psychosom Res, **1967**. 11(2): p. 213-8.
31. Antonovsky, A. and R. Kats, *The life crisis history as a tool in epidemiological research*. J Health Soc Behav, **1967**. 8(1): p. 15-21.
32. Filipp, S., *Kritische Lebensereignisse*. Beltz PVU, **1995**. 3. Auflage.
33. Lazarus, R.S. and R. Launier, *Stress-related transactions between persons and environment*. Perspectives in Interactional Psychology, **1978**: p. 287-327.
34. Khashan, A.S., et al., *Rates of preterm birth following antenatal maternal exposure to severe life events: a population-based cohort study*. Hum Reprod, **2009**. 24(2): p. 429-37.
35. Khashan, A.S., et al., *Reduced infant birthweight consequent upon maternal exposure to severe life events*. Psychosom Med, **2008**. 70(6): p. 688-94.
36. Torche, F. and K. Kleinhaus, *Prenatal stress, gestational age and secondary sex ratio: the sex-specific effects of exposure to a natural disaster in early pregnancy*. Hum Reprod, **2012**. 27(2): p. 558-67.
37. Khashan, A.S., et al., *Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events*. Arch Gen Psychiatry, **2008**. 65(2): p. 146-52.
38. Laplante, D.P., et al., *Project Ice Storm: prenatal maternal stress affects cognitive and linguistic functioning in 5 1/2-year-old children*. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, **2008**. 47(9): p. 1063-72.
39. Huizink, A.C., et al., *The interrelationship between pregnancy-specific anxiety and general anxiety across pregnancy: a longitudinal study*. J Psychosom Obstet Gynaecol, **2014**. 35(3): p. 92-100.

40. Huizink, A.C., et al., *Is pregnancy anxiety a distinctive syndrome?* Early Hum Dev, **2004**. 79(2): p. 81-91.
41. Alderdice, F. and F. Lynn, *Factor structure of the Prenatal Distress Questionnaire*. Midwifery, **2011**. 27(4): p. 553-9.
42. Yali, A.M. and M. Lobel, *Coping and distress in pregnancy: an investigation of medically high risk women*. J Psychosom Obstet Gynaecol, **1999**. 20(1): p. 39-52.
43. Levin, J.S., *The factor structure of the pregnancy anxiety scale*. J Health Soc Behav, **1991**. 32(4): p. 368-81.
44. Kramer, M.S., et al., *Stress pathways to spontaneous preterm birth: the role of stressors, psychological distress, and stress hormones*. Am J Epidemiol, **2009**. 169(11): p. 1319-26.
45. Gutteling, B.M., et al., *The effects of prenatal stress on temperament and problem behavior of 27-month-old toddlers*. Eur Child Adolesc Psychiatry, **2005**. 14(1): p. 41-51.
46. Huizink, A.C., et al., *Psychological measures of prenatal stress as predictors of infant temperament*. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, **2002**. 41(9): p. 1078-85.
47. Douglas, A.J., *Baby on board: do responses to stress in the maternal brain mediate adverse pregnancy outcome?* Front Neuroendocrinol, **2010**. 31(3): p. 359-76.
48. Herman, J.P., et al., *Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response*. Compr Physiol, **2016**. 6(2): p. 603-21.
49. Goland, R.S., et al., *Biologically active corticotropin-releasing hormone in maternal and fetal plasma during pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, **1988**. 159(4): p. 884-90.
50. Sasaki, A., et al., *Isolation and characterization of a corticotropin-releasing hormone-like peptide from human placenta*. J Clin Endocrinol Metab, **1988**. 67(4): p. 768-73.
51. Lindsay, J.R. and L.K. Nieman, *The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in pregnancy: challenges in disease detection and treatment*. Endocr Rev, **2005**. 26(6): p. 775-99.
52. Robinson, B.G., et al., *Glucocorticoid stimulates expression of corticotropin-releasing hormone gene in human placenta*. Proc Natl Acad Sci U S A, **1988**. 85(14): p. 5244-8.
53. Christian, L.M., *Physiological reactivity to psychological stress in human pregnancy: current knowledge and future directions*. Prog Neurobiol, **2012**. 99(2): p. 106-16.
54. Nierop, A., et al., *Prolonged salivary cortisol recovery in second-trimester pregnant women and attenuated salivary alpha-amylase responses to psychosocial stress in human pregnancy*. J Clin Endocrinol Metab, **2006**. 91(4): p. 1329-35.
55. Obel, C., et al., *Stress and salivary cortisol during pregnancy*. Psychoneuroendocrinology, **2005**. 30(7): p. 647-56.
56. Glover, V. and M. Kammerer, *The Biology and Pathophysiology of Peripartum Psychiatric Disorders*. Primary Psychiatry, **2004**. 11(3): p. 37-41.
57. Sucheston, M.E. and M.S. Cannon, *Development of zonular patterns in the human adrenal gland*. J Morphol, **1968**. 126(4): p. 477-91.
58. Mesiano, S. and R.B. Jaffe, *Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex*. Endocr Rev, **1997**. 18(3): p. 378-403.

59. Ishimoto, H. and R.B. Jaffe, *Development and function of the human fetal adrenal cortex: a key component in the feto-placental unit*. *Endocr Rev*, **2011**. 32(3): p. 317-55.
60. Doody, K.M., et al., *3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase in the fetal zone and neocortex of the human fetal adrenal gland*. *Endocrinology*, **1990**. 126(5): p. 2487-92.
61. Rehman, K.S., B.R. Carr, and W.E. Rainey, *Profiling the steroidogenic pathway in human fetal and adult adrenals*. *J Soc Gynecol Investig*, **2003**. 10(6): p. 372-80.
62. Rainey, W.E., K.S. Rehman, and B.R. Carr, *The human fetal adrenal: making adrenal androgens for placental estrogens*. *Semin Reprod Med*, **2004**. 22(4): p. 327-36.
63. Siiteri, P.K.M., P.C., *The utilization of circulating dehydroepiandrosterone sulfate for estrogen synthesis during human pregnancy*. *Steroids*, **1963**, 2: p. 713-730.
64. Durand, P., et al., *ACTH induction of the maturation of ACTH-sensitive adenylate cyclase system in the ovine fetal adrenal*. *J Steroid Biochem*, **1981**. 15: p. 445-8.
65. Walsh, S.W., R.L. Norman, and M.J. Novy, *In utero regulation of rhesus monkey fetal adrenals: effects of dexamethasone, adrenocorticotropin, thyrotropin-releasing hormone, prolactin, human chorionic gonadotropin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone on fetal and maternal plasma steroids*. *Endocrinology*, **1979**. 104(6): p. 1805-13.
66. Smith, R., et al., *Corticotropin-releasing hormone directly and preferentially stimulates dehydroepiandrosterone sulfate secretion by human fetal adrenal cortical cells*. *J Clin Endocrinol Metab*, **1998**. 83(8): p. 2916-20.
67. Siiteri, P.K. and P.C. MacDonald, *Placental estrogen biosynthesis during human pregnancy*. *J Clin Endocrinol Metab*, **1966**. 26(7): p. 751-61.
68. Kaludjerovic, J. and W.E. Ward, *The Interplay between Estrogen and Fetal Adrenal Cortex*. *J Nutr Metab*, **2012**. 2012: p. 837901.
69. Albrecht, E.D., et al., *Identification and developmental expression of the estrogen receptor alpha and beta in the baboon fetal adrenal gland*. *Endocrinology*, **1999**. **140**(12): p. 5953-61.
70. Albrecht, E.D. and G.J. Pepe, *Effect of estrogen on dehydroepiandrosterone formation by baboon fetal adrenal cells in vitro*. *Am J Obstet Gynecol*, **1987**. **156**(5): p. 1275-8.
71. Pepe, G.J., M.G. Burch, and E.D. Albrecht, *Estrogen regulates 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase-1 and -2 localization in placental syncytiotrophoblast in the second half of primate pregnancy*. *Endocrinology*, **2001**. **142**(10): p. 4496-503.
72. Pepe, G.J. and E.D. Albrecht, *Regulation of the primate fetal adrenal cortex*. *Endocr Rev*, **1990**. **11**(1): p. 151-76.
73. Hirato, K., T. Yanaihara, and T. Nakayama, *A study of delta 5-3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human foetal adrenal glands*. *Acta Endocrinol (Copenh)*, **1982**. **99**(1): p. 122-8.
74. Lanman, J.T. and L.M. Silverman, *In vitro steroidogenesis in the human neonatal adrenal gland, including observations on human adult and monkey adrenal glands*. *Endocrinology*, **1957**. **60**(4): p. 433-45.
75. Reynolds, R.M., *Glucocorticoid excess and the developmental origins of disease: two decades of testing the hypothesis--2012 Curt Richter Award Winner*. *Psychoneuroendocrinology*, **2013**. **38**(1): p. 1-11.

76. Oh, S.Y., et al., *Fetal plasma cortisol and dehydroepiandrosterone sulfate concentrations in pregnancy and term parturition*. J Matern Fetal Neonatal Med, **2006**. 19(9): p. 529-36.
77. Gitau, R., et al., *Fetal hypothalamic-pituitary-adrenal stress responses to invasive procedures are independent of maternal responses*. J Clin Endocrinol Metab, **2001**. 86(1): p. 104-9.
78. Tegethoff, M., C. Pryce, and G. Meinlschmidt, *Effects of intrauterine exposure to synthetic glucocorticoids on fetal, newborn, and infant hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in humans: a systematic review*. Endocr Rev, **2009**. 30(7): p. 753-89.
79. Tegethoff, M., et al., *Dehydroepiandrosterone in nails of infants: a potential biomarker of intrauterine responses to maternal stress*. Biol Psychol, **2011**. 87(3): p. 414-20.
80. Gniadecka, M., et al., *Structure of water, proteins, and lipids in intact human skin, hair, and nail*. J Invest Dermatol, **1998**. 110(4): p. 393-8.
81. Lewis, B.L., *Microscopic studies of fetal and mature nail and surrounding soft tissue*. AMA Arch Derm Syphilol, **1954**. 70(6): p. 733-47.
82. de Berker, D.A., J. Andre, and R. Baran, *Nail biology and nail science*. Int J Cosmet Sci, **2007**. 29(4): p. 241-75.
83. Yaemsiri, S., et al., *Growth rate of human fingernails and toenails in healthy American young adults*. J Eur Acad Dermatol Venereol, **2010**. 24(4): p. 420-3.
84. Wolff, K., et al., *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 7 ed. **2006**: McGraw-Hill Professional.
85. Parizanganeh, A., et al., *Human nail usage as a Bio-indicator in contamination monitoring of heavy metals in Dizajabaad, Zanjan province-Iran*. J Environ Health Sci Eng, **2014**. 12(1): p. 147.
86. Pounds, C.A., E.F. Pearson, and T.D. Turner, *Arsenic in fingernails*. J Forensic Sci Soc, **1979**. 19(3): p. 165-73.
87. Madry, M.M., et al., *Retrospective monitoring of long-term recreational and dependent cocaine use in toenail clippings/scrapings as an alternative to hair*. Bioanalysis, **2014**. 6(23): p. 3183-96.
88. Palmeri, A., et al., *Drugs in nails: physiology, pharmacokinetics and forensic toxicology*. Clin Pharmacokinet, **2000**. 38(2): p. 95-110.
89. Kim, J.Y., et al., *Simultaneous determination of amphetamine-type stimulants and cannabinoids in fingernails by gas chromatography-mass spectrometry*. Arch Pharm Res, **2008**. 31(6): p. 805-13.
90. Mari, F., L. Politi, and E. Bertol, *Nails of newborns in monitoring drug exposure during pregnancy*. Forensic Sci Int, **2008**. 179(2-3): p. 176-80.
91. Choi, M.H., Y.S. Yoo, and B.C. Chung, *Measurement of testosterone and pregnenolone in nails using gas chromatography-mass spectrometry*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, **2001**. 754(2): p. 495-501.
92. Warnock, F., et al., *Measuring cortisol and DHEA in fingernails: a pilot study*. Neuropsychiatr Dis Treat, **2010**. 6: p. 1-7.
93. Ben Khelil, M., et al., *Simultaneous measurement of endogenous cortisol, cortisone, dehydroepiandrosterone, and dehydroepiandrosterone sulfate in nails by use of UPLC-MS-MS*. Anal Bioanal Chem, **2011**. 401(4): p. 1153-62.
94. Sarason, I.G., J.H. Johnson, and J.M. Siegel, *Assessing the impact of life changes: development of the Life Experiences Survey*. J Consult Clin Psychol, **1978**. 46(5): p. 932-46.

95. Gennaro, S., J. Shults, and D.J. Garry, *Stress and preterm labor and birth in Black women*. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs, **2008**. 37(5): p. 538-45.
96. Lobel, M., et al., *The impact of prenatal maternal stress and optimistic disposition on birth outcomes in medically high-risk women*. Health Psychol, **2000**. 19(6): p. 544-53.
97. Marsal, K., et al., *Intrauterine growth curves based on ultrasonically estimated foetal weights*. Acta Paediatr, **1996**. 85(7): p. 843-8.
98. Akagi, K. and J.R. Challis, *Threshold of hormonal and biophysical responses to acute hypoxemia in fetal sheep at different gestational ages*. Can J Physiol Pharmacol, **1990**. 68(5): p. 549-55.
99. Phillips, I.D., et al., *Placental restriction alters the functional development of the pituitary-adrenal axis in the sheep fetus during late gestation*. Pediatr Res, **1996**. 40(6): p. 861-6.
100. Ross, J.T., et al., *Cortisol differentially regulates pituitary-adrenal function in the sheep fetus after disconnection of the hypothalamus and pituitary*. J Neuroendocrinol, **1997**. 9(9): p. 663-8.
101. Parker, C.R., Jr., et al., *Umbilical cord plasma levels of dehydroepiandrosterone sulfate during human gestation*. J Clin Endocrinol Metab, **1982**. 54(6): p. 1216-20.
102. Phillips, D.I., et al., *Elevated plasma cortisol concentrations: a link between low birth weight and the insulin resistance syndrome?* J Clin Endocrinol Metab, **1998**. 83(3): p. 757-60.
103. Reynolds, R.M., et al., *Altered control of cortisol secretion in adult men with low birth weight and cardiovascular risk factors*. J Clin Endocrinol Metab, **2001**. 86(1): p. 245-50.
104. Kajantie, E., et al., *Birthsize, gestational age and adrenal function in adult life: studies of dexamethasone suppression and ACTH1-24 stimulation*. Eur J Endocrinol, **2003**. 149(6): p. 569-75.
105. Dahlgren, J., et al., *Adrenal steroid hormones in short children born small for gestational age*. Clin Endocrinol (Oxf), **1998**. 49(3): p. 353-61.
106. Tenhola, S., et al., *Increased adrenocortical and adrenomedullary hormonal activity in 12-year-old children born small for gestational age*. J Pediatr, **2002**. 141(4): p. 477-82.
107. Ong, K.K., et al., *Opposing influences of prenatal and postnatal weight gain on adrenarche in normal boys and girls*. J Clin Endocrinol Metab, **2004**. 89(6): p. 2647-51.
108. Beck Jensen, R., et al., *Influence of fetal growth velocity and smallness at birth on adrenal function in adolescence*. Horm Res Paediatr, **2011**. 75(1): p. 2-7.
109. Roberts, D. and S. Dalziel, *Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth*. Cochrane Database Syst Rev, **2006**(3): p. CD004454.
110. Wadhwa, P.D., C.A. Sandman, and T.J. Garite, *The neurobiology of stress in human pregnancy: implications for prematurity and development of the fetal central nervous system*. Prog Brain Res, **2001**. 133: p. 131-42.
111. Tollenaar, M.S., et al., *Maternal prenatal stress and cortisol reactivity to stressors in human infants*. Stress, **2011**. 14(1): p. 53-65.
112. Majzoub, J.A. and K.P. Karalis, *Placental corticotropin-releasing hormone: function and regulation*. Am J Obstet Gynecol, **1999**. 180(1 Pt 3): p. S242-6.
113. Challis, J., et al., *Fetal hypothalamic-pituitary adrenal (HPA) development and activation as a determinant of the timing of birth, and of postnatal disease*. Endocr Res, **2000**. 26(4): p. 489-504.

114. Barbazanges, A., et al., *Maternal glucocorticoid secretion mediates long-term effects of prenatal stress*. J Neurosci, **1996**. 16(12): p. 3943-9.
115. Weinstock, M., et al., *Prenatal stress selectively alters the reactivity of the hypothalamic-pituitary adrenal system in the female rat*. Brain Res, **1992**. 595(2): p. 195-200.
116. Welberg, L.A., J.R. Seckl, and M.C. Holmes, *Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase, the foeto-placental barrier to maternal glucocorticoids, permanently programs amygdala GR mRNA expression and anxiety-like behaviour in the offspring*. Eur J Neurosci, **2000**. 12(3): p. 1047-54.
117. Amelung, D., et al., *Conversion of cortisone to compound F*. J Clin Endocrinol Metab, **1953**. 13(9): p. 1125-6.
118. Edwards, C.R., et al., *Dysfunction of placental glucocorticoid barrier: link between fetal environment and adult hypertension?* Lancet, **1993**. 341(8841): p. 355-7.
119. Glynn, L.M., et al., *Pregnancy affects appraisal of negative life events*. J Psychosom Res, **2004**. 56(1): p. 47-52.
120. Glynn, L.M., et al., *When stress happens matters: effects of earthquake timing on stress responsivity in pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, **2001**. 184(4): p. 637-42.
121. Johnstone, H.A., et al., *Attenuation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis stress responses in late pregnancy: changes in feedforward and feedback mechanisms*. J Neuroendocrinol, **2000**. 12(8): p. 811-22.
122. Ma, S., et al., *Reduced hypothalamic vasopressin secretion underlies attenuated adrenocorticotropin stress responses in pregnant rats*. Endocrinology, **2005**. 146(3): p. 1626-37.
123. Kammerer, M., et al., *Pregnant women become insensitive to cold stress*. BMC Pregnancy Childbirth, **2002**. 2(1): p. 8.
124. Latendresse, G., *The interaction between chronic stress and pregnancy: preterm birth from a biobehavioral perspective*. J Midwifery Womens Health, **2009**. 54(1): p. 8-17.
125. Gitau, R., et al., *Fetal exposure to maternal cortisol*. Lancet, **1998**. 352(9129): p. 707-8.
126. Pepping, J., *DHEA: dehydroepiandrosterone*. Am J Health Syst Pharm, **2000**. 57(22): p. 2048-50, 2053-4, 2056.
127. Hill, M., et al., *Steroid profiling in pregnancy: a focus on the human fetus*. J Steroid Biochem Mol Biol, **2014**. 139: p. 201-22.
128. Lennartsson, A.K., et al., *DHEA and DHEA-S response to acute psychosocial stress in healthy men and women*. Biol Psychol, **2012**. 90(2): p. 143-9.
129. Unterscheider, J., et al., *Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study*. Am J Obstet Gynecol, **2013**. 208(4): p. 290 e1-6.

## 6 Anhang

Datum:      Tag      Monat      Jahr  
          □□      □□      □□

### Schwangerschaftsbedingte Erfahrungen

Für manche Frauen sind bestimmte Erfahrungen im Zusammenhang mit der Schwangerschaft beunruhigend oder beängstigend, während andere Frauen sich über die gleichen Erfahrungen keine Sorgen machen. Bitte geben Sie bei den folgenden Aussagen jeweils an, inwieweit sie Ihren eigenen

Empfindungen und Gefühlen entsprechen.

Bitte gehen Sie **der Reihe nach** vor und **lassen Sie keine Aussage aus**. Kreuzen sie jeweils die Antwortmöglichkeit an, die Ihnen am zutreffendsten erscheint.

Bitte wählen Sie für jede der Aussagen **nur eine** der folgenden Antwortalternativen:

Durchkreuzen Sie 0 = diese Aussage trifft auf mich gar nicht zu

Durchkreuzen Sie 1 = diese Aussage trifft auf mich ein wenig zu

Durchkreuzen Sie 2 = diese Aussage trifft auf mich mäßig stark zu

Durchkreuzen sie 3 = diese Aussage trifft auf mich stark zu

Durchkreuzen Sie 4 = diese Aussage trifft auf mich sehr stark zu

trifft gar nicht zu	trifft ein wenig zu	trifft mäßig stark zu	trifft stark zu	trifft sehr stark zu
------------------------	------------------------	-----------------------------	--------------------	-------------------------

---

1. Mich stören Gewichtszunahmen in der Schwangerschaft

①

②

③

④

⑤

2. Körperliche Symptome wie Übelkeit, Erbrechen, geschwollene Füße und Rückenschmerz, die im Zusammenhang mit der Schwangerschaft auftreten, belasten mich	①	②	③	④
3. Ich bin besorgt darüber, wie ich mein Baby richtig versorge, wenn ich nach der Krankenhausentlassung wieder nach Hause komme	①	②	③	④
4. Mich plagen die gefühlsmäßigen Höhen und Tiefen während der Schwangerschaft	①	②	③	④
5. Ich mache mir Sorgen darüber, dass sich meine Beziehung zu anderen Menschen, die mir wichtig sind, während meiner Schwangerschaft verändern wird	①	②	③	④
6. Ich mache mir Sorgen, ob ich mich für mein Baby gesund und ausgewogen genug ernähre	①	②	③	④
7. Insgesamt belasten mich die Veränderungen meiner Figur und meines Körperumfangs	①	②	③	④
8. Ich mache mir Sorgen darüber, dass sich durch das Baby meine Beziehung zu dem Vater des Kindes verändern wird	①	②	③	④
9. Ich mache mir Sorgen darüber, ein krankes Kind zur Welt zu bringen	①	②	③	④
10. Ich habe Angst vor den Wehen und der Geburt	①	②	③	④
11. Ich habe Angst vor einer möglichen Frühgeburt	①	②	③	④
12. Ich mache mir Sorgen darüber, dass ich keinen emotionalen Bezug zu meinem Baby finde	①	②	③	④

Tag      Monat      Jahr

Datum:



### Erfassung von Lebensereignissen

Im Folgenden finden Sie eine Auflistung von Ereignissen, die manchmal Veränderungen im Leben bewirken und soziale Neuanpassungen erfordern können.

*Bitte kreisen Sie die vorangestellten Nummern all derjenigen Ereignisse ein, die Sie im Verlauf des letzten Jahres erlebt haben.*

*Geben Sie bitte jeweils durch ein Kreuz im freien Raum nach dem jeweiligen Ereignis die Zeitperiode an, in der es eingetreten ist.*

Schätzen Sie bitte zudem bei jedem markierten Ereignis ein, wie sehr es *aus Ihrer Sicht damals* Ihr Leben (sei es positiv oder negativ) beeinflusst hat. Das heißt, machen Sie bitte eine Angabe sowohl zur Richtung als auch zum Ausmaß des Einflusses des jeweiligen Ereignisses auf Ihr Leben.

Dabei würde ein Kreis um die Ziffer –3 einen extrem negativen Einfluss andeuten.

Ein Kreis um die Null (0) bedeutet, das jeweilige Ereignis hatte aus *Ihrer damaligen Sicht* weder eine positive noch eine negative Auswirkung.

Das Umkreisen der Ziffer +3 schließlich deutet auf einen extrem positiven Einfluss des Ereignisses auf *Ihr damaliges Leben* hin

		0 bis 6 Monate	7 Monate bis 1 Jahr	äu ße rst ne ga ti v						
1.	Hochzeit	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
2.	Tod des Ehepartners	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
3.	Große Veränderungen in den Schlafgewohnheiten (deutlich mehr oder weniger Schlaf)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
4.	Tod eines nahen Familienangehörigen									
a.	Mutter	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3

b.	Vater	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
c.	Schwester	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
d.	Bruder	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
e.	Großmutter	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
f.	Großvater	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
g.	Sonstige (bitte angeben)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
5.	Größere Veränderungen in den Essgewohnheiten (deutlich höhere oder geringere Nahrungsaufnahme)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
6.	Größerer Wertverlust der Geldanlagen (Aktien, Wertpapiere, Investmentfonds etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
7.	Tod eines engen Freundes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
8.	Herausragende persönliche Leistung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
9.	Kleinere Gesetzesübertretung (Strafe für zu schnelles Fahren, Ruhestörung etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
10.	Schwangerschaft	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
11.	Veränderung der beruflichen Situation (andere Position, stark veränderte Arbeitsbedingungen, andere Arbeitszeiten etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
12.	Anstellungswechsel	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
13.	Schwere Erkrankung oder Verletzung eines engen Familienangehörigen									
a.	Vater	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
b.	Mutter	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
c.	Bruder	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
d.	Schwester	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
e.	Großvater	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3

f.	Großmutter	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
g.	Ehepartner	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
h.	Sonstige (bitte angeben)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
14.	Sexuelle Probleme	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
15.	Ärger mit dem Arbeitgeber (Gefahr des Arbeitsplatzverlustes, der zeitweiligen Arbeitsentbindung, der beruflichen Rückstufung etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
16.	Ärger mit der Familie des Partners	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
17.	Größere Veränderung der finanziellen Situation (starke Verbesserung oder starke Verschlechterung)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
18.	Größere Veränderung in der räumlichen Nähe zu Familienmitgliedern (größere oder geringere Nähe)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
19.	Familienzuwachs (durch Geburt, Adoption, Einzug eines Familienmitglieds)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
20.	Wohnungswechsel	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
21.	Trennung vom Partner (wegen Konflikt)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
22.	Größere Veränderung in kirchlichen Aktivitäten (höhere oder geringere Beteiligung)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
23.	Wiederversöhnung mit dem Partner	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
24.	Größere Veränderungen in der Häufigkeit von Auseinandersetzungen mit dem Partner (viel häufiger oder viel seltener Auseinandersetzungen)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
25.	Veränderungen in der Berufstätigkeit des Partners (Arbeitsplatzverlust, Anstellungswechsel,	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3

Pensionierung)

26.	Größere Veränderungen in der Art und/oder des Umfangs der Erholung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
27.	Kreditaufnahmen/Ausleihen von mehr als 15.000 Euro (um eine Wohnung zu kaufen, ein Geschäft zu eröffnen etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
28.	Kreditaufnahmen/Ausleihen von weniger als 15.000 Euro (um ein Auto zu kaufen, ein Fernsehgerät anzuschaffen, den Urlaub zu finanzieren etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
29.	Verlust des Arbeitsplatzes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
30.	Fehlgeburt oder Abtreibung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
31.	Schwere persönliche Erkrankung oder Verletzung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
32.	Größere Veränderungen in sozialen Aktivitäten wie Partygänge, Kinobesuche, Besuche von Freunden (Zunahme oder Abnahme solcher Aktivitäten)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
33.	Größere Veränderungen in familiären Lebensumständen (Bau eines Hauses, Renovierung der Wohnung)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
34.	Scheidung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
35.	Schwere Verletzung oder Erkrankung eines engen Freundes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
36.	Auszug eines Sohnes oder einer Tochter von zu Hause (wegen Heirat, Beginn der Ausbildung etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
37.	Beendigung der Schulausbildung	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
38.	Trennung vom Partner (beruflich bedingt oder aufgrund einer Reise etc.)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3

- |   |                       |                       |    |    |    |   |    |    |    |
|---|-----------------------|-----------------------|----|----|----|---|----|----|----|
| 39. Verlobung                               | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |
| 40. Beendigung der Beziehung mit dem Freund | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |
| 41. Erstmöglicher Auszug von zu Hause       | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |
| 42. Versöhnung mit dem Freund               | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |

Weitere Ereignisse, die Ihr Leben in der letzten Zeit beeinflusst haben (bitte auflisten und einschätzen

- |       |                       |                       |    |    |    |   |    |    |    |
|-------|-----------------------|-----------------------|----|----|----|---|----|----|----|
| _____ | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |
| _____ | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |
| _____ | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | -3 | -2 | -1 | 0 | +1 | +2 | +3 |

## Einverständniserklärung

Liebe Eltern,

für viele Eltern ist die Schwangerschaft eine spannende und aufregende Zeit.

Wir als Ärzte werden häufig mit Fragen konfrontiert, die das vorgeburtliche Leben betreffen, wie z.B.: „Kann mein Kind im Mutterleib schon Stress haben?“ oder „Hat es Auswirkungen auf mein Kind wenn ich als Mutter Stress in der Schwangerschaft habe?“ Auf diese Fragen gibt es bisher noch keine eindeutigen Antworten.

Es gibt aber erste wissenschaftliche Erkenntnisse, dass sich möglicherweise Hormone, die man in den Nägeln nachweisen kann, in ihrer Konzentration je nach mütterlichem Stress ändern. Es handelt sich dabei um das Dehydroepiandrosteron (DHEA) und das Dehydroepiandrosteron- Sulfat (DHEAS).

Wir, das sind Kinderärzte und Frauenärzte des Universitätsklinikums Düsseldorf, Psychologen der Universität Düsseldorf und Pränatalmediziner der Praxis praenatal.de, interessieren uns für die Frage, ob das ungeborene Kind durch Probleme in der Schwangerschaft belastet wird. Probleme können beispielweise ein vermindertes kindliches Wachstum oder die vorzeitige Wehentätigkeit sein.

Um mehr über das vorgeburtliche Leben zu erfahren, führen wir eine Studie durch, bei der wir die Nägel der Neugeborenen und die Nägel der Mütter auf Veränderungen im hormonellen Stoffwechsel untersuchen. Zeitgleich erfassen wir die Belastungen in der Schwangerschaft über einen Fragebogen.

Zum Ablauf der Studie: wir benötigen das Nagelmaterial Ihres Kind, wenn Sie zum ersten Mal die Nägel schneiden. Das Nagelmaterial von Ihnen (von der Mutter) hätten wir gerne nach der Geburt und den Fragebogen füllen Sie bitte während des stationären Aufenthalts aus. Für das Nagelmaterial erhalten Sie von uns kleine Behälter und Versandtüten.

Diese Studie wird anonymisiert durchgeführt, und Ihre Daten sind niemandem außer uns zugänglich. Trotzdem benötigen wir Ihre vollständige Adresse und wenn möglich Ihre Telefonnummer falls wir Rückfragen haben sollten.

Wir freuen uns sehr, wenn Sie an der Studie teilnehmen und damit die Wissenschaft unterstützen.

Die Ethikkommission der Universitätsklinik hat das Studiendesign genehmigt.

Diese Einwilligung kann jederzeit ohne Nachteile für Sie oder Ihr Kind widerrufen werden. In diesem Fall würden die erhobenen Daten noch bis zum Ende der Auswertung der Studie aufbewahrt werden.

Ich bin mit der Untersuchung der Nägel bei meinem Kind einverstanden.

Datum, Ort

Unterschrift der/des Sorgeberechtigten

Leiter der Studie: Prof. Dr. T. Höhn, Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie, Heinrich-Heine-Universität, Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf

## Einwilligungserklärung zum Datenschutz

- Quantifizierung von Dehydroepiandrosteron (DHEA) bzw. Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) in den Fingernägeln von Früh- und Reifgeborenen zur Quantifizierung von fetaler Stressexposition -

Mir ist bekannt, dass bei dieser Studie personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, über mich erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über meine Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor der Teilnahme an der Studie folgende freiwillig abgegebene Einwilligungserklärung voraus, d.h. ohne die nachfolgende Einwilligung kann ich nicht an der Studie teilnehmen.

1) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, erhoben, in Papierform oder auf elektronischen Datenträgern Universitäts-Frauenklinik aufgezeichnet und gespeichert werden.

2) Ich bin darüber aufgeklärt worden, dass ich meine Einwilligung in die Aufzeichnung, Speicherung und Verwendung meiner Daten jederzeit widerrufen kann. Bei einem Widerruf werden meine Daten bis zum Ende der Auswertung der Studie aufbewahrt.

3) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Daten nach Beendigung oder Abbruch der Studie 3 Jahre aufbewahrt werden. Danach werden meine personenbezogenen Daten gelöscht, soweit dem nicht gesetzliche, satzungsgemäße oder vertragliche Aufbewahrungsfristen entgegenstehen.

Name Studienteilnehmer/gesetzlicher Vertreter in Druckbuchstaben, Datum, Unterschrift

## Danksagung

Meine Doktorarbeit hat mich in den letzten Jahren meines Lebens ständig begleitet. Auf diesem Weg haben mir viele Personen auf die eine oder andere Weise geholfen den nächsten Schritt denken, den nächsten Atemzug, den nächsten Besenstrich zu tun und verdienen damit mein ausgesprochenes Dankeschön.

Bei allen Eltern und ihren Kindern, die an meiner Studie teilgenommen haben, bedanke ich mich herzlich für ihre Mitarbeit und Zuverlässigkeit. Ohne sie wäre diese Doktorarbeit nicht zustande gekommen.

Bei meinem Doktorvater Prof. Dr.med. Thomas Höhn bedanke ich mich dafür, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat in meinem Wunschfach Pädiatrie zu promovieren und für die stetige Unterstützung, konstruktive Kritik, Motivation, Geduld und Mitarbeit an der Fertigstellung meiner Arbeit.

Bei Dr. med. Susanne Fröhlich und Dr. med. Lena Antonaci bedanke ich mich insbesondere für die Unterstützung bei der Planung dieser Studie und die Hilfe im Rahmen der Rekrutierung der Studienteilnehmer/innen.

Bei Dr. rer.nat. Diran Herebian und seinen Mitarbeiterinnen im Labor bedanke ich mich herzlich für die umfassende Vorarbeit im Rahmen des experimentellen Teils dieser Studie und für die Unterstützung bei der Durchführung der Laboruntersuchungen.

Bei PD Dr. rer.nat. Pablo Verde bedanke ich mich für die Ratschläge und Erklärungen im Rahmen der statistischen Untersuchungen.

Bei Prof. Dr. Martin Heil bedanke ich mich für die Konsultationen zu den psychologischen Teilen dieser Arbeit.

Bei meinen Freundinnen Kim und Kathrin bedanke ich mich sehr für ihr Verständnis und ihre motivierenden Worte während der gesamten Zeit der Erstellung dieser Arbeit.

Meiner gesamten Familie danke ich für die Dinge, die sie mir ermöglicht haben und die Unterstützung während meines Studiums. Dabei danke ich insbesondere meiner Schwester Carina dafür, dass sie immer daran geglaubt hat, dass ich einmal eine richtige Frau Doktor werde, meinem Bruder Peter für seine Tapferkeit und dafür, dass er alle Dinge wieder in Relation gesetzt hat und meinen Tanten Ele und Claudia für den immerwährenden Beistand in jeder Lebenslage und das große Vorbild, welches sie mir immer gewesen sind.

Die wichtigste Stütze in der ganzen Zeit war mein Partner Ruben. Bei Ihm bedanke ich mich für jeden Tag, den er die letzten Jahre an meiner Seite verbracht hat und für alle Tage die noch kommen.

Dank der Zusammenarbeit mit diesen Menschen habe ich nun endlich die ganze Straße zu Ende gekehrt und es hat Freude gemacht.