

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie

Klinikdirektor: Prof. Dr. med. Gerhard Adam

Diffusions-gewichtete Bildgebung zur Evaluation Glucocorticoid-induzierter Veränderungen in fetalen Lungen

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Anne-Kathrin Schätzle
aus Waldkirch

Hamburg 2013

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 15.05.2014

Veröffentlicht mit der Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Ulrike Wedegärtner

Prüfungsausschuss, 2.Gutachter/in: Prof. Dr. Dominique Singer

I. Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| 1. Arbeitshypothese und Fragestellung | 1 |
| 2. Einleitung | 2 |
| 2.1. Pränatale Glucocorticoid-Gabe | 2 |
| 2.1.1 Frühgeburt und Folgen | 2 |
| 2.1.2 Physiologie der Lungenreife beim Menschen..... | 3 |
| 2.1.3 Das Atemnotsyndrom | 4 |
| 2.1.4 Prävention des RDS durch antenatale GC-Gabe..... | 6 |
| 2.1.5 Wirkstoff und Anwendung..... | 9 |
| 2.1.6 Vergleich des klinischen Outcomes unter den beiden Substanzen... | 10 |
| 2.1.7 Mehrfache Applikation/ „rescue therapy“ | 12 |
| 2.1.8 Mehrlings-Schwangerschaft | 13 |
| 2.1.9 Auswirkungen einer ACS-Therapie auf die Entwicklung des Gehirns | 14 |
| 2.1.10 Wirkung der GC in anderen fetalen Geweben..... | 16 |
| 2.1.11 Langzeitergebnisse | 17 |
| 2.1.12 Wirkung der ACS auf die Reifung der Lungen in Schafsfeten..... | 18 |
| 2.2 Das Schaf in der feto-maternalen Forschung | 22 |
| 2.3 Diffusions-gewichtete Bildgebung in der MRT | 23 |
| 3. Material und Methoden | 28 |
| 3.1 Ethikvotum und Versuchstiere | 28 |
| 3.1.1 Zustimmung der Ethikkommission..... | 28 |
| 3.1.2 Versuchstiere..... | 28 |
| 3.2 Versuchsaufbau | 29 |
| 3.2.1 Messtage und GA..... | 29 |
| 3.2.2 GC-Applikation und Kontrolltiere | 29 |
| 3.3 Versuchsdurchführung | 30 |
| 3.3.1 Versuchsablauf..... | 30 |
| 3.3.2 MRT Protokoll..... | 34 |
| 3.4 Auswertung der MRT-Daten | 35 |
| 3.5 Statistische Auswertung..... | 37 |
| 4. Ergebnisse | 38 |
| 4.1. Allgemeine Ergebnisse | 38 |

| | |
|--|----|
| 4.2 Interrater-Reliabilität..... | 39 |
| 4.3 ADC und GA | 39 |
| 4.4 Test-Retest-Stabilität der ADC-Messungen | 39 |
| 4.5 Die ADC-Werte der GC-Gruppe im Verlauf | 40 |
| 4.6 Vergleich der GC-Gruppe mit der Kontrollgruppe | 41 |
| 4.7 Komplikationen der Untersuchungen | 42 |
| 5. Diskussion | 44 |
| 6. Zusammenfassung | 51 |
| 7. Literaturverzeichnis..... | 53 |
| 8. Danksagung..... | 67 |
| 9. Eidesstattliche Erklärung | 68 |

II. Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Schematische Darstellung der fetalen Lungenentwicklung | 4 |
| Abbildung 2: Die Wirkung der GC auf zellulärer Basis. | 9 |
| Abbildung 3: Stejskal-Tanner Gradienten-Schema. | 24 |
| Abbildung 4: Effekte auf ortsfeste und sich bewegende Protonen. | 25 |
| Abbildung 5: Schaf im MRT-Gerät..... | 34 |
| Abbildung 6: Fetus im sagittalen Schnittbild zur allgemeinen Orientierung..... | 35 |
| Abbildung 7: Auswertung des Bildmaterials. | 36 |
| Abbildung 8: Das Verhalten der ADC-Werte der Kontrollgruppe mit zunehmendem GA..... | 40 |
| Abbildung 9: Die gemittelten ADC-Werte der oberen, mittleren und unteren Lungenanteilen aus den Baseline- und Follow-Up-MRT-Untersuchungen der GC-Gruppe..... | 41 |
| Abbildung 10: ADC-Werte der oberen, mittleren und unteren Lungenanteile ... | 42 |

III. Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1: Anzahl der Schafs feten in den beiden Untersuchungsgruppen..... | 29 |
| Tabelle 2: Baseline- und Follow-Up-MRT-Untersuchungen in den beiden Untersuchungsgruppen..... | 38 |
| Tabelle 3: Komplikationen der Untersuchungen (Muttertiere) in den verschiedenen Gruppen..... | 43 |
| Tabelle 4: Schnittentbindungen in den Untersuchungsgruppen..... | 43 |

IV. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------|--|
| ACS | „antenatal corticosteroids“; antenatale Glucocorticoide |
| ADC | „apparent diffusion coefficient“; offensichtlicher Diffusionskoeffizient |
| AMV | Atemminutenvolumen |
| AZV | Atemzugvolumen |
| DNA | „deoxyribonucleic acid“ |
| DWI | „diffusion weighted imaging“; Diffusions-gewichtete Bildgebung |
| EPI | „echoplanar imaging“, echoplanare Bildgebung |
| FOV | „field of view“; Blickfeld |
| GA | Gestationsalter |
| GC | Glucocorticoid, -e |
| HF | Hochfrequenz |
| HHNA | Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse |
| i.m. | intramuskulär |
| i.v. | intravenös |
| IVH | intraventrikuläre Blutung |
| MPA | Medroxyprogesteronacetat |
| MRI | „magnetic resonance imaging“; Magnetresonanztomographie |
| MRI | „magnetic resonance imaging“; Magnetresonanztomographie |
| mRNA | „messenger ribonucleic acid“ |
| MRT | Magnetresonanztomograph, -ie |
| NEC | nekrotisierende Enterokolitis |

| | |
|--------|---|
| RDS | „respiratory distress syndrome“; Atemnotsyndrom |
| ROI | „region of interest“ |
| S. c. | Sectio caesarea |
| SSW | Schwangerschaftswoche, -n |
| T2 TSE | T2 gewichtete Multishot Multislice Turbo-Spinecho |
| TE | „echo time“; Echozeit |
| TR | „repetition time“; Repetitionszeit |
| UKE | Universitätsklinikum Eppendorf |

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Bei einer drohenden Frühgeburt werden den Müttern routinemäßig Glucocorticoide (GC) antenatal zur Induktion der fetalen Lungenreife und Prävention des fetalen Atemnotsyndroms („respiratory distress syndrome“; RDS) verabreicht (Liggins und Howie, 1972, NIH1994, 1995). Die Wirkung tritt 24 h nach der ersten GC-Applikation ein (NIH1994, 1995). Während die positive Wirkung der antenatalen GC („antenatal corticosteroids“ (ACS)) auf Überleben und Morbidität des Frühgeborenen unbestritten ist (Roberts und Dalziel, 2006), deuten sich negative Langzeitwirkungen, vor allem bei mehrfacher GC-Gabe, z. B. auf die neurologische Entwicklung des Feten, an (Baud und Sola, 2007).

Zur pränatalen Lungenreifediagnostik steht bis heute nur die Analyse der Bestandteile des Fruchtwassers zur Verfügung (Schneider und Helmer, 2011). Dieses invasive Verfahren wird heute kaum mehr praktiziert (Ragosch und Weitzel, 1995). Es gibt kein etabliertes non-invasives Verfahren, das Lungenreife nachweisen kann und damit eine GC-Behandlung überflüssig macht bzw. die Wirkung einer einmaligen GC-Gabe bestätigt. Die Sensitivität der Ultraschalluntersuchungen zur Bestimmung der Lungenreife ist schlecht (Nimrod et al., 1986). Neben dem Ultraschall bzw. ergänzend zu diesem Verfahren hat sich in den letzten Jahren auch die Magnetresonanztomographie (MRT) als Bildgebung in der fetalen Diagnostik und der feto-maternalen Forschung etabliert (Wright et al., 2010). Mit der diffusions-gewichteten Bildgebung der MRT („diffusion weighted imaging“ (DWI)) werden offensichtliche Diffusionskoeffizienten („apparent diffusion coefficient“ (ADC)) ermittelt (Thoeny und De Keyzer, 2007). Bisher gibt es keine eindeutigen Ergebnisse wie sich die Diffusionseigenschaften und damit die ADC-Werte der fetalen Lungen mit fortschreitender Lungenreife verändern. Es ist unbekannt, ob und wie GC die messbaren Diffusionswerte der fetalen Lungen beeinflussen. Das Ziel unserer Studie war daher, die Veränderungen der Diffusionseigenschaften der fetalen Lungen nach GC-Applikation mit der MRT zu untersuchen. Bisher gibt es keine Publikationen zu diesem Thema.

Unsere Studie wurde an trächtigen Schafen und deren Lämmer durchgeführt. In der feto-maternalen Forschung stellt das Schaf ein beliebtes Tiermodell dar. Dies gilt insbesondere für die Erforschung der pränatalen GC-Exposition.

2. Einleitung

2.1. Pränatale Glucocorticoid-Gabe

2.1.1 Frühgeburt und Folgen

Eine besondere Herausforderung für die Neonatologie stellt die Versorgung von frühgeborenen Neonaten (Geburt vor 37+0 Schwangerschaftswochen (SSW) (Schneider und Helmer, 2011)) dar. In den letzten Jahren war in Deutschland eine steigende Tendenz an Frühgeburten zu verzeichnen (Schneider und Helmer, 2011). 2008 lag die Rate hierzulande bei etwa 9% (BQS, 2008).

An der Neonatalsterblichkeit sind frühgeborene Neugeborene mit 75% mehrheitlich beteiligt (Schneider und Helmer, 2011).

Es gilt Präventionsmaßnahmen und eine Therapie der Folgeerscheinungen der Frühgeburtlichkeit einzuleiten, um die Mortalität und Morbidität zu senken (Ragosch, 2004). Das kindliche Atemnotsyndrom ist eine unreifebedingte Erkrankung, die unter den möglichen Folgen einer Frühgeburt eine besondere Stellung einnimmt.

Die Qualität des Langzeitüberlebens scheint signifikant mit dem Auftreten, aber auch dem Schweregrad eines Atemnotsyndroms assoziiert zu sein. Außerdem treten gehäuft intraventrikuläre Blutungen (IVH) und die nekrotisierende Enterokolitis (NEC) bei frühgeborenen Neonaten auf, die ebenfalls erhebliche Belastungen für das Neugeborene darstellen (Ragosch, 2004).

Ragosch nennt drei Möglichkeiten, um mit diesen Folgeerscheinungen umzugehen:

- a) antenatale Diagnostik der fetalen Lungenreife,
- b) pharmakologische Reifeinduktion, auf die im Folgenden vorrangig eingegangen wird,
- c) postnatale Applikation von Surfactant (Ragosch, 2004).

Die intrauterine Bestimmung der fetalen Lungenreife basiert auf der Analyse von Fruchtwasser (Schneider und Helmer, 2011).

Bei intakter Fruchtblase muss dies per Amniozentese gewonnen werden, welche mit einem erhöhten Risiko für den Fetus einhergeht. Atembewegungen

des Fetus bewirken, dass Sekret aus den Alveolen in das Fruchtwasser übertritt (Schneider und Helmer, 2011). Für die Diagnostik der Lungenreife sind die Phospholipide des Surfactants ein besonders wichtiger Bestandteil des Alveolarsekrets (Ragosch, 2004). So ist der Gold-Standard zur pränatalen Diagnostik die dünnschichtchromatographische Bestimmung der Lezithin-Sphingomyelin-Ratio des Fruchtwassers (Gluck et al., 1971). Hallman et al. griffen auf die Bestimmung anderer Phospholipide wie Phosphatidglycerol zurück (Hallman et al., 1977).

Anzumerken ist, dass Erkrankungen in der Schwangerschaft (z. B. Diabetes mellitus) einen Einfluss auf den Reifungsprozess haben können und zudem in das Fruchtwasser übergetretenes Mekonium oder Blut zu einer Verfälschung der Messwerte führen können (Barkai et al., 1986, Dalence et al., 1995).

Aufgrund schlechter Ergebnisse kann die antenatale Diagnostik der Lungenreife heute nicht mehr empfohlen werden (Ragosch, 2004). Als Ragosch et al. 1995 im deutschsprachigen Raum Kliniken zur Durchführung der antenatalen Lungenreifediagnostik befragten, gaben weniger als 15% der teilnehmenden Kliniken an, das Verfahren noch einzusetzen (Ragosch und Weitzel, 1995).

2.1.2 Physiologie der Lungenreife beim Menschen

Die Reifung der Lunge beginnt drei Wochen post conceptionem und ist mit dem achten Lebensjahr abgeschlossen. DiFiore und Wilson beschrieben 1994 fünf Stadien der Lungenreife (DiFiore und Wilson, 1994). Die embryonale Phase (bis zur 6. SSW), pseudoglanduläre Phase (6.-16. SSW), kanalikuläre Phase (16.-24. SSW), sakkuläre Phase (24. SSW bis zur Geburt) und die alveoläre Phase (Geburt bis zum ca. achten Lebensjahr) (siehe Abbildung 1).

Die kanalikuläre Phase zeichnet sich durch die erstmalige Entstehung respiratorischer Einheiten aus. Das Parenchym besteht dabei aus Typ I und Typ II Pneumozyten. Der Gasaustausch wird postnatal durch die Typ I Pneumozyten gewährleistet, wohingegen die Typ II Pneumozyten für die Surfactant-Synthese und -Sekretion verantwortlich sind. Gebildete Surfactants werden in Lamellenkörpern gespeichert. Mit der 24. SSW bzw. der Beendigung der kanalikulären Phase lässt die strukturelle Lungenreife einen Gasaustausch

grundsätzlich zu. In der sakkulären Phase wird die Lunge zunehmend vaskularisiert, die Alveolarsepten dünnen aus und es bilden sich bis zum Termin ca. 20 Millionen terminale Sakkuli, die sich in der alveolären Phase zu reifen Alveolen ausdifferenzieren.

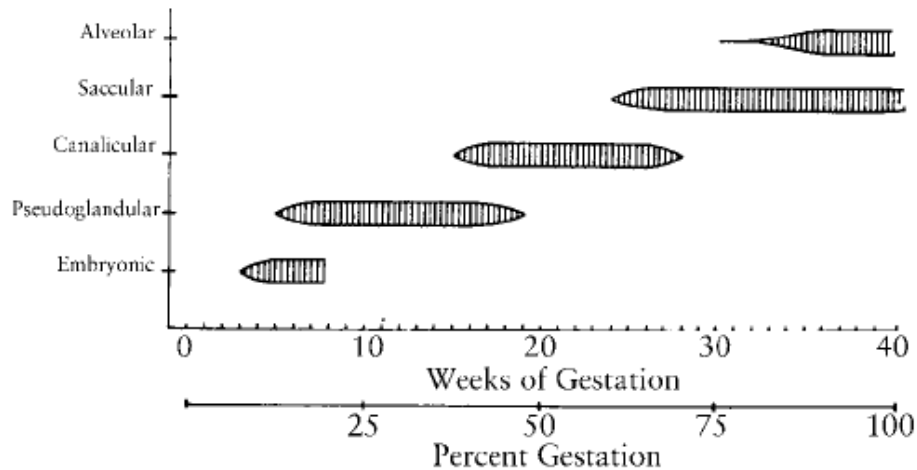


Abbildung 1: Schematische Darstellung der fetalen Lungenentwicklung

(Pringle, 1986).

Die Lungenreife wird durch zwei Komponenten vorangetrieben – strukturell und biochemisch. Die strukturelle Lungenreife (das Wachstum der Lunge) wird durch physiologische Faktoren reguliert. Zu diesen Faktoren gehören unter anderem der zur Verfügung stehende intrathorakale Raum, das Volumen und der Druck der fetalen Lungenflüssigkeit sowie das Fruchtwasser-Volumen. An der biochemischen Reifung sind Hormone mehrerer endokriner Organe beteiligt; Corticotropin (Hypophyse), Cortisol (Nebennieren), Schilddrüsenhormone (Schilddrüse) und andere (DiFiore und Wilson, 1994).

2.1.3 Das Atemnotsyndrom

Das RDS ist eine ursächlich durch Surfactantmangel bedingte akute pulmonale Erkrankung einer biochemisch, morphologisch und funktionell unreifen Lunge (Ragosch, 2004). Es tritt fast ausschließlich bei Frühgeburten unterhalb von

35 SSW auf, wobei mit abnehmendem Gestationsalter (GA) eine deutliche Zunahme zu verzeichnen ist (Ragosch, 2004).

Ungefähr 1% aller Geburten entwickeln ein RDS (Schneider und Helmer, 2011). Die Oxford-Vermont-Studie berichtet über eine Inzidenz von mehr als 80% bei Neonaten unter 26+0 SSW, zwischen der 29. und 30. SSW von 60% (Lucey et al., 1991). Die Inzidenz des RDS sinkt deutlich oberhalb von 34+0 SSW; dennoch ist sie höher als bei reifen Neonaten, die am regulären Termin geboren werden (Lewis et al., 1996).

Auch nach der 34. SSW werden viele Neonaten, häufig aufgrund eines RDS, auf die neonatologische Intensivstation aufgenommen (Wapner und Jobe, 2011).

Die Letalität des RDS liegt bei 20% und ist damit die Hauptursache für Sterblichkeit bei sehr unreifen Frühgeborenen (Schneider und Helmer, 2011).

Begleit- oder Folgeerkrankungen des RDS sind:

- a) IVH
- b) persistierender Ductus arteriosus
- c) Pneumothorax
- d) NEC
- e) bronchopulmonale Dysplasie (Schneider und Helmer, 2011).

Diese Erkrankungen sind verantwortlich für die hohe Wahrscheinlichkeit an einem RDS zu versterben (Schneider und Helmer, 2011).

Ätiologie und Pathogenese des RDS

Bei sehr unreifen Frühgeborenen ist davon auszugehen, dass die Ursache der Entstehung eines RDS in der noch nicht ausreichenden Synthese und Sekretion von Surfactant liegt (Ragosch, 2004). Surfactant wird in der Lunge während des dritten Trimenons exprimiert und bereitet den Feten auf das selbständige Atmen vor (Frank und Sosenko, 1987). Bis zur Geburt ist die Lunge mit Flüssigkeit gefüllt und leistet keine Atemarbeit (Hooper und Harding, 1995, Harding und Hooper, 1996).

Surfactant ist ein Gemisch aus Phospholipiden (90-95%), Proteinen und Kohlenhydraten, das in den Pneumozyten Typ II gebildet und sezerniert wird (Ragosch, 2004). Es bedeckt als einschichtiger Film die Alveolen. Es wirkt ähnlich wie ein Detergens (Scheid, 2005). Dadurch setzt es die

Oberflächenspannung in den Alveolen herab und verhindert, dass diese am Ende einer Expiration kollabieren (Atelektasen) (Ragosch, 2004). Besteht ein Mangel, wird deutlich mehr Atemarbeit während der Inspiration benötigt, um die atelektatischen Alveolen wieder zu öffnen. Atelektasen haben einen insuffizienten Gasaustausch zur Folge, was zur Hypoxämie führt, welche wiederum eine Konstriktion der Lungengefäße bedingt. Der erhöhte pulmonarterielle Druck ist ursächlich für einen pathologischen Rechts-Links-Shunt und es kommt zu einer Wiedereröffnung von Ductus arteriosus und Foramen ovale (Ragosch, 2004).

Klinik des RDS

Postnatal zeigen die Neonaten charakteristische Symptome wie Tachypnoe, Nasenflügeln, sternale und interkostale Einziehungen, expiratorisches Stöhnen und Zyanose (Schneider und Helmer, 2011). Die Blutgas-Analyse ergibt eine Hypoxämie und Hyperkapnie. In der Thoraxübersichtsaufnahme sind Atelektasen und eine verstärkte Zeichnung der Luftwege typisch. Als Differenzialdiagnosen müssen eine „wet lung“ (vor allem nach elektiver Sectio caesarea (S. c.)) und ein Pneumothorax in Erwägung gezogen werden (Schneider und Helmer, 2011).

2.1.4 Prävention des RDS durch antenatale GC-Gabe

Als Liggins 1969 Versuche an trächtigen Schafen mit Dexamethason durchführte, stieß er zum ersten Mal auf eine pulmonale Wirkung in frühgeborenen Lämmern, in deren Alter in der Regel keine Belüftung bzw. Entfaltung der Lungen möglich ist (Liggins, 1969).

Liggins und Howie haben 1972 mit ihrer Studie gezeigt, dass eine deutliche Reduzierung der Inzidenz des RDS bei frühgeborenen Neonaten durch präpartale GC-Gabe zu verzeichnen ist (Liggins und Howie, 1972).

Mit ihrer Hypothese, die Lungenreife sei durch Betamethason induzierbar, leiteten sie eine Wende in der Pränatalmedizin ein.

Seit Liggins und Howie wurden zahlreiche Studien veröffentlicht und belegten die oben genannte Wirkung. Roberts und Dalziel fassten in ihrer Arbeit von 2006 rückblickend 21 dieser Studien zusammen, die zwischen 1972 und 2002

publiziert wurden und sich mit der antenatalen GC-Wirkung beschäftigten (Roberts und Dalziel, 2006).

1994 haben die „National Institutes of Health“ in den USA eine Konferenz mit Experten aus verschiedenen Bereichen des medizinischen Sektors einberufen, um eine erste Leitlinie zur Induktion der Lungenreife mittels ACS-Gabe zu erarbeiten (NIH1994, 1995). In ihrem Ergebnisbericht ist festgehalten, dass nicht nur die RDS-Rate mit Hilfe von ACS vermindert werden kann, sondern auch die generelle Mortalität wie auch Morbidität. Zudem erkrankten weniger Neonaten an einer IVH. Das Geschlecht sowie die ethnische Zugehörigkeit haben keinen Einfluss auf die Wirkung. Der größte Effekt ist 24 h nach der Applikation zu erwarten, aber das Outcome der Neugeborenen lässt sich vermutlich auch innerhalb der ersten 24 h verbessern. Schwangere Frauen, denen zwischen der 24.-34. SSW eine Frühgeburt droht, sollten mit einigen Ausnahmen präpartal GC erhalten. Besonders betont wird, dass der medizinische Nutzen mit einer Kosteneinsparung im Gesundheitssystem einhergeht (NIH1994, 1995). Wapner und Jobe weisen daraufhin, dass die 34. SSW als obere Grenze gewählt wurde, um die Neonaten einzuschließen, in denen eine Lungenerkrankung zum Tode führen könnte (Wapner und Jobe, 2011). Grundsätzlich ist die Wahl jedoch unbegründet, denn auch Frühgeborene, die nach der 34. SSW geboren werden, leiden unter den Folgen eines RDS (Wapner und Jobe, 2011).

Roberts und Dalziel vermerkten 2006 in ihrer Publikation, einen positiven Effekt nicht nur im Bezug auf die Inzidenz der IVH und die neonatale Sterblichkeit, sondern auch auf das Auftreten einer NEC und einer systemischen Infektion in den ersten 48 h postpartum. Der Sauerstoff-Bedarf, das Benötigen einer mechanischen Ventilation, der Surfactant-Bedarf und Aufenthalte in der neonatologischen Intensivstation werden ebenfalls günstig beeinflusst (Roberts und Dalziel, 2006).

Für die Mutter besteht kein erhöhtes Risiko an einer Chorioamnitis oder Puerperalsepsis zu erkranken und die Mortalität in der Schwangerschaft steigt durch die Therapie nicht an. Es wird überdies die Gabe bei Frauen mit vorzeitigem Blasensprung und mit Bluthochdruck in der Schwangerschaft empfohlen (Roberts und Dalziel, 2006).

GC führen zur Verbesserung der Lungenfunktion durch Akzelerierung der:

-
- a) biochemischen Lungenreife durch Induktion von Enzymen in der Lunge, unter anderem erhöhte Surfactant-Synthese (Ballard und Ballard, 1995) und
 - b) strukturellen Entwicklung (Robertson, 1993).

ACS führen zu einer verminderten Dicke der Alveolarsepten, einer verminderten vaskulären Permeabilität und einer erhöhten Clearance der Lungenflüssigkeit (Ballard, 1986, Post und Smith, 1992). Dadurch verbessern GC die Lungenfunktion, die Compliance und das maximale Lungenvolumen (Ballard, 1986, Post und Smith, 1992).

Auf zellulärer Basis wirken die GC folgendermaßen (siehe Abbildung 2):

- 1) Freies GC dringt passiv in die Zelle ein und bindet an spezifische intrazelluläre Rezeptoren der fetalen Pneumozyten Typ II.
- 2) Es bildet sich ein Hormon-Rezeptor-Komplex, der an „glucocorticoid-responsive elements“ an der „deoxyribonucleic acid“ (DNA) im Zellkern bindet.
- 3) Die Transkription spezifischer Gene wird verstärkt und die gebildete „messenger ribonucleic acid“ (mRNA) bewirkt eine erhöhte Produktion von Enzymen.
- 4) Diese Enzyme stimulieren die Phospholipid-Synthese und damit die Surfactant-Synthese (Ballard, 1978, Walther et al., 1996, Polk et al., 1997).

Das Surfactant-System des Frühgeborenen leidet unter Mangel an Qualität und Quantität (Roberts und Dalziel, 2006). Gleichzeitig zum Surfactant-System entwickelt sich das Antioxidantien-System der Lunge. In frühgeborenen Neonaten erhöht das unreife Antioxidantien-System zusätzlich das Risiko für chronische Lungenerkrankungen (Roberts und Dalziel, 2006). In Untersuchungen an frühgeborenen Schafsfeten konnte das vermehrte Anreichern von Antioxidantien nach Betamethason-Gabe gezeigt werden (Walther et al., 1996).

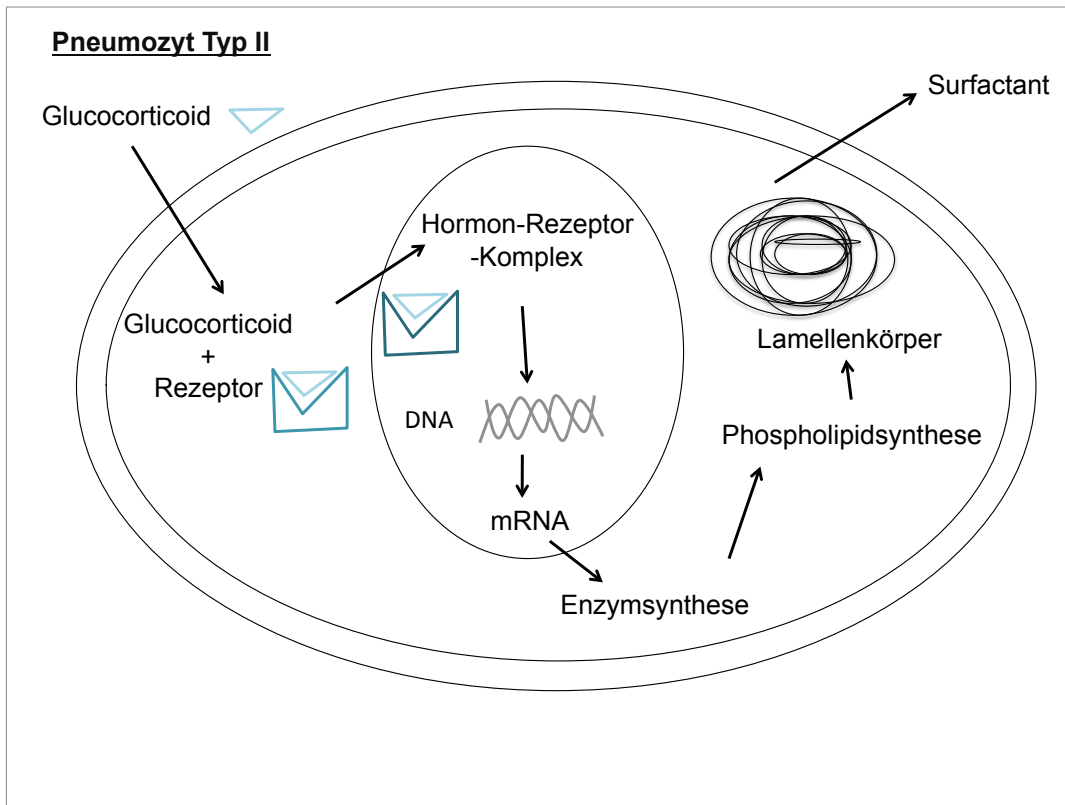


Abbildung 2: Die Wirkung der GC auf zellulärer Basis.

2.1.5 Wirkstoff und Anwendung

Bis heute wird die Anwendung von Dexamethason oder Betamethason empfohlen (NIH1994, 1995).

Zwei Schemata stehen zur Verfügung:

- 1) Betamethason, 2-mal 12 mg intramuskulär (i.m.) mit 24-h-Intervall,
- 2) Dexamethason, 4-mal 6 mg i.m. mit 12-h-Intervallen (Schneider und Helmer, 2011).

Betamethason ist in zwei chemischen Verbindungen erhältlich: Betamethason Natriumphosphat, das eine kurze biologische Halbwertszeit von 36-72 h hat und Betamethason-Acetat, welches eine relativ lange Halbwertszeit besitzt (Jobe und Soll, 2004, Katzung, 2004, NNF5, 2006). Beide Betamethason-Formen werden in der Regel in Kombination benutzt, um einen maximalen Effekt mit möglichst wenig Injektionen zu erreichen (NNF5, 2006). Dexamethason wird in der Regel als Dexamethason-Natriumphosphat verabreicht, das durch eine kurze biologische Halbwertszeit von 36-72 h

charakterisiert ist (Ballard und Ballard, 1995, Jobe und Soll, 2004, Katzung, 2004, NNF5, 2006). Beide Wirkstoffe sind in ihrer aktiven Form plazentagängig und in ihrer Effektivität vergleichbar (NNF5, 2006). Die chemische Formel von Betamethason und Dexamethason ist bis auf eine Methylgruppe in Position 16 gleich (Bar-Lev et al., 2004, NNF5, 2006). Beide Wirkstoffe sind fluorisiert und die mineralcorticoide Wirkung ist minimal (Wapner und Jobe, 2011).

Dennoch bleiben bis heute viele Fragen offen, welches GC und in welcher Dosis es verwendet werden soll (Wapner und Jobe, 2011). Die Datenlage aus experimentellen Studien lässt an der bisherigen GC-Behandlung Zweifel (Wapner und Jobe, 2011). Bisher wurden die benötigte Dosis und die optimalen zeitlichen Abstände zwischen den einzelnen Verabreichungen im Menschen noch nicht systematisch evaluiert (Wapner und Jobe, 2011). Jobe und Soll vermuten, dass die Dosierung zu hoch ist (Jobe und Soll, 2004). Wapner und Jobe meinen, dass eine fetale GC-Exposition möglicherweise vermeidbar ist (Wapner und Jobe, 2011).

Da bis heute nicht geklärt ist, welches die beste Substanz und Dosis ist, gibt es in den Krankenhäusern vermutlich unterschiedliche Behandlungsansätze (Brownfoot et al., 2008). Je nach Land werden entweder Betamethason oder Dexamethason bevorzugt verabreicht (Brownfoot et al., 2008). Einer der Gründe für die Präferenz könnte in einkommensschwachen Ländern der Kostenfaktor sein (Dexamethason ist günstiger als Betamethason) (Saengwaree und Liabsuetrakul, 2005, Henderson-Smart et al., 2007), aber auch die kontroverse Datenlage (Baud et al., 1999, Lee et al., 2006) und der Einfluss von Meinungsbildnern (Jobe und Soll, 2004) dürften eine Rolle spielen (Brownfoot et al., 2008).

2.1.6 Vergleich des klinischen Outcomes unter den beiden Substanzen

Der Vergleich des klinischen Outcomes unter den beiden Substanzen kann direkt oder indirekt (Studien, die je eine Substanz Placebo-kontrolliert untersuchen) erfolgen (Wapner und Jobe, 2011).

Brownfoot et al. analysierten im Rahmen der Cochrane Collaboration® die verschiedenen Behandlungsschemata in zehn Studien (1089 Frauen und 1161 Kinder) (Brownfoot et al., 2008); unter anderem die „Betacode Trial“ von Elimian

et al. (Elimian et al., 2007). Zusammenfassend beschreiben sie ein vermindertes Risiko für IVH unter Dexamethason im Vergleich zu Betamethason. Schwere Hirnblutungen treten unter beiden Substanzen gleich häufig auf. Im Bezug auf das RDS, die periventrikuläre Leukomalazie, die bronchopulmonale Dysplasie, den perinatalen Tod, das Geburtsgewicht < 2500 g und das durchschnittliche Geburtsgewicht konnten keine signifikanten Unterschiede verzeichnet werden (Brownfoot et al., 2008). Dies trifft auch auf das Auftreten einer neonatalen Sepsis, einer NEC, einer Retinopathie des Frühgeborenen und eines persistierenden Ductus arteriosus zu (Brownfoot et al., 2008). Der Apgar-Score nach 5 min, die Häufigkeit eines Apgar-Scores < 7 nach 5 min, die Größe des Kopfumfangs und der Gebrauch von Vasopressoren waren unter den beiden Substanzen nicht signifikant unterschiedlich (Brownfoot et al., 2008).

Die beiden GC verursachen vorübergehend verschiedene physiologische Reaktionen (z. B. Modifikation der Herzfrequenz und fetale Bewegungen), die aufgrund ihrer klinischen Irrelevanz und Kurzweiligkeit vernachlässigt werden können (Magee et al., 1997, Rotmensch et al., 1999, Subtil et al., 2003). Auch im indirekten Vergleich der Cochrane® Review von 2006 (Roberts und Dalziel, 2006) werden ähnliche Kurzzeit-Effekte unter den beiden Substanzen verzeichnet (Brownfoot et al., 2008).

In einer von Brownfoot et al. analysierten Studie wurden mehr Aufnahmen auf die neonatologische Intensivstation unter Dexamethason registriert (Subtil et al., 2003).

Es wird resümiert, dass keine der beiden Substanzen der anderen überlegen ist (Brownfoot et al., 2008). Zu diesem Ergebnis gelangen auch Wapner und Jobe (Wapner und Jobe, 2011). Lee et al. sprechen sich hingegen nach direktem Vergleich für die Applikation von Betamethason aus (Lee et al., 2008). Begründet durch ein besseres neurologisches Outcome und durch ein vermindertes Risiko unter einem eingeschränkten Hörvermögen zu leiden, wenn die Kinder Betamethason-exponiert waren (Lee et al., 2008).

Es werden demnach weiterhin Studien in der Zukunft gefordert, die eine optimale Therapie der Feten möglich machen. Die Dosis, der Zeitpunkt der Verabreichung, die Häufigkeit der Behandlung und die angewandten GC müssen weiterhin untersucht werden (Brownfoot et al., 2008).

2.1.7 Mehrfache Applikation/ „rescue therapy“

Die Behauptung, dass der positive Effekt exogener GC auf die Feten nur bis zu sieben Tagen nach Verabreichung anhält, wird in der Literatur häufig beschrieben (Roberts und Dalziel, 2006, Baud und Sola, 2007) und bis heute kontrovers diskutiert (Eventov-Friedman und Shinwell, 2008).

In Gewebekulturen konnte die Reversibilität der Effekte der GC gezeigt werden (Ballard und Ballard, 1995). Die Konzentration einiger Surfactant-Proteine sank in Gewebekulturen, wenn GC nicht länger vorhanden waren (Liley et al., 1989). Demzufolge können die GC-induzierten biochemischen Veränderungen des Surfactant-Systems rückgängig gemacht werden, wenn die GC entzogen werden (Ikegami et al., 1996b). In einem *in-vitro*-Modell von Vidaeff verminderte sich die mRNA eines der Surfactant-Proteine (die ursprünglich GC-induziert angestiegen ist) nach acht Tagen fast wieder auf das Ausgangsniveau (Vidaeff et al., 2004).

Allerdings muss beachtet werden, dass strukturelle Veränderungen erhalten bleiben (Polk et al., 1997). In der klinischen Studie von Vermillion et al. war das Outcome der Neugeborenen, die 8-14 d vor der Geburt Betamethason-exponiert waren, im Gegensatz zu denen, die innerhalb von sieben Tagen geboren wurden, nicht schlechter (Vermillion et al., 2001).

Aufgrund der Unklarheiten des Wirkungszeitraumes neigen Ärzte zu einer multiplen Behandlung, falls die Geburt nicht binnen sieben Tage eintritt (Baud und Sola, 2007). Eine Beobachtung in Australien zeigte, dass 85% der Ärzte zu einer mehrfachen Gabe bereit sind, in den Vereinigten Staaten von Amerika waren es mehr als 90% (Planer, 1996).

Allerdings wurde die wiederholte Gabe von ACS nicht ausreichend erforscht und die Folgen für die Mütter und Kinder sind unklar (NIH2000, 2001). Daten aus Tierexperimenten und Studien am Menschen werfen Fragen zur Sicherheit dieser Praxis auf, weshalb mehr Studien zu Langzeitergebnissen benötigt werden (Baud und Sola, 2007). Der Einfluss auf die neurologische Entwicklung steht häufig im Vordergrund. Die MRT-Studie von Modi et al. z. B. zeigte, dass Neugeborene, die mehrfach ACS ausgesetzt waren, eine verminderte Oberfläche des Gehirns und eine geringere Faltung des Cortex cerebri aufwiesen (Modi et al., 2001). Crowther und Harding kommen in einer

Cochrane® Review von 2007 zu dem Ergebnis, dass die von ihnen eruierte akute Verbesserung des pulmonalen Status die mehrfache Gabe durchaus rechtfertigt (Crowther und Harding, 2007).

Eine Alternative zur mehrfachen Verabreichung stellt die „rescue“ oder „salvage“ Therapie dar. Tritt die Geburt nicht innerhalb von 7-14 d nach einfacher Gabe ein, wird eine einmalige Wiederholung („rescue“) durchgeführt, sobald die Geburt bald zu beginnen scheint (Wapner und Jobe, 2011). Es wird postuliert, dass die „rescue“-Gabe vor der 33. SSW das Outcome der Frühgeborenen ohne kurzzeitige negative Effekte verbessert (Wapner und Jobe, 2011).

2.1.8 Mehrlings-Schwangerschaft

Unsicherheiten bestehen auch weiterhin, wenn eine Mehrlings-Schwangerschaft besteht. Die Effektivität von ACS in Zwillings-Schwangerschaften bleibt unklar (Wapner und Jobe, 2011).

Bis heute gibt es keine prospektiven Studien, die mehr Aufschluss über die ACS-Gabe in Mehrlings-Schwangerschaften geben (Wapner und Jobe, 2011). Alleine die Rate an Zwillings-Schwangerschaften hat in den letzten 30 Jahren um 65% zugenommen (Wapner und Jobe, 2011) und mehr als die Hälfte unter ihnen kommen frühgeburtlich zur Welt (Martin et al., 2003).

Roberts und Dalziel halten in ihrer Meta-Analyse fest, dass die Häufigkeit an RDS in Zwillingen nach GC-Applikation statistisch nicht signifikant reduziert werden kann (Roberts und Dalziel, 2006). Blickstein et al. berichten eine ähnlich große Reduzierung der Inzidenz des RDS in Einlings- und Mehrlings-Schwangerschaften, wenn sie mit einer Kontrollgruppe, die keine GC erhalten hatten, verglichen wurden (Blickstein et al., 2005). Allerdings nimmt der Effekt von ACS mit der Anzahl an Feten ab (Blickstein et al., 2005).

Uneinigkeiten gibt es auch bezüglich des Einflusses einer Mehrlings-Schwangerschaft auf die Pharmakokinetik der GC (Wapner und Jobe, 2011).

Wapner und Jobe sprechen sich dennoch für die ACS-Applikation in Mehrlings-Schwangerschaften aus und empfehlen das Behandlungsschema der Einlings-Schwangerschaften (Wapner und Jobe, 2011).

2.1.9 Auswirkungen einer ACS-Therapie auf die Entwicklung des Gehirns

Das Vorhandensein von GC (im Menschen Cortisol) ist Voraussetzung für die physiologische Entwicklung des Gehirns während der Schwangerschaft (Matthews, 2000).

GC sind an vielen Prozessen beteiligt (Matthews, 2000). Sie beeinflussen die subzelluläre Organisation, interneuronale Interaktionen und Wechselbeziehungen zwischen Neuronen und Neurogliazellen (Gould et al., 1991, Gould, 1994). Zudem regulieren sie die Genexpression neuronaler Adhäsionsmoleküle, wodurch die neuronale Kommunikation verbessert wird und die Synapsen stabilisiert werden (Eventov-Friedman und Shinwell, 2008). Der positive Effekt zeigt sich in Veränderungen der Synthese von anti- und pro-inflammatorischen Cytokinen sowie Antioxidantien, die die Penetration von Makrophagen durch die Blut-Hirn-Schranke beeinflussen. Die Proliferation und Aktivierung der Mikroglia und die Entwicklung bestimmter Hirnregionen werden gefördert (Eventov-Friedman und Shinwell, 2008).

Dennoch beschäftigen sich viele Forschungsgruppen mit der Frage, ob sich exogene GC in der Schwangerschaft ungünstig auf die Hirnentwicklung auswirken. Der Nachweis eines negativen Effektes der synthetischen GC ist jedoch schwierig, da eine Frühgeburt alleine bereits häufig zu Komplikationen führt (Baud und Sola, 2007). Frühgeborene, die die neonatale Phase überleben, leiden unter einem signifikant höheren Risiko auf lange Sicht neurologisch beeinträchtigt zu sein (Johnson et al., 1993, Saigal und Doyle, 2008).

Vor allem tierexperimentelle Studien lassen einen nachteiligen Effekt der exogenen GC auf die Entwicklung des Gehirns vermuten, wie z. B. eine Abnahme des Organgewichts (Jobe et al., 1998b) oder strukturelle Veränderungen des Organs (Uno et al., 1990). Langzeitergebnisse am Menschen konnten bisher hingegen keine Beeinträchtigungen der neuro-psychologischen und -motorischen Entwicklung nachweisen (MacArthur et al., 1981, MacArthur et al., 1982, Doyle et al., 1989, Schmand et al., 1990, Dalziel et al., 2005a).

Studien an verschiedenen Spezies lassen vermuten, dass ein erhöhtes Angebot an GC in kritischen Phasen der Entwicklung zu lebenslangen

Veränderungen im Verhalten und der neuroendokrinen Funktion führen (Matthews, 2000).

Unter anderem reagiert das limbische System (vorwiegend der Hippocampus) während der Entwicklung sehr empfindlich auf endogene und exogene GC (Weinstock, 1997, De Kloet et al., 1998, Takahashi, 1998). Der Hippocampus beeinflusst die Kognition, das Verhalten, das Gedächtnis, die Koordination autonomer Abläufe und die Regulation endokriner Systeme (Jacobson und Sapolsky, 1991, De Kloet et al., 1998, Beggs et al., 1999). Uno et al. untersuchten die Neurotoxizität von antenatal appliziertem Dexamethason in Rhesusaffen und entdeckten strukturelle Veränderungen des Hippocampus (Uno et al., 1990).

Eine andere Struktur, die vermutlich von ACS moduliert werden kann, ist die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHNA). Matthews postuliert, dass *in utero* applizierte synthetische GC in erwachsenen Tieren eine Hyperaktivität der HHNA verursachen (Matthews, 2000). Unter erhöhten GC-Spiegeln treten mit dem Alter assoziierte Erkrankungen vorzeitig ein, weshalb Matthews vermutet, dass die Gesundheit auf lange Sicht beeinflusst und der Alterungsprozess beschleunigt wird (Matthews, 2000). Muneoka et al. z. B. fanden in adulten Ratten, die ACS-exponiert waren, eine erhöhte GC-Ausschüttung in Stressreaktionen (Muneoka et al., 1997). Auch Uno et al. zeigten erhöhte Werte des basalen und stressinduzierten Cortisols in zehn Monate alten Primaten, die Dexamethason ausgesetzt waren (Uno et al., 1994). Die HHNA-Funktion wurde bisher jedoch nicht in ACS-behandelten Schulkindern oder Erwachsenen evaluiert (Matthews, 2000).

Auf die Wirkung der GC auf neurale Wachstumsfaktoren gehen Chouthai et al. ein (Chouthai et al., 2003). Sie untersuchten menschliches Nabelschnur-Blut auf die Konzentration von Neurotrophenen und beschreiben eine positive Beeinflussung der ACS (Chouthai et al., 2003). Neurale Wachstumsfaktoren spielen eine wichtige Rolle in der Entwicklung und im Wachstum des peripheren und zentralen Nervensystems spielen (Ernfors, 2001, McAllister, 2001). Möglich ist eine direkte Induktion der Wachstumsfaktoren durch ACS oder eine verstärkte Reifung der Neuronen, was wiederum zu einer erhöhten Konzentration an Wachstumsfaktoren führt (Chouthai et al., 2003). Unter

anderem wird das Auftreten von IVH mit niedrigen Wachstumsfaktorkonzentrationen in Verbindung gebracht (Chouthai et al., 2003).

Ein weiterer Effekt, mit dem ACS in Verbindung gebracht werden, ist die Reduktion des Risikos einer Schädigung der weißen Substanz, die einen Hauptrisikofaktor für die Entwicklung einer infantilen Zerebralparese darstellt (Leviton et al., 1988, O'Shea et al., 1998, Baud et al., 1999, Leviton et al., 1999, Baud et al., 2000). Davon profitieren vor allem Neonaten, die Hochrisikopatienten sind (Leviton et al., 1988). Neugeborene, die einer Entzündungsreaktion ausgesetzt sind, einen verminderten Thyroxin-Spiegel aufweisen (Leviton et al., 1988) oder Neonaten, bei deren Mütter es zu einem vorzeitigen Blasensprung kam (Elimian et al., 1999).

2.1.10 Wirkung der GC in anderen fetalen Geweben

Leber

Die Glykogen-Synthese und -Speicherung wird in der fetalen Leber beschleunigt (Ballard und Ballard, 1995). Gallenwege treten vorzeitig auf, das Abwandern der hämatopoetischen Stammzellen aus der Leber wird beschleunigt und es werden verstärkt Enzyme synthetisiert, die an den Stoffwechselprozessen des Organs beteiligt sind (Ballard und Ballard, 1995).

Nebennieren

ACS führen in der fetalen Nebennierenrinde zu einer erhöhten Sensitivität auf Adrenocorticotropin (Ballard und Ballard, 1995).

Durch Induktion der Phenylethanolamin-N-Methyltransferase steigt die Konzentration an Adrenalin. In frühgeborenen Tieren wird dadurch unter der Geburt eine reifere Stressreaktion ausgelöst. Die Auswirkungen auf die Reifung der Nebennieren könnten aufgrund der bekannten Wirkungen der Katecholamine (Beeinflussung der kardiovaskulären Durchblutung, der Glykogenolyse und der zitterfreien Thermogenese) für die Anpassung an das extrauterine Leben sehr bedeutend sein (Ballard und Ballard, 1995).

2.1.11 Langzeitergebnisse

Besonderes Interesse gilt den Langzeitergebnissen nach antenataler GC-Gabe. Im Fokus steht die neuro-psychologische und -motorische Entwicklung.

Einen hohen Stellenwert nimmt die Auckland Steroid Trial ein, die Betamethason als ACS einsetzte. Ursprünglich stammt das Patientenkollektiv aus den Untersuchungen von Liggins und Howie (Liggins und Howie, 1972).

MacArthur et al. führten nachfolgend an den Kindern im Alter von vier und sechs Jahren psychologische Tests durch (MacArthur et al., 1981, MacArthur et al., 1982). Den Schulerfolg und die Kognition betreffend, gab es keinen signifikanten Unterschied zu Kindern, deren Mütter keine ACS erhalten hatten (MacArthur et al., 1981, MacArthur et al., 1982).

Im durchschnittlichen Alter von 31 Jahren wurden erneut Daten der Patienten erhoben (Dalziel et al., 2005a, Dalziel et al., 2005b). Der neuropsychologische Status, die Kognition und die gesundheitsbezogene Lebensqualität waren im Erwachsenenalter von der ACS-Exposition unbeeinflusst (Dalziel et al., 2005a). Jedoch konnte eine erhöhte Prävalenz an Glukoseintoleranz registriert werden (Dalziel et al., 2005b). Das kardiovaskuläre Risiko war im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht erhöht (Dalziel et al., 2005b).

Crowley et al. vermuten, dass sich die postnatalen positiven Effekte der GC in einem verbesserten neurologischen Outcome widerspiegeln (Crowley et al., 1990).

Smolders-de Haas et al. führten Untersuchungen an zehn- bis zwölfjährigen Kindern durch (Smolders-de Haas et al., 1990). In den ersten Lebensjahren wurden die GC-exponierten Kinder im Vergleich zur Placebo-exponierten Gruppe aufgrund von Infektionskrankheiten häufiger stationär aufgenommen (Smolders-de Haas et al., 1990). In der motorischen und kognitiven Entwicklung konnten keine Unterschiede festgehalten werden (Schmand et al., 1990). Lernbehinderungen und Verhaltensauffälligkeiten waren in der Betamethason-Gruppe nicht vermehrt zu verzeichnen und die soziale sowie emotionale Funktionalität war nicht eingeschränkt (Schmand et al., 1990). Dessens et al. untersuchten die Patienten erneut auf physische und psychische Gesundheit im Alter von 20 bis 22 Jahren (Dessens et al., 2000). Auch diese Studie konnte keine nachteiligen Effekte einer einmaligen Betamethason-Gabe zur Prävention

des RDS aufzeigen (Dessens et al., 2000). Doyle et al. verfolgten extrem unreife Neonaten mit sehr niedrigem Geburtsgewicht, deren Mütter antenatal Betamethason oder keine Behandlung erhalten hatten, bis zu einem Alter von fünf Jahren (Doyle et al., 1989). Betamethason führte zu einem initialen Überlebensvorteil ohne Nachteile für die spätere Entwicklung. Chronische Erkrankungen traten bis zu einem Alter von fünf Jahren nicht vermehrt auf und die Kinder waren in ihrer neurologischen Entwicklung nicht häufiger beeinträchtigt (Doyle et al., 1989).

Eine Studie beobachtete Dexamethason-exponierte Kinder bis zu einem Alter von drei Jahren (Collaborative1984, 1984). Wachstum, körperliche Entwicklung und Motorik waren in dieser Gruppe im Vergleich zu den unbehandelten Kindern nicht eingeschränkt (Collaborative1984, 1984).

Bezüglich der Blutdruckentwicklung finden Doyle et al. im Jahr 2000 höhere systolische und diastolische Werte in Jugendlichen, deren Mütter ACS erhalten haben und vermuten, dass sich eine klinisch manifeste Hypertonie entwickeln könnte (Doyle et al., 2000). Dalziel et al. konnten 2004 hingegen in Sechsjährigen verglichen mit der Placebo-Gruppe keine Differenzen im Blutdruck verzeichnen (Dalziel et al., 2004).

Die überwiegend positiven Langzeitergebnisse (Roberts und Dalziel, 2006) zeigen, dass die GC-Gabe zur Induktion der Lungenreife durchaus gerechtfertigt ist. Loehle et al. weisen jedoch darauf hin, dass die Auckland Steroid Trial das Patientenkollektiv nur bis zu einem Alter von etwas mehr als 30 Jahren verfolgte (Loehle et al., 2010). Negative Folgen der antenatalen Therapie könnten jedoch möglicherweise erst im höheren Alter auftreten (Loehle et al., 2010).

2.1.12 Wirkung der ACS auf die Reifung der Lungen in Schafsfeten

1969 wurde der Einfluss der GC auf die Induktion der Lungenreife zum ersten Mal von Liggins in Schafsfeten beobachtet (Liggins, 1969). Liggins registrierte außerdem, dass Dexamethason einen vorzeitigen Geburtseintritt auslöste, wenn es direkt in die Lämmer appliziert wurde (0,06-4 mg/24 h). Wurde es den Muttertieren gegeben (4 mg/24 h), löste es keine Uteruskontraktionen aus.

100 mg Progesteron/24 h (mütterlich oder fetal verabreicht) konnte in seinen Versuchen die Dauer der Schwangerschaft nach Dexamthason-Behandlung nicht verlängern. Die Belüftung der Lungen in frühgeborenen Lämmern (117-123 d) führte er auf eine mögliche vorzeitige Produktion des Surfactants zurück. Auch die Histologie der Lungen zeigte, dass eine konstante Entfaltung der Alveolen vorhanden war (Liggins, 1969).

Bereits Howatt et al. und Reynolds et al. behaupteten, dass die Aufrechterhaltung der Alveolenentfaltung in Lämmern von einer ausreichenden Surfactant-Produktion abhängt (Howatt et al., 1965, Reynolds et al., 1965). In Lämmern, die zwischen 125 und 127 Schwangerschaftstagen untersucht wurden, kollabierten die Alveolen und die Lungen wurden nicht belüftet (Howatt et al., 1965, Reynolds et al., 1965, Brumley et al., 1967).

In Lämmern gibt es im Gegensatz zum Menschen nur vier Stadien der Lungenentwicklung (Alcorn et al., 1981) (im Menschen sind es fünf).

Die embryonale, pseudoglanduläre, kanalikuläre und alveoläre Phase. In der kanalikulären Phase nimmt das Lungenvolumen rapide zu und im letzten Stadium bilden sich Alveolen durch Unterteilung der zuvor gebildeten großen Endräume (Alcorn et al., 1981).

Die Differenzierung der Epithelien, die die Alveolen auskleiden, findet in den letzten beiden Stadien statt. Die Oberfläche der Alveolen vergrößert sich vor allem in der alveolären Phase. Auch die pulmonalen Kapillaren nehmen stark an Oberfläche zu. Kurz vor der Geburt ist die Lunge strukturell auf den postnatalen Gasaustausch vorbereitet (Alcorn et al., 1981). Kitterman et al. resümieren nach ihren Untersuchungen, dass die funktionelle Lungenreife zu einem relativ späten Stadium der Schwangerschaft erreicht wird (Kitterman et al., 1981). Endogenes Cortisol ist ein wichtiger physiologischer Faktor in der Beeinflussung der Lungenreifung (Kitterman et al., 1981).

Zur Erforschung der Wirkung und Folgen der ACS wurden seit Liggins' Versuchen von 1969 immer wieder Schafe hinzugezogen.

Die Forschungsgruppe um Jobe et al. wollten herausfinden, ob Cortisol (maternal oder fetal appliziert) verglichen mit Betamethason die Reifung der Lunge ebenso induziert und, ob durch die GC-Behandlung eine Wachstumsrestriktion ausgelöst wird (Jobe et al., 2003). Zudem interessierte sie der Einfluss von Medroxyprogesteronacetat (MPA) auf die Lungenreifung.

Wurde Betamethason maternal appliziert, verringerte sich das Geburtsgewicht um 16% und die Lungenreifung wurde induziert. Die maternale Verabreichung von Cortisol führte weder zur Induktion der Lungenreife noch zur Restriktion des Wachstums. Wurde Betamethason oder Cortisol den Feten gegeben, wurde lediglich die Lungenreifung ausgelöst (Jobe et al., 2003). Durch das MPA wurde die Lungenfunktion in den Kontroll-Tieren und den Betamethason-exponierten Lämmern nicht modifiziert (Jobe et al., 2003).

Es wird vermutet, dass Betamethason über unbekannte Effekte auf den maternalen Plazentaanteil zur Wachstumsrestriktion führt, da die mütterliche Behandlung mit Cortisol keinen Einfluss auf die Feten hatte (Jobe et al., 2003).

1996 evaluierten Jobe et al., wie sich eine Betamethason-Verabreichung auf die Feten auswirkt, wenn sie nach regulärer Schwangerschaftsdauer entbunden werden (Jobe et al., 1996). Im Vergleich zur Kontrollgruppe unterschieden sich die Betamethason-exponierten Lämmer postnatal nicht im pulmonalen, kardiovaskulären, renalen oder endokrinologischen Status und reagierten ähnlich auf leichten Sauerstoffmangel (Jobe et al., 1996).

Loehle et al. wollten mit ihren Versuchen herausfinden, ob die bisher verabreichte Dosis (2-mal 12 mg Betamethason i.m. mit 24-h-Intervall) zu hoch ist (Loehle et al., 2010). Sie untersuchten in frühgeborenen Lämmern Veränderungen *in vivo* in der pulmonalen Druck-Volumen-Kurve der Feten nach einer 48 h Exposition mit einer vollen, einer halben und einer viertel Dosis Betamethason. In allen drei Gruppen konnten nach 48 h keine Veränderungen des Geburts- und Organgewichts festgestellt werden. Die um die Hälfte reduzierte (an das Körpergewicht angepasste) Dosis Betamethason erreichte eine optimale fetale Druck-Volumen-Kurve der Lunge nach einer zu 75% abgeschlossenen Schwangerschaft. Die mRNA für Surfactantproteine und Elastin nahmen Dosis-abhängig zu. Die besten Ergebnisse konnten mit dem Kombinationspräparat Betamethason Natriumphosphat und Betamethason-Acetat erzielt werden (Loehle et al., 2010).

Des Weiteren wurde in Schafen der pulmonale Blutfluss untersucht (Crossley et al., 2009). Antenatal verabreichtes Betamethason erhöhte den fetalen pulmonalen Blutfluss signifikant, wobei der postnatale pulmonale Blutfluss fast keine Veränderungen aufweist (Crossley et al., 2009). Moss et al. gehen nach Versuchen an Schafen davon aus, dass die Lungenfunktion der frühgeborenen

Schafs feten verbessert wird, in dem eine Entzündungsreaktion (Mykoplasmen werden in das Fruchtwasser appliziert) die Surfactant-Produktion angeregt (Moss et al., 2009). Über welchen Mechanismus ACS die Lungenfunktion beeinflussen bleibt weiterhin unbekannt (Moss et al., 2009). Die Auswirkungen der GC (ins Fruchtwasser appliziertes Betamethason oder Budesonid, i.m. verabreichtes Betamethason) auf die Lungenstruktur in Schafen wurde von Polglase et al. evaluiert (Polglase et al., 2007). Die Lämmer wurden zwei oder sieben Tage nach Behandlung entbunden (nach 124 d). Die Morphologie des rechten oberen Lungenlappens wurde analysiert. Die in das Fruchtwasser applizierten GC führten zu durchschnittlich größerem Volumen der Alveolen im Vergleich zu den Kontroll-Lämmern. Sieben Tage nach der Behandlung verursachten alle GC ein Ausdünnen der Alveolarwände. Jeweils nach zwei und sieben Tagen konnte mit der Kontrollgruppe verglichen ein höherer Anteil der Ductus alveolares sowie dünnere Alveolarsepten gefunden werden. Die strukturellen Veränderungen korrelierten mit einer verbesserten Lungenfunktion nach zwei Tagen. Nach sieben Tagen wirkte sich zu den strukturellen Veränderungen auch eine vermehrte Surfactant-Produktion positiv auf die Lungenfunktion aus. So zeigten die i.m. Applikation von Betamethason und die Verabreichung ins Fruchtwasser ähnliche strukturelle Veränderungen (Polglase et al., 2007). Jobe et al. postulierte 1998 ebenfalls, dass die GC-induzierte erhöhte Surfactant-Synthese erst nach mehr als vier Tagen eintritt (Jobe et al., 1998a).

Willet et al. konnten nach Betamethason-Injektionen ins Fruchtwasser eine Zunahme des Volumens der Alveolen um durchschnittlich 20% und der Anzahl der Alveolen um fast 30% nachweisen (Willet et al., 2000). Die Wände der Alveolen wurden in der Betamethason-Gruppe signifikant dünner (Willet et al., 2000).

Nach i.m. Injektionen von Betamethason in die Mutterschafe war dies in den Untersuchungen von Schwab et al. im Schafs feten bereits nach einer Stunde nachweisbar (unabhängig von der Dosis oder Zusammensetzung des GC) (Schwab et al., 2006). Die höchste Konzentration im Blut des Lammes konnte nach drei Stunden nachgewiesen werden; nach acht Stunden war es nicht mehr im fetalen Blut nachweisbar (Schwab et al., 2006). Weiterhin wird postuliert, dass die bis heute verabreichte Dosis in der Geburtshilfe in

Schafs feten zu einer Zunahme des fetalen Blutdrucks führt und damit nachteilige kardiovaskuläre Effekte auslöst (Schwab et al., 2006). Ikegami et al. fanden heraus, dass GC bereits 8-15 h nach der Gabe die Lungenfunktion postnatal verbessern (Ikegami et al., 1996a).

Das Antioxidantien-System untersuchten Walther et al. in Schafen (Walther et al., 1996). Die positiven Effekte des Betamethasons auf Antioxidantien treten 24 h nach Exposition auf und bestehen bis zu sieben Tagen. Die Bildung von Lipidhydroperoxiden während der postpartalen Sauerstoff-Exposition ist vermindert (Walther et al., 1996).

2.2 Das Schaf in der feto-maternalen Forschung

Das Schaf stellt in der feto-maternalen Forschung ein beliebtes Tiermodell dar; es wurde bereits vielfach als Modell für die menschliche Schwangerschaft genutzt (Wedegartner et al., 2010, Dean et al., 2011, Keller-Wood et al., 2011, Sorensen et al., 2011). Die Muttertiere und ihre Feten tolerieren invasive Eingriffe, wie z. B. dauerhafte Katheterisierungen oder chirurgische Interventionen, sehr gut (Cudd, 2008). Dies ermöglicht eine Beobachtung des Schwangerschaftsverlaufes über längere Zeiträume. Aufgrund ihrer Robustheit wurden bereits vielfach physiologische Abläufe in Schafen genauer untersucht. Die Größenverhältnisse in Lämmern und menschlichen Feten sind bei bestehender Einlings-Schwangerschaft ähnlich. Im Schwangerschaftsabschnitt, der dem menschlichen dritten Trimenon entspricht, wiegen Schafs feten 0,85-4,5 kg. Lämmer wachsen in dieser Phase schnell, wodurch sich diese große Gewichtsschwankung erklären lässt. Die Muttertiere wiegen zwischen 50 und 75 kg. Die Gewichtsverhältnisse entsprechen damit ungefähr dem menschlichen Modell (Cudd, 2008). In der MRT stellen sich die Organe vergleichbar dar. Sie lassen sich leicht voneinander abgrenzen. Die Auswertung der MRT-Bilder ist im Vergleich zum Menschen nicht erschwert. Was den Einsatz der antenatalen GC-Therapie an Schafen betrifft, konnten zahlreiche Studien eine Induktion der Lungenreife zeigen. In Schafen wurde diese Wirkung zum ersten Mal entdeckt (Liggins, 1969). Aufgrund der genannten Vorteile ist die Spezies Schaf außerordentlich gut geeignet, um die pränatale GC-Gabe zu erforschen. Hinzu kommt, dass die Dosis der

antenatalen GC in Schafen und Menschen ähnlich ist. So lassen sich leichter Rückschlüsse auf die Wirkungen der GC im menschlichen Fetus ziehen.

2.3 Diffusions-gewichtete Bildgebung in der MRT

Moleküle sind durch Wechselbeziehungen mit ihrer Umgebung ständig in Bewegung (Brown und Semelka, 2003). In Geweben gibt es zwei Arten von Bewegungen der Moleküle. Zum einen kommt es zu Bewegungen durch Druckunterschiede (z. B. Blutfluss durch die Kontraktionen des Herzens), zum anderen existiert die Translationsbewegung auf relativ kleinem Raum. Eine der wichtigsten Translationen in biologischen Systemen ist die Diffusion. Diffusion kommt durch Konzentrationsunterschiede in zwei verschiedenen Kompartimenten zustande (z. B. an Zellmembranen). Sie wird auch als Brownsche Molekularbewegung bezeichnet, ist thermodynamischen Ursprungs und trägt zum Transport von Gasen und Nährstoffen zwischen Extrazellularraum und Zelle bei. Der Transport erfolgt entlang eines Konzentrationsgradienten von der großen zur kleinen Konzentration.

In reinen Lösungen wird die Diffusionsbewegung durch die Konstante D (Diffusionskoeffizient) charakterisiert. Der Diffusionskoeffizient wird in $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$ gemessen und beschreibt die Menge des Materials, die pro Zeiteinheit über die Membran transportiert wird (Brown und Semelka, 2003).

Mit Hilfe der DWI-Sequenzen der MRT kann die Brownsche Molekularbewegung von Wasser in Geweben gemessen werden. Vorteile der DWI sind, dass ohne Kontrastmittel qualitative und quantitative Informationen über das untersuchte Gewebe gewonnen werden können und die Untersuchungszeit der MRT nicht wesentlich verlängert wird (Battal et al., 2012).

Die Theorie, dass die Selbstdiffusion von Wasser mit Hilfe der MRT beobachtet werden kann, entwickelten 1954 Carr und Purcell (Carr und Purcell, 1954). Die Einführung der Pulsed-Gradient Spin-Echo-Sequenz in den späten 1960er Jahren durch Stejskal und Tanner erleichterte die Anwendbarkeit der Diffusionsmessungen (Stejskal und Tanner, 1965). Bis heute basieren fast alle der diffusionsgewichteten Bildgebungsverfahren auf ihrer Methode (Thoeny und De Keyzer, 2007).

1990 konnte durch den Einsatz der DWI der erste klinische Erfolg verzeichnet werden. Moseley et al. konnten mittels DWI in Katzen 30 min nach dem Beginn eines Schlaganfalls ischämische Hirnregionen nachweisen (Moseley et al., 1990), da die Diffusion in diesen Arealen vermindert ist. Um die Diffusion von Wassermolekülen messen zu können, wird die angewandte MRT-Sequenz um ein Gradientenschema erweitert, das die Sequenz für Diffusionsbewegungen sensibilisiert (Thoeny und De Keyzer, 2007). Sehr häufig wird die Stejskal-Tanner-Sequenz mit einer sehr schnellen „single-shot gradient-echo data collection sequence“ (Echoplanare Bildgebung („echoplanar imaging“ (EPI))) kombiniert.

Das Stejskal-Tanner Schema (siehe Abbildung 3) basiert auf zwei gleich großen Gradientenfeldern, die von einer 180° hochfrequenten elektromagnetischen Welle (HF-Puls) unterbrochen werden (Thoeny und De Keyzer, 2007).

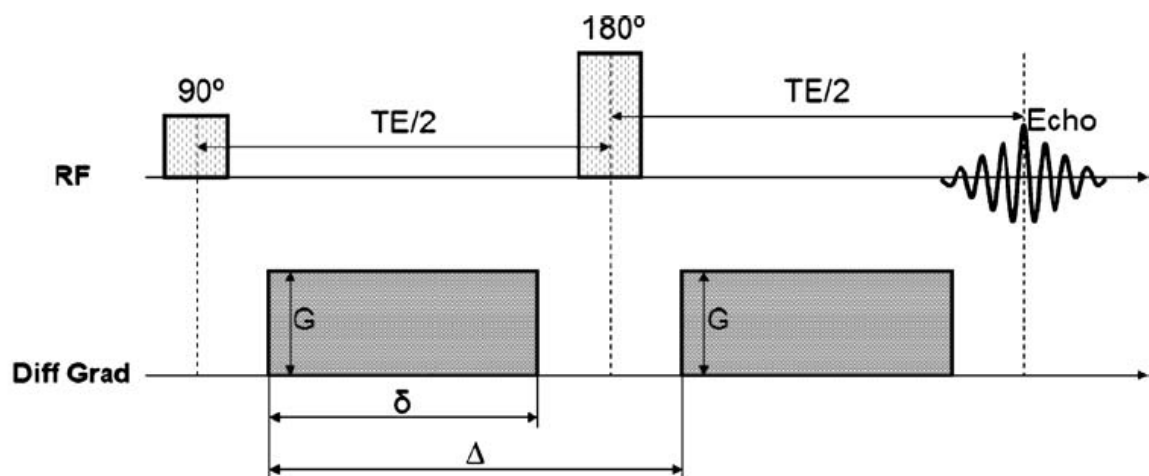


Abbildung 3: Stejskal-Tanner Gradienten-Schema.

Stejskal-Tanner Gradienten-Schema zur Sensibilisierung der MRT-Sequenz für Diffusionsbewegungen (Thoeny und De Keyzer, 2007).

γ : Gyromagnetische Konstante

G : Amplitude des Gradientenfeldes

δ : Dauer des Gradientenfeldes während der Diffusionswichtung

Δ : Zeit zwischen den beiden Gradientenfeldern

Ortsfeste Protonen werden anfangs durch den 90° HF-Puls in eine phasengleiche Rotation gebracht (siehe Abbildung 4) (Thoeny und De Keyzer, 2007). Das zuerst applizierte Gradientenfeld bewirkt, dass die rotierenden Protonen außer Phase geraten („dephasing gradient“) (Battal et al., 2012). Der 180° HF-Puls verursacht eine Kippung der Rotationsachsen der Protonen um 180° (Thoeny und De Keyzer, 2007). Durch das zweite Gradientenfeld werden die Protonen wieder in Phase gebracht („rephasing gradient“), falls in der Zwischenzeit keine Diffusionsbewegung der Wassermoleküle stattgefunden hat (Battal et al., 2012). Haben sich die Wassermoleküle bewegt, können sie durch den zweiten Gradienten nicht mehr komplett in Phase gebracht werden (siehe Abbildung 4) (Battal et al., 2012).

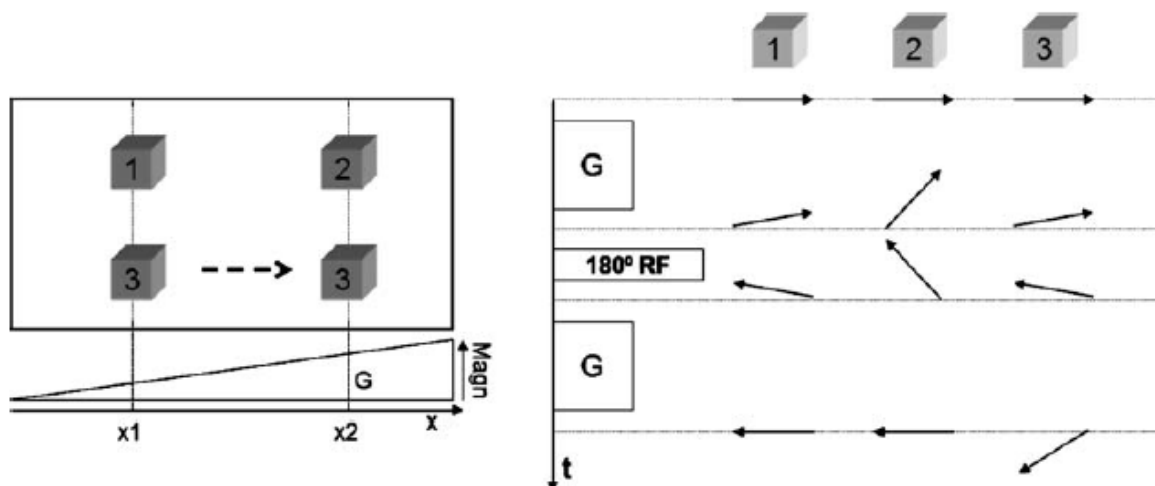


Abbildung 4: Effekte auf ortsfeste und sich bewegende Protonen.

Unterschiedliche Effekte des Gradienten-Schemas auf ortsfeste und sich bewegende Protonen (Thoeny und De Keyzer, 2007). Würfel 1 und Würfel 2 befinden sich an verschiedenen Ausgangspositionen, x_1 und x_2 , bleiben im Beobachtungszeitraum jedoch ortsfest und befinden sich am Ende wieder in Phase. Würfel 3 bewegt sich in der Zeit von x_1 zu x_2 und gerät am Ende des zweiten Gradientenfeldes außer Phase.

Dies führt zu einem Signalverlust (Thoeny und De Keyzer, 2007). Je größer die Bewegung der Moleküle, desto größer ist die Abschwächung des Signals. Zudem wird der Signalverlust proportional von der Stärke des Gradientenfeldes beeinflusst (Thoeny und De Keyzer, 2007).

Die Sensitivität des MRT-Signals auf Diffusionsbewegungen wird in der DWI als b-Wert ($s\text{ mm}^{-2}$) bezeichnet (Brown und Semelka, 2003). Durch diesen b-Wert wird eine DWI-Sequenz definiert (Battal et al., 2012).

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta / 3)$$

(Thoeny und De Keyzer, 2007)

Die Stärke der Diffusion wird durch den Diffusionskoeffizienten definiert (Battal et al., 2012). Die Diffusionsmessungen *in vivo* werden von mehreren Faktoren beeinflusst, weshalb im klinischen Gebrauch vom ADC gesprochen wird (Le Bihan et al., 1986, Demir et al., 2007, Taouli und Koh, 2010).

Die ADC-Werte sind proportional zur Wasserdiffusion in einem Voxel und spiegeln die Zusammensetzung der Gewebe wider (Le Bihan et al., 1988, Pekar et al., 1992). Zur Quantifizierung werden die ADC-Werte aus den Daten der Signalintensitäten der DWI-Sequenzen nach folgender Formel berechnet:

$$S_i = S_0 \exp(-b_i \text{ADC})$$

S_i : Signalintensität für b_i

S_0 : Signalintensität für $b = 0\text{ s mm}^{-2}$

(Thoeny und De Keyzer, 2007)

Zur Berechnung der ADC-Werte aus jedem Pixel werden Bilder mit unterschiedlichen b-Werten benötigt (Battal et al., 2012). Regionen mit eingeschränkter Diffusion erscheinen als niedrige Intensitäten in den ADC-Maps; umgekehrt verhält es sich für Regionen mit starker Diffusion. Beachtet werden muss, dass alle Moleküle, die sich bewegen, in den Messungen erfasst werden (Thoeny und De Keyzer, 2007).

Die Diffusion im extrazellulären und -vaskulären Raum sowie auf zellulärer Ebene und die intravaskuläre Perfusion tragen zu den errechneten ADC-Werten bei. Die DWI liefert gleichzeitig Informationen über die Diffusionseigenschaften und die Perfusion eines Organs (Thoeny und De Keyzer, 2007). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Wahl der b-Werte den Einfluss je einer der beiden Merkmale verstärken kann (Le Bihan et al., 1988, Neil und Ackerman, 1992). Werden niedrige b-Werte

($b < 100\text{-}150\text{ s mm}^{-2}$) verwendet, hat die Perfusion des Organs den stärkeren Einfluss auf die ADC-Werte (Padhani et al., 2009, Thoeny und Ross, 2010). Hohe b-Werte führen zur Erfassung langsamerer Bewegungen wie die

Brownsche Molekularbewegung von extra- und intrazellulären Molekülen und den Transport über die Zellmembranen (Mardor et al., 2003).

Ein weiterer wichtiger Faktor in der diffusionsgewichteten Bildgebung, ist die Bildsequenz, die als Basis verwendet wird (Thoeny und De Keyzer, 2007). Theoretisch könnte jede Sequenz mit bipolaren Gradientenfeldern kombiniert werden, um die Diffusion von Wassermolekülen beobachten zu können. Heutzutage werden aus Zeitgründen vorwiegend Single-Shot-Sequenzen eingesetzt. Die am häufigsten angewandte Sequenz ist die EPI, die als schnelle Gradientenecho-Sequenz auch Probleme mit sich bringt. Die Anfälligkeit für Bewegungsartefakte ist hoch und die magnetische Suszeptibilität spielt eine Rolle, wenn der Anteil an Luft-Gewebe-Grenzen hoch ist (Thoeny und De Keyzer, 2007).

Im klinischen Gebrauch wird die DWI auch heute noch hauptsächlich zur Schlaganfall-Diagnostik eingesetzt. Die schlechte Reproduzierbarkeit der ADC-Werte, die relativ schlechte Bildqualität durch niedrige Signal-Rausch-Verhältnisse, die eingeschränkte räumliche Auflösung und die Anfälligkeit für Artefakte der EPI limitieren die klinische Einsetzbarkeit der DWI (Koh und Collins, 2007, Colagrande et al., 2008, Taouli und Koh, 2010). Dennoch wurde die DWI in den letzten Jahren zunehmend auch zur Untersuchung anderer Organe eingesetzt (Thoeny und De Keyzer, 2007).

Die DWI eignet sich zur funktionellen Untersuchung von Organen, zur Gewebecharakterisierung und Therapiekontrolle (Thoeny und De Keyzer, 2007). Anhand der DWI wurden bisher z. B. Speicheldrüsen, Nieren und das Pankreas funktionell untersucht (Thoeny und De Keyzer, 2007).

Häufig steht im klinischen Alltag die Differenzierung zwischen malignem und benignem Gewebe im Vordergrund. In der DWI kann der gesamte Tumor abgebildet werden und im Gegensatz zur Gewebe-Biopsie ist die Untersuchung non-invasiv (Thoeny und De Keyzer, 2007). Gewebepathologien können bereits in einem sehr frühen Stadium detektiert werden (Wheeler-Kingshott et al., 2000). Die Option der Gewebecharakterisierung wurde bisher in der Diagnostik von Erkrankungen (unter anderem auch Tumorerkrankungen) der Speicheldrüsen, der Leber, der weiblichen Brust, der Lymphknoten, des Mittelohrs, der Prostata und der Wirbelkörper genutzt (Thoeny und De Keyzer, 2007). In der Onkologie gibt es Studien, in denen die DWI zur Therapiekontrolle

eingesetzt wird. Im Rahmen einer Bestrahlungs- oder Chemotherapie könnten Therapieerfolge und -misserfolge mit Hilfe der DWI eventuell frühzeitig erkannt werden (Thoeny und De Keyzer, 2007). Eine frühe Änderung der Behandlung wäre möglich, wodurch bei Versagen der Therapie eine mögliche Toxizität reduziert werden könnte (Thoeny und De Keyzer, 2007).

In der Vergangenheit wurde die DWI bereits in Studien eingesetzt, um den Status der fetalen Lungenreife zu beurteilen. Im Prozess der Lungenreifung dünnen die Alveolarsepten aus, das maximale Lungenvolumen nimmt zu und die Vaskularisierung wird verbessert (DiFiore und Wilson, 1994). Hypothetisch wird dadurch die Diffusionsleistung der fetalen Lungen verändert. Bisher gibt es noch keine eindeutigen Ergebnisse, ob sich die DWI zur Überprüfung der Lungenreife eignet. Es gibt Forschungsgruppen, die eine Korrelation zwischen dem GA und der Höhe der ADC-Werte feststellen konnten; andere konnten dies nicht bestätigen (Moore et al., 2001, Balassy et al., 2008, Manganaro et al., 2008, Cannie et al., 2009).

3. Material und Methoden

3.1 Ethikvotum und Versuchstiere

3.1.1 Zustimmung der Ethikkommission

Der Tierversuchsversuchsantrag für die geplanten MRT-Untersuchungen an 13 trächtigen Schafen wurde von der lokalen Ethikkommission überprüft und die Studie wurde genehmigt. Die verantwortliche Tierärztin war im Antrag an die Ethikkommission vermerkt.

3.1.2 Versuchstiere

Die trächtigen Schafe wurden in der, an das Universitätsklinikum-Eppendorf (UKE) angeschlossenen, Versuchstierhaltung von den dort beschäftigten

Tierpflegern und -ärzten betreut. Die Trächtigkeit wurde mit einem Ultraschallgerät (Logiq 9, GE, General Electric Company, Milwaukee, WI, USA) am 30.-45. Schwangerschaftstag verifiziert und zwei bis drei Wochen später erneut kontrolliert. Regelmäßig wurde das Gewicht der trächtigen Tiere erfasst.

3.2 Versuchsaufbau

3.2.1 Messtage und GA

Die Untersuchungen wurden im Januar 2011 aufgenommen und im Juni 2011 abgeschlossen. Die Schafe wurden an jeweils zwei Tagen im MRT untersucht (zwei Messtage pro Schaf). Jedes Schaf erhielt eine Baseline-MRT-Untersuchung und in einem Abstand von 5-9 d eine Follow-Up-MRT-Untersuchung. Das GA der Feten war 111-126 d bei einer durchschnittlichen Schwangerschaftsdauer von 145 d. Die Schafe wurden in zwei Untersuchungsgruppen aufgeteilt; sechs Schafe erhielten die GC-Behandlung und sieben Schafe bildeten die Kontrollgruppe (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Anzahl der Schafsfeten in den beiden Untersuchungsgruppen.

| | |
|----------------|----|
| GC-Gruppe | 6 |
| Kontrollgruppe | 7 |
| Gesamt | 13 |

3.2.2 GC-Applikation und Kontrolltiere

Die trächtigen Schafe mit Einlings-Schwangerschaften wurden per Zufallsprinzip in die GC-Gruppe (n = 6) und die Kontrollgruppe (n = 7) eingeteilt. Die sechs Tiere der GC-Gruppe erhielten 2 i.m. Injektionen mit je 6 mg Dexamethason (Fortecortin[®] Inject 8 mg, Merck Serono GmbH, Darmstadt, Deutschland) in die Oberschenkelmuskulatur 24 h und 12 h vor der Baseline-MRT-Untersuchung. Um einen GC-induzierten Abort zu verhindern, wurde den Schafen in der GC-Gruppe mit der ersten Dexamethason-Dosis

300 mg MPA (Depo-Clinovir, 150 mg/1 ml Fertigspritze Medroxyprogesteronacetat, Parmacia GmbH/ Pfizer Pharma GmbH, Berlin, Deutschland) in die kontralaterale Oberschenkelmuskulatur appliziert (die ersten beiden GC-behandelten Schafe erhielten kein Progesteron und mussten aufgrund eines GC-induzierten Aborts von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen werden). Die Follow-Up-MRT-Untersuchung fand 5 d (n = 3) oder 9 d (n = 1) nach der ersten Dexamethason-Dosis statt.

Die sieben Schafe der Kontrollgruppe erhielten keine GC-Behandlung. Das GA der Kontroll-Tiere war vergleichbar mit dem der GC-Gruppe. Jedes Tier der Kontrollgruppe (n = 7) erhielt eine Baseline-MRT-Untersuchung und vier Tiere konnten ähnlich wie in der GC-Gruppe einer Follow-Up-MRT-Untersuchung unterzogen werden.

3.3 Versuchsdurchführung

3.3.1 Versuchsablauf

Pro Schaf wurden zwei MRT-Untersuchungen angestrebt: 1) Baseline-MRT-Untersuchung, 2) Follow-Up-MRT-Untersuchung.

Zur Vorbereitung auf die Untersuchungen und die damit verbundene Narkose wurden die Schafe für 24-36 h von den Tierpflegern nüchtern gestellt, um das Aspirationsrisiko während der Versuche zu senken. Am Untersuchungstag wurden die Schafe im Stall der Versuchstierhaltung aufgesucht. Zunächst wurden die Schafe sedativ mit 0,01 ml/kg KG i.m. Xylazin(hydrochlorid) (Sedaxylan, 20 mg/ml Xylazin(hydrochlorid), Eurovet Animal Health B.V., AE Bladel, Niederlande) im Stall prämediziert. In einer mobilen Box wurden die Tiere aus dem Stall zum Operationssaal der Tierhaltung transportiert. Sobald klinische Anzeichen der Sedierung (unsicherer Stand, vermehrter Speichelfluss und zunehmend ruhigeres Verhalten) zu erkennen waren, wurden die Schafe aus der Box geholt und in Seitenlage gebracht. An den ruhigen Tieren wurden die Außenseiten der Ohren mit einem Rasierer freigeschoren und, wenn möglich, wurde nach Desinfektion (F Bode Cutasept[®], Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland) ein peripher-venöser Zugang (Vasofix[®] Braunüle[®],

B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) in die mediale oder laterale Ohrtrandvene gelegt. War dies nicht möglich, wurde der Hals ebenfalls freigeschoren und desinfiziert (Bode Sterilium[®], Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland), um einen zentralen Venenkatheter anzulegen (Certofix[®] Mono S320, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Anschließend (ca. 10-15 min nach Applikation des Xylazins) wurden über den venösen Zugang 10 ml Diazepam (Diazepam ratiopharm[®], 10 mg/2 ml Injektionslösung, ratiopharm GmbH, Deutschland) und 2-4 ml Ketaminhydrochlorid (Ketamin Gräub, 100 mg/ml Ketaminhydrochlorid, aniMedica GmbH, Senden-Bösensell, Deutschland) zur Narkoseeinleitung injiziert. Später konnte nach Bedarf des Tieres Ketamin nachgegeben werden (bis zu 3 ml). Das System wurde mit 2 ml Kochsalzlösung (Isotone NaCl Lösung 0,9% Braun intravenös (i.v.) und subkutan, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gespült. Das Tier wurde in Rückenlage per Laryngoskop unter Sicht intubiert (Hi-LoLanz[™] Trachealtubus, Größe 8,5 mm, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland) und es wurde ein Atemfilter (Pall-Ultipor[®], Pall medical Pall Int.Sàrl, Fribourg, Schweiz) auf den Tubus gesetzt. Zur Intubationskontrolle wurde der Thorax manuell komprimiert und das dadurch provozierte Entweichen der Ausatemluft über den Atemfilter überprüft. Anschließend wurde das Tier über den Atemfilter an das vorhandene Narkosegerät (Romulus 800 V, Drägerwerk AG, Lübeck, Deutschland) im Operationssaal angeschlossen. Das Schaf erhielt reinen Sauerstoff im Durchfluss von 2 l/min. Zudem wurde auf die Anzeige des Atemzugvolumens (AZV) am Narkosegerät geachtet. War die Spontanatmung aus eigenem Antrieb nicht ausreichend (AZV < 500 ml/Atemzug, Atemminutenvolumen (AMV) < 5 l/min, < 8-12 Atemzüge/min) oder sistierte die Atmung, wurde das Tier zusätzlich bebeutelnt. Parallel wurde der Bauch des Schafes desinfiziert (Bode Sterilium[®], Bode Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland) und freigeschoren, um mittels Ultraschall (Logiq 9, GE, General Electric Company, Milwaukee, WI, USA) zu kontrollieren, ob der Schaffetus zu gegebenem Zeitpunkt lebendig war. Eine vorhandene fetale Herzaktion galt als ausreichend. Zum Schutz der Augen wurde eine Augensalbe (Bepanthen[®] Augen- und Nasensalbe, 5% Dexpanthenol, Bayer Vital GmbH, Hamburg, Deutschland) appliziert. Das Schaf wurde vom Narkosegerät abgenommen und in einem Kraftfahrzeug an einen direkten Zugang zu den MRT-Geräten der

Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie des UKE transportiert. War die Eigenatmung nicht ausreichend, wurde die Atmung mit einem Ambu-Beutel unterstützt.

Das Schaf wurde auf der Trage des MRT-Geräts in Seitenlage positioniert (siehe Abbildung 5) und sofort an ein Narkosegerät (Tiberius, Drägerwerk AG, Lübeck, Deutschland) angeschlossen (im Schaltraum vor dem Untersuchungsraum). Beatmungsrohre und -schläuche stellten die Verbindung zum Mutterschaf im Untersuchungsraum her. Es wurde (nach Bedarf) mit 1,6-3 l/min Sauerstoff mit einem Anteil von 1,5-3% des volatilen Anästhetikums Isofluran (Forene[®], 100% (V/V), 250 ml, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Deutschland) zur Vertiefung und Aufrechterhaltung der Narkose beatmet. Die 16-Kanal-Arrayspule des MRTs wurde zur Signaldetektion an das Mutterschaf angelegt (siehe Abbildung 5). Um Artefakte während der Bildgebung durch die Atemexkursionen der Tiere auszuschließen, wurde zur Atemtriggerung ein Atemsensor angebracht. Die Vorder- und Hinterbeine des Schafes wurden mit einem Pflaster-Klebeband (Durapore[™], 3M Health Care, Neuss, Deutschland) in anatomisch optimaler Position am Körper fixiert. Dadurch wurden Komplikationen beim späteren Aufstehen nach der Untersuchung vermindert. In die Ohren wurden Zellstoff-Tupfer (Pur-Zellin[®], Zellstoff-Tupfer, Paul Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland) gelegt. Der Kopf wurde so gelagert, dass die Schnauze tiefer lag (Aspirationsschutz). An den venösen Zugang wurden über ein Infusionsbesteck (Intrafix[®] Primeline, 15 µm 20 ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) über den Zeitraum der Untersuchung je nach Bedarf 100 ml Aminopaed (Aminopaed 10% Infusionslösung, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) und 500-1000 ml Glucose (Glucose 5% B. Braun Infusionslösung zur i.v. Anwendung, 50 mg Glucose Monohydrat/1 ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) oder 500 ml Kochsalzlösung (Isotone NaCl Lösung 0,9% Braun i.v. und subkutan, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) zur Hydratation verabreicht (siehe Abbildung 5). Das verwendete Material war MRT-kompatibel. Der Wachheitsgrad des Schafes wurde mittels Auslösbarkeit des Lidreflexes und mittels Kontrolle der Druckkurve (Beatmungsdruck) am Beatmungsgerät (negativer Druck bei Gegenatmung) überprüft. In einigen Fällen musste die Narkose mit bis zu 10 ml Diazepam vertieft werden. Erhöhungen des Isofluran-

Anteils wurden aufgrund der Nebenwirkungen (unter anderem Übelkeit) gemieden. Aus dem Schaltraum war es möglich das Tier zu observieren. Zwischen den einzelnen MRT-Sequenzen wurde das Wohlbefinden der Tiere überprüft. Komplikationen, wie der Austritt von Pansensaft oder Fruchtwasserverlust, wurden frühzeitig registriert.

Das AZV (registrierte Werte: 650-800 ml/Atemzug) und das AMV (registrierte Werte: 6,5-8,5 l/min) wurden ebenfalls dauerhaft am Narkosegerät kontrolliert und dokumentiert. 2 min vor Ende der MRT-Untersuchungen wurde die Isofluran-Zufuhr zur Narkoseausleitung abgestellt. Die Tiere wurden weiterhin mit Sauerstoff versorgt. Nach Beendigung der MRT-Sequenzen wurden die Tiere in Bauchlage gebracht. Die Fixation der Extremitäten und die Ohrtupfer wurden entfernt. Die venöse Infusion wurde vorerst belassen.

Das Beatmungssystem wurde mit Sauerstoff gespült, um Isofluran zu eliminieren und die Aufwachphase zu beschleunigen. Trat nach 5-10 min keine Spontanatmung ein, wurde die Sauerstoff-Zufuhr unterbunden. Waren nach 10 min keine Atembewegungen zu verzeichnen (AZV-Anzeige am Narkosegerät), wurde erneut mit Sauerstoff beatmet. Atmeten die Tiere kontinuierlich über 2-3 min, erreichten durch ihre Atemarbeit ein AMV von mindestens 2 l/min und waren in einem klinisch entsprechenden Zustand (Schluck- und Lidreflex vorhanden), wurden die Tiere extubiert. Die Infusion wurde unterbrochen, das Lumen der Venenverweilkanüle oder des zentralen Venenkatheters verschlossen (Vasofix[®] Mandrin, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland bzw. Combi-Stopper-Verschlussknoten, B. Braun Melsungen AG, Melsungen Deutschland). Die durchschnittliche Aufwachzeit nach Abstellung des Narkosegases betrug 15-25 min. Das Tier wurde unter Beobachtung zurück zum Stall transportiert und in den Stall gelegt. Der venöse Zugang wurde gezogen. Die Punktionsstelle wurde bis zum Sistieren der Blutung manuell komprimiert. Das Tier wurde unter einer Infrarot Wärmelampe positioniert und es wurde Heu zur Nahrungszufuhr angeboten. Der klinische Zustand wurde abschließend von der Tierärztin kontrolliert. In gutem Allgemeinzustand war das Mutterschaf, wenn es aufstehen konnte und gefressen hat.

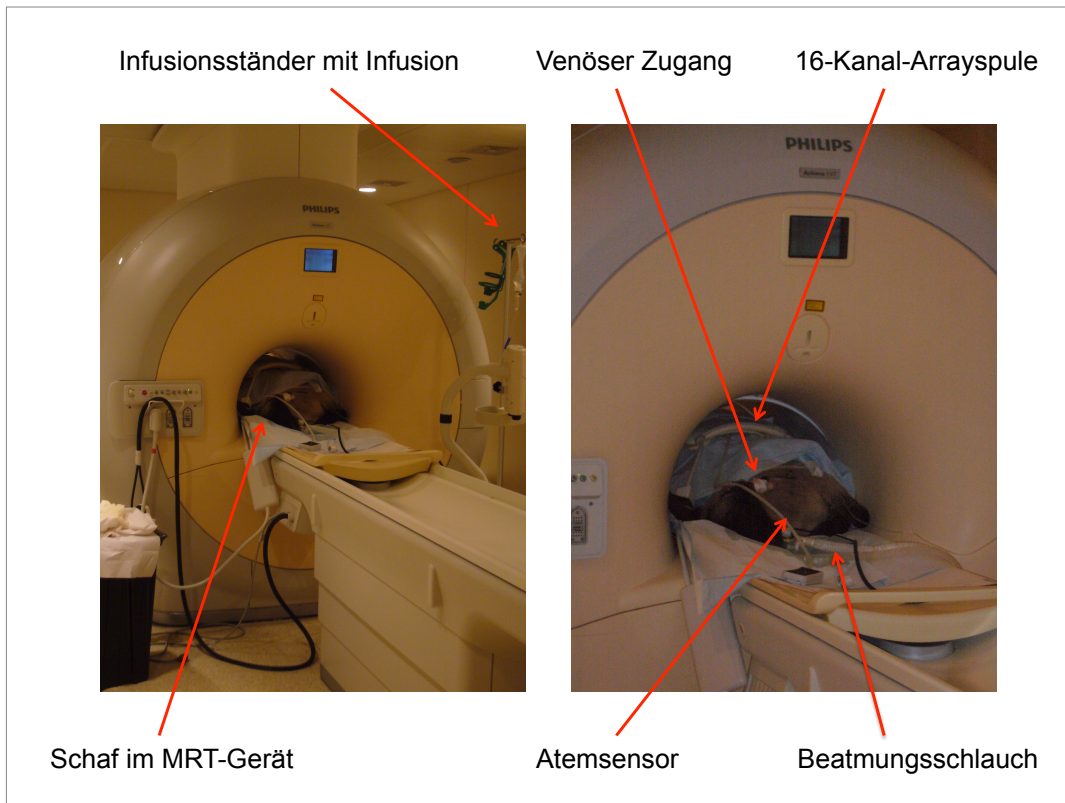


Abbildung 5: Schaf im MRT-Gerät. Die Abbildung zeigt die Instrumentierung des Muttertieres zur komplikationslosen Durchführung der MRT-Studien in Allgemeinanästhesie.

3.3.2 MRT Protokoll

Die Bildgebung wurde an einem 1,5 Tesla Magnetresonanztomographen (Achieva®, Philips Medical Systems, Eindhoven, Niederlande) mit einer 16-Kanal-Arrayspeule zur Signaldetektion durchgeführt. Die MRT-Untersuchungen wurden von zwei Radiologen mit zwei und drei Jahren Erfahrung ausgeführt. Zur allgemeinen Orientierung wurde eine atemgetriggerte T2-gewichtete Multishot Multislice Turbo-Spinecho (T2 TSE) Sequenz in sagittaler (siehe Abbildung 6), koronarer und axialer Orientierung akquiriert (Repetitionszeit („repetition time“ (TR)): 5000 ms; Echozeit („echo time“ (TE)): 90 ms; Voxelgröße: 1,68 x 2,47 x 5 mm³; Schichtdicke: 5 mm; Bildfeld („field of view“ (FOV)): 430 mm x 363 mm; Dauer der Sequenz: 54 s; Anzahl der Schichten: 20, ohne Schichtlücke). Für die diffusions-gewichtete Bildgebung wurde eine Singleshot Multislice EPI-Sequenz (TR: 2400 ms; TE: 69 ms;

$b = 0, 100, 500 \text{ s mm}^{-2}$; Voxelgröße: $3,6 \times 3,6 \times 3,5 \text{ mm}^3$; Schichtdicke: $3,5 \text{ mm}$; FOV: $300 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$; Dauer der Sequenz: $4:32 \text{ min}$; Anzahl der Schichten: 20, ohne Schichtlücke; Mittelungen: 16) in axialer Ausrichtung akquiriert. Die ADC-Bilder wurden automatisch mit der vorhandenen Scanner Software (Philips© Diffusion Analysis Software; release 2.6) aus den einzelnen Trace-Bildern berechnet. In den T2-gewichteten (siehe Abbildung 6) und den DWI-Sequenzen wurde stets der gesamte fetale Rumpf vom Nacken bis zum Oberbauch erfasst. Die fetalen Lungen wurden in jeder Untersuchung vollständig abgebildet.

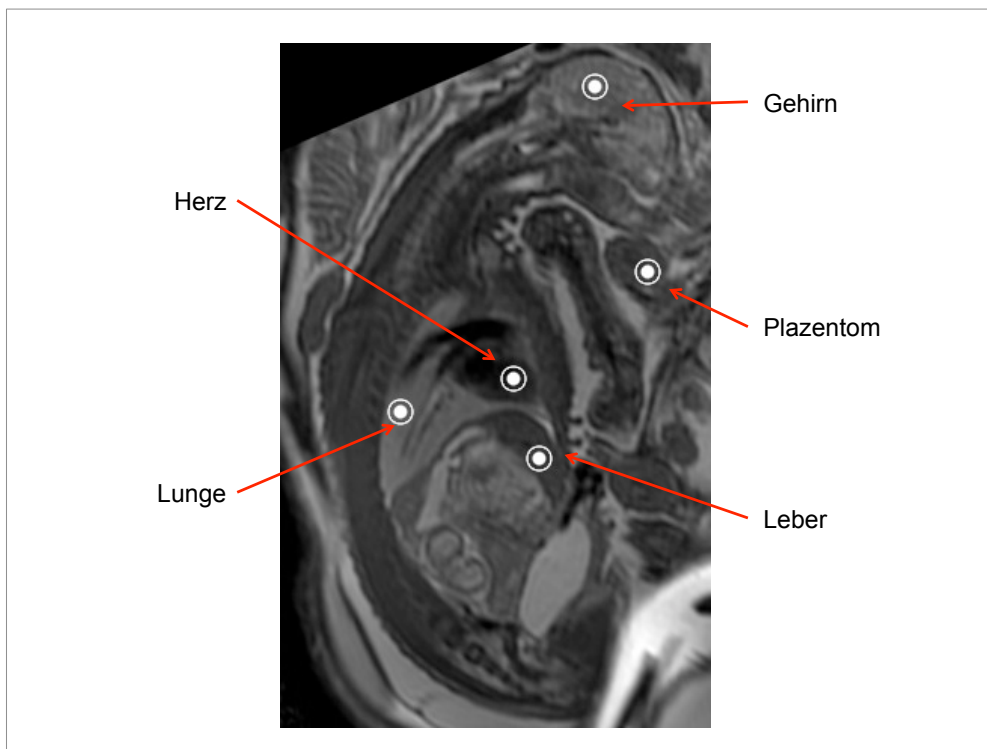


Abbildung 6: Fetus im sagittalen Schnittbild zur allgemeinen Orientierung.

T2-gewichtetes TSE-Bild (TR: 5000 ms; TE: 90 ms; Flipwinkel: 90°).

3.4 Auswertung der MRT-Daten

Die Datenanalyse fand an der MRT-Arbeitsstation mit Hilfe der Philips Diffusion Analysis Software (Version 2.6) statt. Die einzelnen ADC-Maps jeder Schicht wurden automatisch von der Software des MRT generiert. Um die ADC-Werte

in der Lunge zu messen, wurden sphärische „region of interests“ (ROI) manuell in beide Lungenflügel platziert. ADC-Werte wurden jeweils für den linken und rechten Lungenflügel aus den oberen, den mittleren und den unteren Lungenanteilen ermittelt (siehe Abbildung 7). Die Auswertung erfolgte an den ADC-Maps in axialer Ausrichtung.

Folgende Leitstrukturen dienten der Auswertung:

Obere Lungenanteile: Oberes Drittel der fetalen Lunge; auf Höhe der supraaortalen Gefäße

Mittlere Lungenanteile: Auf Höhe der linken Herzkammer in den anterolateralen Lungenanteilen

Untere Lungenanteile: Dorsobasale Lungenanteile

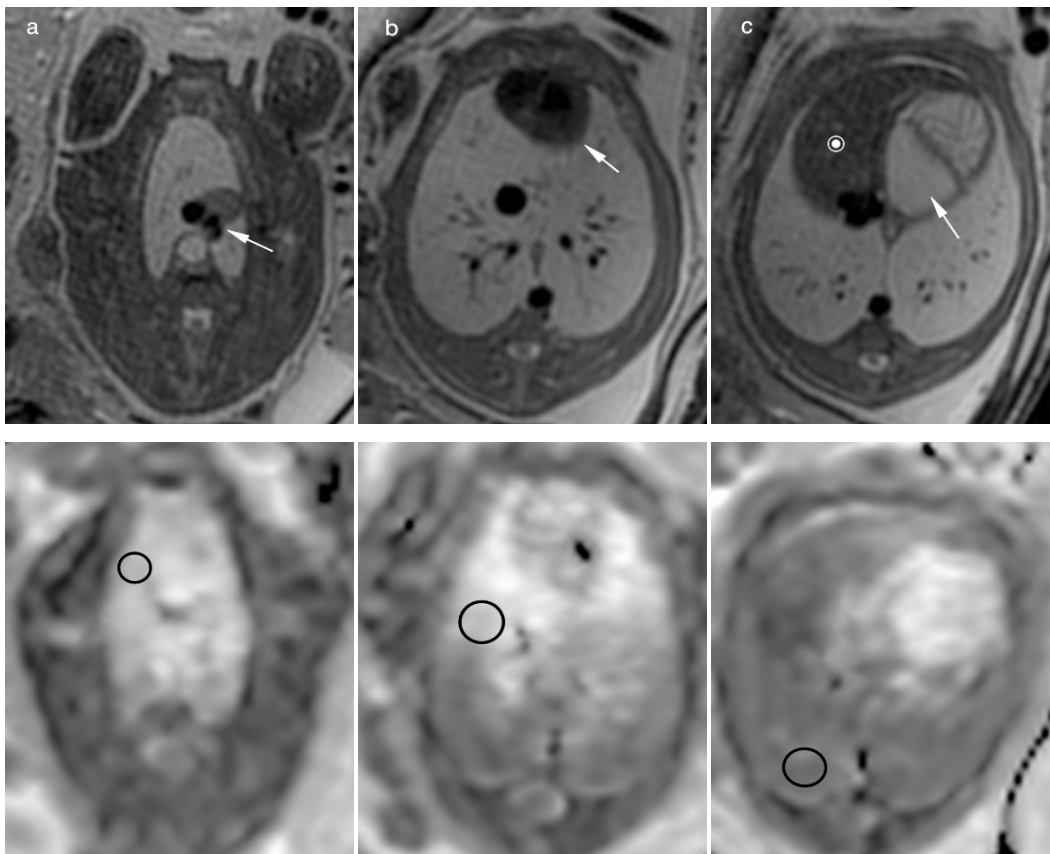


Abbildung 7: Auswertung des Bildmaterials.

T2-gewichtete TSE-Bilder (TR: 5000 ms; TE: 90 ms; Flipwinkel: 90°) und die dazugehörigen ADC-Maps (EPI; TR: 2400 ms; TE: 69 ms; $b = 0, 100, 500 \text{ s mm}^{-2}$; Voxelgröße: $3,6 \times 3,6 \times 3,5 \text{ mm}^3$; FOV: $300 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$; Mittelungen: 16; Flipwinkel: 90°). Zur Berechnung der ADC-Werte wurden ROI in die rechten Lungenanteile platziert. a) Oberer Lungenanteil: Pfeil zeigt

auf supraaortale Gefäße. b) Mittlerer Lungenanteil: Pfeil zeigt auf den linken Ventrikel. c) Unterer Lungenanteil: Punkt markiert die Leber, Pfeil zeigt auf den Pansen.

Zur möglichst genauen Datenanalyse (z. B. Ausschluss großer Gefäße) wurden bei allen Messungen die ADC-Maps den axialen T2-gewichteten Bildern gegenübergestellt (siehe Abbildung 7).

Die ROI-Größe betrug 1 cm^2 für die basalen und mittleren Lungenanteile und für die oberen $0,5 \text{ cm}^2$. Die Messungen erfolgten durch zwei unabhängige Beobachter (Medizinstudenten im sechsten und vierten klinischen Semester). Um das Risiko falsch positiver Werte durch die mehrfachen Messungen zu reduzieren, wurden die Werte aus den beiden Lungenflügeln jeweils für die oberen, mittleren und unteren Lungenanteile gemittelt (es wurde angenommen, dass sich die Diffusionsleistung beider Lungenflügel nicht unterscheidet).

3.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe eines gebräuchlichen Softwareprogramms (SPSS).

Die Interrater-Reliabilität in der Ermittlung der ADC-Werte wurde mit einem t-Test für gepaarte Stichproben analysiert. Mittels eines Pearson Tests wurde die hypothetische Korrelation zwischen dem GA und den ADC-Werten überprüft. Hierfür wurden die MRT-Studien der Kontrollgruppe herangezogen. Unterschiede in den ADC-Messungen zwischen der Follow-Up- und der Baseline-MRT-Untersuchung in der Kontrollgruppe wurde als Kurzzeit-Test-Retest-Stabilität definiert.

Die Wirkung des Dexamethasons auf die Diffusionseigenschaften der fetalen Lungen wurde zum einen getestet, indem die ADC-Werte der GC-Gruppe mit den Werten der Kontrollgruppe verglichen wurden und zum anderen wurden innerhalb der GC-Gruppe die ADC-Werte der Baseline- und der Follow-Up-MRT-Untersuchungen in Relation gebracht.

4. Ergebnisse

4.1. Allgemeine Ergebnisse

Wir führten in den fetalen Lungen von vier GC-exponierten Lämmern (vier Baseline-MRT-Untersuchungen und vier Follow-Up-MRT-Untersuchungen) und sieben Kontroll-Tieren (sieben Baseline-MRT-Untersuchungen und vier Follow-Up-MRT-Untersuchungen) insgesamt 19 DWI-Messungen durch (siehe Tabelle 2).

Von ursprünglich sechs Tieren der GC-Gruppe wurden zwei aufgrund eines GC-induzierten Aborts von der Datenanalyse ausgeschlossen. Nachdem zur ersten GC-Dosis auch MPA injiziert wurde, traten keine weiteren Fehlgeburten auf. Die restlichen Tiere dieser Gruppe (n = 4) wurden 24 h nach der ersten Dexamethason-Dosis im MRT untersucht (Baseline-MRT-Untersuchung). Eine Follow-Up-MRT-Untersuchung wurde in drei Schafen 5 d nach der ersten Dosis durchgeführt. Die Nachuntersuchung des vierten Schafes der GC-Gruppe musste aus technischen Gründen auf den neunten Tag nach der ersten GC-Gabe verschoben werden (zum Schutz des Tieres forderte die Tierhaltung eine Verzögerung der Untersuchung um vier Tage). In der Kontrollgruppe konnten sieben Baseline-MRT-Untersuchungen und vier Follow-Up-MRT-Untersuchungen durchgeführt werden (siehe Tabelle 2). Aus technischen (n = 2) oder medizinischen (n = 1) Gründen konnten drei Kontroll-Tiere nicht einer Follow-Up-MRT-Untersuchung unterzogen werden. Aus jeder MRT-Studie konnten ADC-Maps ermittelt werden.

Tabelle 2: *Baseline- und Follow-Up-MRT-Untersuchungen in den beiden Untersuchungsgruppen.*

| | Anzahl der Tiere | Baseline-MRT-Untersuchung | Follow-Up-MRT-Untersuchung |
|----------------|------------------|---------------------------|----------------------------|
| GC-Gruppe | 4 | 4 | 4 |
| Kontrollgruppe | 7 | 7 | 4 |
| Gesamt | 11 | 11 | 8 |

4.2 Interrater-Reliabilität

Es gab keine Interrater-Abweichungen der ermittelten ADC-Werte ($p = 0,832$) zwischen den beiden Beobachtern und eine gute Interrater-Reliabilität. Der Pearson-Korrelationskoeffizient der ADC-Werte der beiden Beobachter betrug $\rho = 0,970$ ($p < 0,0001$). Wurde der t-Test für gepaarte Stichproben für jeden ROI getrennt durchgeführt, ergaben sich keine Unterschiede in den ermittelten ADC-Werten der beiden Beobachter. Aus diesem Grund wurden die ADC-Werte der beiden Beobachter für alle weiteren Analysen der Studie gemittelt.

4.3 ADC und GA

Es konnte keine Korrelation zwischen den ADC-Werten und dem GA für den beobachteten Abschnitt der Trächtigkeit (111-126 Schwangerschaftstage) gefunden werden (siehe Abbildung 8). Getestet wurde die Beziehung der zwei Merkmale in den oberen Lungenanteilen (Korrelationskoeffizient nach Pearson $\rho = 0,015$, zweiseitiges $p = 0,970$), den mittleren Lungenanteilen ($\rho = 0,344$, zweiseitiges $p = 0,365$) und den unteren Lungenanteilen ($\rho = 0,195$, zweiseitiges $p = 0,615$).

4.4 Test-Retest-Stabilität der ADC-Messungen

Die mittlere Differenz der ADC-Werte zwischen den Follow-Up- und den Baseline-MRT-Untersuchungen der Kontrollgruppe war für die oberen, mittleren und unteren Lungenanteile entsprechend: $0,064 \pm 0,348 \text{ s mm}^{-2}$, $0,130 \pm 0,333 \text{ s mm}^{-2}$, $-0,076 \pm 0,159 \text{ s mm}^{-2}$.

Wie der Einstichproben-t-Test zeigen konnte, waren diese Unterschiede der ADC-Werte statistisch nicht von null verschieden (obere Lungenanteile: $n = 4$, $p = 0,779$; mittlere Lungenanteile: $n = 4$, $p = 0,491$; untere Lungenanteile: $n = 4$, $p = 0,411$). Diese Ergebnisse deuten auf eine hohe Stabilität der ADC-Messungen hin. Die Kurzzeit-Test-Retest-Stabilität lag für alle Lungenanteile unter 5%. Zudem wird hiermit bestätigt, dass im beobachteten Zeitraum der Einfluss des GA auf die ADC-Werte vernachlässigt werden kann.

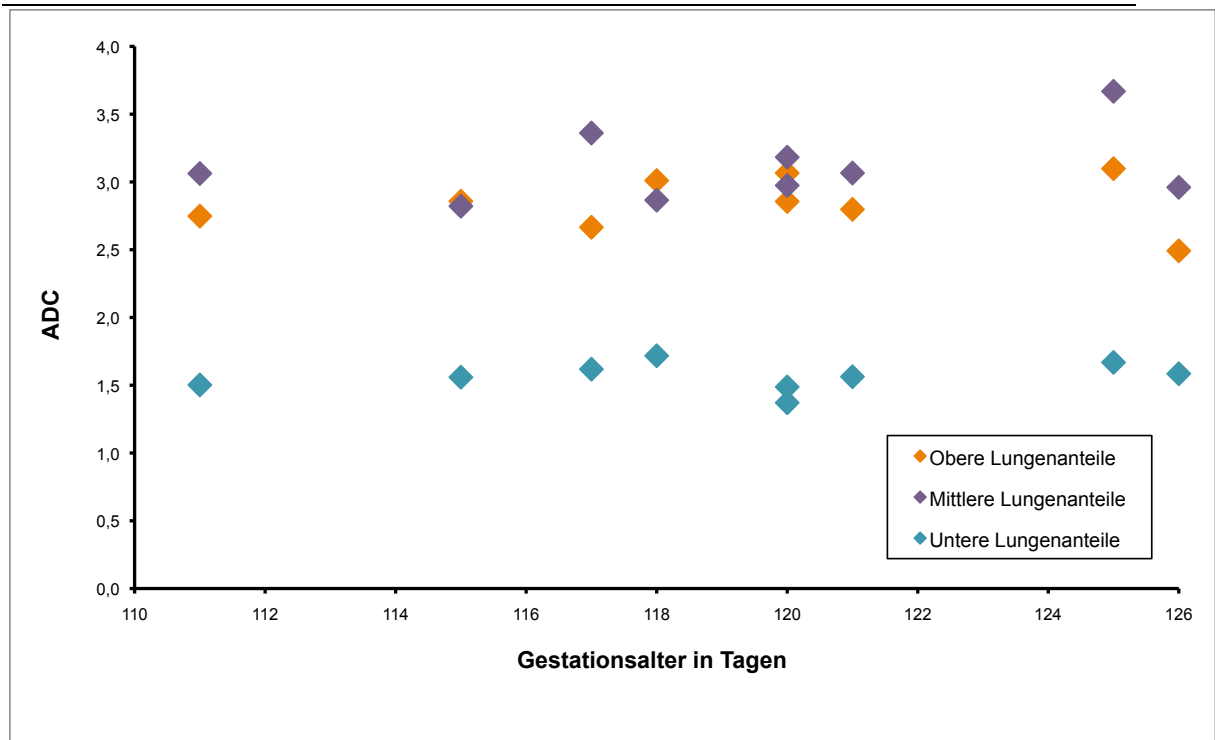


Abbildung 8: Das Verhalten der ADC-Werte der Kontrollgruppe mit zunehmendem GA. Weder in den oberen, noch in den mittleren oder unteren Lungenanteilen konnte im beobachteten Zeitraum eine Korrelation registriert werden.

4.5 Die ADC-Werte der GC-Gruppe im Verlauf

In den Dexamethason-exponierten Schafsfeten, nahmen die ADC-Werte von der Baseline-MRT-Untersuchung (24 Stunden nach der GC-Applikation) bis zur Follow-Up-MRT-Untersuchung um $0,347 \pm 0,354 \text{ s mm}^{-2}$ in den oberen Lungenanteilen und um $0,339 \pm 0,257 \text{ s mm}^{-2}$ in den mittleren Lungenanteilen zu (siehe Abbildung 9). Diese Zunahme um circa 10% war im Einstichproben-t-Test für die mittleren Lungenanteile statistisch signifikant

($n = 4$, einseitiges $p = 0,039$) und zeigte einen Trend zur Signifikanz in den oberen Lungenanteilen ($n = 4$, einseitiges $p = 0,073$). In den unteren Lungenanteilen der GC-Gruppe konnte keine signifikante Veränderung der ADC-Werte zwischen den einzelnen Untersuchungen registriert werden (siehe Abbildung 9) (Differenz = $-0,047 \pm 0,114 \text{ s mm}^{-2}$; $n = 4$; zweiseitiges $p = 0,468$).

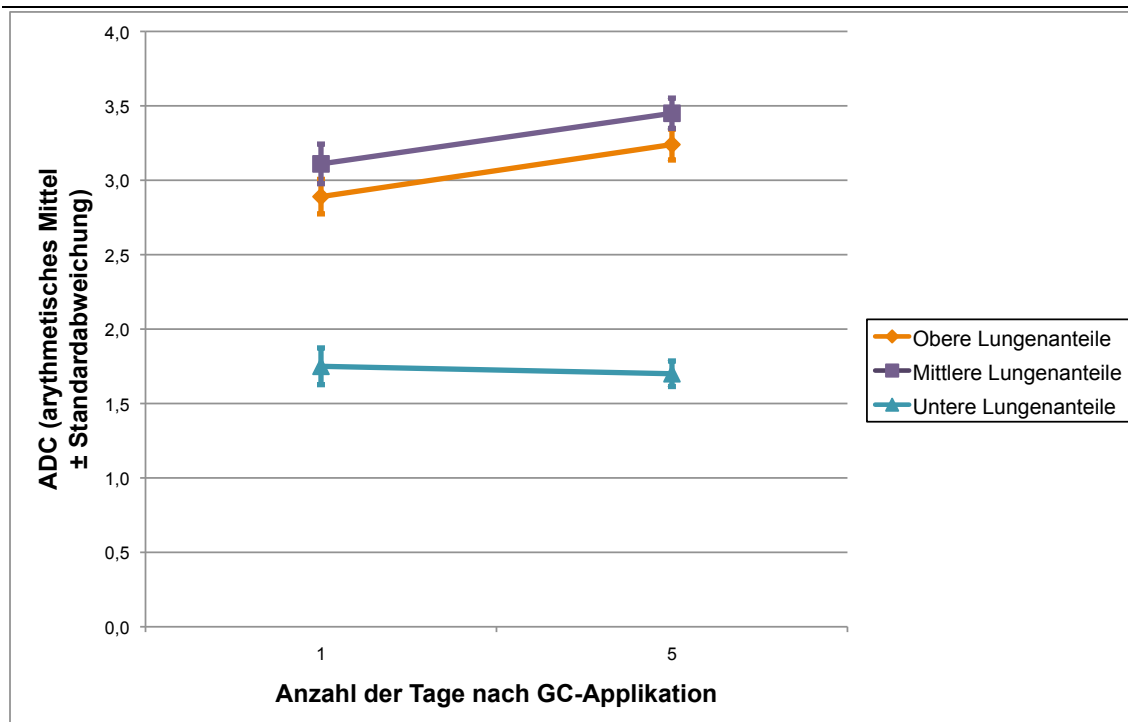


Abbildung 9: Die gemittelten ADC-Werte der oberen, mittleren und unteren Lungenanteile aus den Baseline- und Follow-Up-MRT-Untersuchungen der GC-Gruppe.

4.6 Vergleich der GC-Gruppe mit der Kontrollgruppe

Wenn die Dexamthason-exponierten Feten denen der Kontrollgruppe gegenübergestellt wurden, waren die ADC-Werte in der Follow-Up-MRT-Untersuchung in den oberen und mittleren Lungenanteilen im Zweichstichproben-t-Test für unabhängige Stichproben signifikant höher (der Levene-Test ließ eine gleich große Varianz der ADC-Werte für die beiden Lungenanteile vermuten): $3,421 \pm 0,208 \text{ s mm}^{-2}$ ($n = 4$) im Gegensatz zu $2,882 \pm 0,207 \text{ s mm}^{-2}$ ($n = 7$) in den oberen Lungenanteilen (einseitiges $p = 0,011$) und $3,454 \pm 0,204 \text{ s mm}^{-2}$ ($n = 4$) im Gegensatz zu $3,077 \pm 0,287 \text{ s mm}^{-2}$ ($n = 7$) in den mittleren Lungenanteilen (einseitiges $p = 0,024$) (siehe Abbildung 10). In den unteren Lungenanteilen konnte ein Trend in die gleiche Richtung gefunden werden: $1,695 \pm 0,171 \text{ s mm}^{-2}$ ($n = 4$) im Gegensatz zu $1,564 \pm 0,114 \text{ s mm}^{-2}$ ($n = 7$) (einseitiges $p = 0,080$).

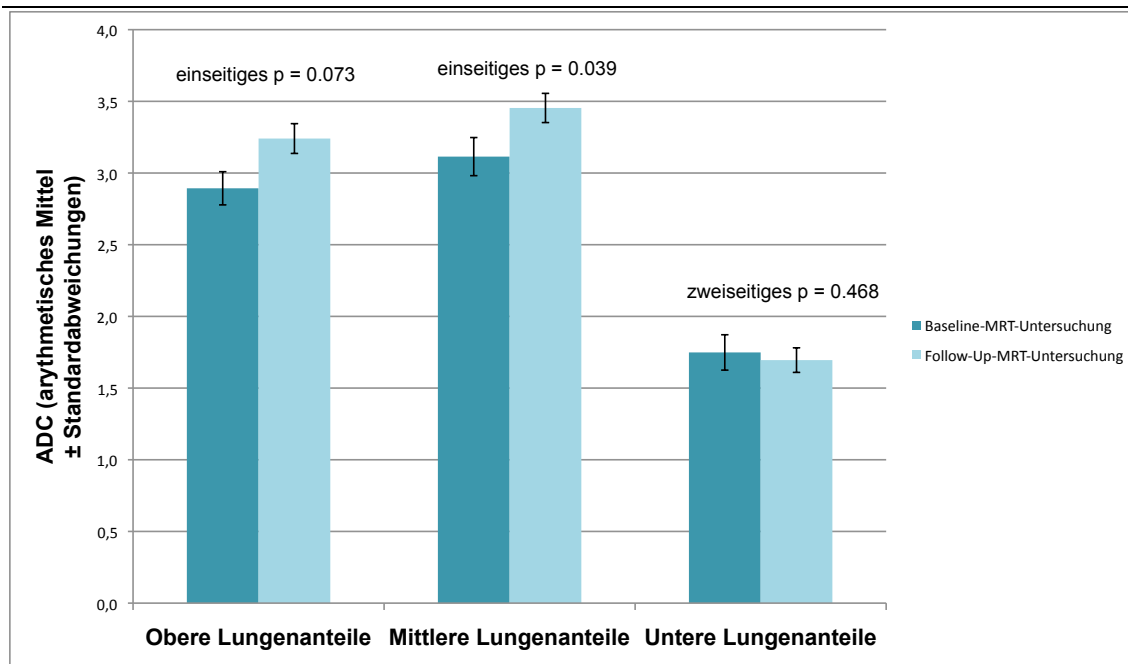


Abbildung 10: ADC-Werte der oberen, mittleren und unteren Lungenanteile. Fünf ($n = 3$) bzw. neun ($n = 1$) Tage nach der Dexamethason-Gabe waren die ADC-Werte der GC-Gruppe im Vergleich zu den Werten der Kontrollgruppe für die oberen und mittleren Lungenanteile signifikant höher.

Die Feten der beiden Gruppen unterschieden sich nicht im GA. Das Alter der Feten der GC-Gruppe ($n = 4$) betrug zum Zeitpunkt der Follow-Up-MRT-Untersuchung $122,0 \pm 2,6$ d und der Kontrollgruppe ($n = 7$) zum Zeitpunkt der Baseline-MRT-Untersuchung $120,7 \pm 3,8$ d (Zweistichproben-t-Test: $p = 0,567$).

4.7 Komplikationen der Untersuchungen

In unserer Studie verstarben sechs Lämmer (fünf Lämmer der GC-Gruppe und ein Lamm der Kontrollgruppe) sowie ein Muttertier (Kontrollgruppe).

Zwei Schafsfeten der GC-Gruppe kamen aufgrund eines GC-induzierten Aborts ums Leben (die Schafe hatten keine präventive MPA-Gabe erhalten); eines der beiden Muttertiere erlitt einen Uterusprolaps (siehe Tabelle 3).

Die anderen drei Lämmer der GC-Gruppe mussten infolge einer Übertragung der Schwangerschaft per S. c. geholt werden und überlebten diese nicht (siehe Tabelle 4). Insgesamt mussten in der GC-Gruppe nach zusätzlicher MPA-Gabe

bei allen Schafen (n = 4) S. c. durchgeführt werden, wobei nur ein Lamm lebendig geholt werden konnte.

Tabelle 3: *Komplikationen der Untersuchungen (Muttertiere) in den verschiedenen Gruppen.*

| | GC-Gruppe ohne MPA | GC-Gruppe mit MPA | Kontrollgruppe | Gesamt |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|--------|
| Fruchtwasserverlust | 1 | 2 | 2 | 5 |
| Erbrechen | 1 | 1 | 5 | 7 |
| Diarrhoe | - | - | 1 | 1 |
| Fieber | - | - | 2 | 2 |
| Uterusprolaps | 1 | - | - | 1 |
| Milchabgang | - | 1 | - | 1 |

Tabelle 4: *Schnittentbindungen in den Untersuchungsgruppen.*

| | S. c. (lebendiges Lamm) | S. c. (Lamm verstorben) | Gesamt |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|--------|
| GC-Gruppe ohne MPA | - | - | - |
| GC-Gruppe mit MPA | 1 | 3 | 4 |
| Kontrollgruppe | - | - | - |

Mehrere Muttertiere verloren während der Untersuchungen Fruchtwasser; teilweise kam es zu massivem Erbrechen von Pansensaft (siehe Tabelle 3). Das verstorbene Muttertier der Kontrollgruppe erkrankte an Diarrhoen, verlor frühzeitig Fruchtwasser und musste bei Geburtskomplikationen eingeschläfert werden. Das Lamm konnte nicht gerettet werden.

Es konnten zusammenfassend zwölf Muttertiere und sieben Lämmer zum Bauern zurückkehren.

5. Diskussion

Bereits in mehreren Studien wurde die sonst vor allem in der Schlaganfall-Diagnostik eingesetzte DWI zur Überprüfung der Lungenreife herangezogen (Balassy et al., 2008, Manganaro et al., 2008, Cannie et al., 2009, Lee et al., 2009). Vermutet wird, dass hauptsächlich die entwicklungsbedingten strukturellen Veränderungen der fetalen Lungen die Diffusionseigenschaften des Organs beeinflussen (Moore et al., 2001, Manganaro et al., 2008, Cannie et al., 2009, Kasprian et al., 2010).

Bisher wurde noch keine wissenschaftliche Arbeit publiziert, die das Verhalten der Diffusionseigenschaften in fetalen Lungen nach antenataler GC-Gabe im MRT untersuchten.

Unsere Studie mit 13 trächtigen Schafen konnte nach der Applikation von Dexamethason einen signifikanten Anstieg der ADC-Werte in den fetalen Lungen der Lämmer nachweisen. Im Vergleich zu den Baseline-MRT-Untersuchungen der Kontrollgruppe nahmen die ADC-Werte fünf bis neun Tage nach der ersten Dexamethason-Gabe signifikant zu. Innerhalb der GC-Gruppe zeigten sich in der Follow-Up-MRT-Untersuchung signifikant höhere ADC-Werte in den mittleren Lungenanteilen. In den oberen Anteilen konnte ein Trend registriert werden und in den unteren Anteilen blieben die ADC-Werte unverändert. Im direkten Vergleich der beiden Untersuchungsgruppen konnten in den oberen und mittleren Lungenanteilen signifikant höhere ADC-Werte in der Follow-Up-MRT-Untersuchung der GC-Gruppe gemessen werden. Einen Trend in die gleiche Richtung zeigten die unteren Anteile. 24 h nach der GC-Injektion waren die ADC-Werte der GC-Gruppe im Vergleich zu den Schafsfeten der Kontrollgruppe nicht signifikant verschieden. Wurden die ADC-Werte der Kontrollgruppe mit dem GA in Beziehung gesetzt, ergab sich keine Korrelation der zwei Variablen (GA: 111-126 d).

Erwiesenermaßen induzieren ACS die Lungenreife in der fetalen Entwicklung. 24h nach der ersten GC-Dosis beginnt der optimale Effekt auf die fetalen Lungen und die Inzidenz des RDS, die generelle Mortalität sowie Morbidität wird reduziert (NIH1994, 1995). GC unterstützen die strukturelle Entwicklung der fetalen Lungen (Robertson, 1993). Sie führen zu einer verminderten Dicke der Alveolarsepten, einer verminderten vaskulären Permeabilität und einer

erhöhten Clearance der Lungenflüssigkeit, wodurch sich die Funktion der fetalen Lungen verbessert (Ballard, 1986, Post und Smith, 1992). Zusätzlich wird die biochemische Lungenreifung beschleunigt und verstärkt Surfactant synthetisiert (Ballard und Ballard, 1995). Von Ikegami et al. und Kauffman wird beschrieben, dass die fetale Lungenfunktion bereits 15 h nach einer GC-Gabe verbessert wird (Kauffman, 1977, Ikegami et al., 1996b). Diese frühe Antwort wird auf die strukturellen Veränderungen des Lungengewebes zurückgeführt (Kauffman, 1977, Pinkerton et al., 1997). Die GC-induzierte erhöhte Surfactant-Produktion tritt erst mit einer Verzögerung von mehr als vier Tagen ein (Ballard et al., 1997, Jobe et al., 1998a).

Unsere Beobachtung lässt vermuten, dass die DWI ein bildgebendes Verfahren ist, mit dem sich die GC-induzierten Veränderungen der fetalen Lungen untersuchen lassen. In dem kurzen, von uns untersuchten Intervall lässt sich kein Zusammenhang zwischen dem GA und den ADC-Werten nachweisen.

Die Diffusionseigenschaften eines Organs werden jedoch nicht nur von einer einzigen Komponente beeinflusst. Die Diffusion der extrazellulären und vaskulären Räume wie auch die Diffusion auf zellulärer Ebene und die Gewebepfusion tragen zur Gesamt-Diffusionsleistung bei (Thoeny und De Keyser, 2007).

Die Faktoren, die zu den möglichen Änderungen der Diffusionsleistung fetaler Lungen führen, wurden in der Vergangenheit in anderen Studien untersucht und erläutert. Welche Rolle dabei die biochemische Lungenreifung spielt, untersuchten Moore et al. in einem *ex-vivo*-Modell (Moore et al., 2001). Mittels DWI untersuchten sie eine Lösung aus destilliertem Wasser und Surfactant. Die Surfactant-Konzentration entsprach ungefähr der des Fruchtwassers (Moore et al., 2001), welche wiederum mit der fetaler Lungen übereinstimmt (Hallman et al., 1988, Doyle et al., 1999). Erhöhte Surfactant-Konzentrationen hatten in ihren Versuchen keinen Einfluss auf die Diffusionseigenschaften (Moore et al., 2001).

Nach den Ergebnissen dieser *ex-vivo*-Simulation können die erhöhten ADC-Werte der fetalen Lungen in unserer MRT-Studie nicht auf die vermehrte Surfactant-Produktion zurückgeführt werden, sondern sind z. B. in den GC-induzierten strukturellen Veränderungen begründet. Das verminderte interstitielle Lungengewebe, das erhöhte maximale Lungenvolumen und die

niedrigere Zelldichte der mit Flüssigkeit gefüllten Lunge könnten die Diffusion erhöhen.

Eine andere Erklärung für die signifikante Zunahme der ADC-Werte nach GC-Exposition könnte der Einfluss der Lungenperfusion sein. Die Vaskularisierung fetaler Lungen nimmt mit dem Fortschreiten der Schwangerschaft zu (Levin et al., 1976).

Zusätzlich gibt es *in-vivo*-Daten aus Versuchen an Schafsfeten, dass ACS den pulmonalen Blutfluss verstärken (Crossley et al., 2009). Der Effekt konnte 30-36 h nach der ersten GC-Gabe registriert werden (Crossley et al., 2009). Unsere Beobachtung, dass die ADC-Werte erst fünf Tage nach dem Beginn der GC-Therapie signifikant höher sind, lässt sich folglich auch im Zusammenhang mit der GC-induzierten Wirkung auf die Perfusion des Organs sehen.

Ein Vorteil der DWI ist, dass durch die Wahl verschiedener b-Werte entweder die Perfusion oder die Diffusion stärker gewichtet werden kann (Le Bihan et al., 1988, Neil und Ackerman, 1992). Niedrige b-Werte ($b < 100-150 \text{ s mm}^{-2}$) erhöhen in der DWI den Einfluss der Perfusion auf die Diffusionseigenschaften des Gewebes (Padhani et al., 2009, Thoeny und Ross, 2010). Die Wahl unserer b-Werte ($b = 0, 100, 500 \text{ s mm}^{-2}$) unterstützt die Hypothese, dass eine erhöhte Lungendurchblutung für den signifikanten Anstieg der ADC-Werte verantwortlich sein könnte. Bestärkt wird dieser Ansatz durch ein weiteres *in-vitro*-Modell aus drei Kompartimenten von Moore et al. (Moore et al., 2001). Im MRT wurden die drei Kompartimente bestehend aus:

- 1) einer vaskulären Komponente,
- 2) inter-/extrazellulärer Flüssigkeit des Lungengewebes und
- 3) Fruchtwasser (füllt den Alveolarraum fetaler Lungen aus)

untersucht. Die vaskuläre Komponente hatte die größte Auswirkung auf die Diffusionseigenschaften. Es wird postuliert, dass biochemische oder strukturelle Veränderungen weniger Einfluss auf dieses Merkmal haben (Moore et al., 2001).

In vier Studien wurde die non-invasive diffusionsgewichtete Bildgebung zur Untersuchung der physiologischen Lungenreifung im Menschen angewandt. Es wurden keine Medikamente zur Induktion der Lungenreife eingesetzt. Ziel der Studien war, Normwerte für die Diffusionsleistung fetaler Lungen zu bestimmen

Zeitpunkten in der Schwangerschaft zu etablieren, um *in utero* eine Aussage über den Status der Lungenreife treffen zu können.

Die bisherige Datenlage ist kontrovers. Zwei Studien eruierten eine positive Korrelation der ADC-Werte mit dem GA (Manganaro et al., 2008, Cannie et al., 2009). Andere Studien, die die beiden Variablen in Beziehung setzten, konnten diese Abhängigkeit nicht bestätigen (Balassy et al., 2008, Lee et al., 2009). Das Studiendesign der vier Studien ist vergleichbar. Ein Unterscheidungsmerkmal in der Durchführung ist jedoch die Wahl der b-Werte. Forschungsgruppen, die eine Korrelation der zwei Variablen (GA, ADC-Werte) nachweisen konnten, hatten niedrige b-Werte gewählt.

Cannie et al. untersuchten die Diffusionseigenschaften fetaler Lungen mit einem weiten Spektrum an b-Werten ($b = 0, 100, 250, 500, 750, 1000 \text{ s mm}^{-2}$) (Cannie et al., 2009). In der Auswertung der Ergebnisse wurden ADC-Werte für b_0 , mittelhohe b-Werte (ADC_{avg}), niedrige b-Werte (ADC_{low}) und hohe b-Werte (ADC_{high}) ermittelt. Für b_0 und ADC_{high} konnte sich eine negative Korrelation zeigen, ADC_{low} korrelierten positiv und für ADC_{avg} ergab sich keine Abhängigkeit (Cannie et al., 2009). Die Ergebnisse stehen im Einklang mit dem Drei-Kompartiment-Modell von Moore et al. (Moore et al., 2001). Niedrige b-Werte verstärken den Einfluss der Perfusion und führen so zu einer signifikanten Zunahme der ADC-Werte mit fortschreitendem GA.

Manganaro et al. führten Diffusionsmessungen an reifenden Lungen mit drei b-Werten durch ($b = 0, 200, 700 \text{ s mm}^{-2}$) (Manganaro et al., 2008). Die Ursache der positiven Korrelation wird ebenfalls in der stetig zunehmenden Angiogenese gesehen (Manganaro et al., 2008).

Für mittelhohe b-Werte ermittelte offensichtliche Diffusionskoeffizienten ergeben keine Korrelation mit dem GA (Balassy et al., 2008, Cannie et al., 2009). Balassy et al. setzten nur zwei b-Werte ($b = 0, 700 \text{ s mm}^{-2}$) in ihrer MRT-Studie ein (Balassy et al., 2008). Cannie et al. gehen davon aus, dass sich für ADC_{avg} Effekte der niedrigen und hohen b-Werte aufheben (Cannie et al., 2009).

Die Studie von Balassy et al. stellte fest, dass die ADC-Werte von der Lungenspitze zur -basis hin abnehmen (Balassy et al., 2008). Auch in unseren Untersuchungen potenzierten sich die ADC-Werte der unteren Lungenanteile nach GC-Exposition nicht. Laudy und Wladimiroff beschreiben, dass die

kranialen Anteile der menschlichen Lungen schneller reifen als die kaudalen (Laudy und Wladimiroff, 2000). Tierexperimente zeigten außerdem, dass der Anteil des Lungenparenchyms in den apikalen Lungenanteilen signifikant niedriger ist und, dass die durchschnittliche Dicke der Blut-Luft-Schranke in den Lungenspitzen geringer ist als basal (Zeltner et al., 1990). Außerdem könnte die Schwerkraft einen Effekt auf die fetalen Lungen haben, der noch nicht untersucht wurde (Balassy et al., 2008). Eine weitere mögliche Erklärung ist die periphere Lokalisation der ROIs in den basalen Lungenanteilen in unserer Studie (siehe Abb. 5). Wir gehen davon aus, dass peripheres im Vergleich zu hilusnahem Lungenparenchym von weniger Gefäßen gekennzeichnet ist und dadurch vermutlich weniger stark von einer GC-induzierten Verbesserung der Perfusion des Organs profitieren.

Lee et al. wählten für ihre Studie an menschlichen Feten im zweiten und dritten Trimenon zwei b-Werte ($b = 0, 1000 \text{ s mm}^{-2}$) und konnten wie Balassy et al. keine signifikante Korrelation der ADC-Werte mit dem GA feststellen (Lee et al., 2009). Sie konnten jedoch festhalten, dass die ADC-Messungen von unabhängigen Beobachtern nicht signifikant divergierten (Lee et al., 2009), womit auch das Ergebnis der Interrater-Reliabilität unserer Studie übereinstimmt. Die Ergebnisse deuten auf eine gewisse Reproduzierbarkeit der Messungen hin, welche für die Etablierung einer Methode unerlässlich ist.

Im Vergleich des rechten mit dem linken Lungenflügel ergaben sich keine Unterschiede in den ADC-Werten (Lee et al., 2009). Für unsere Ergebnisse können wir daraus schließen, dass die Mittelung der offensichtlichen Diffusionskoeffizienten aus den beiden Lungenflügeln nicht zu einem erhöhten Risiko falscher Werte geführt hat. Um die Lungenparenchymgrenzen oder andere Strukturen nicht in unsere Analysen miteinzuschließen, wurde die Größe der ROIs der Anatomie der Lunge angepasst.

Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen die aktuelle Literatur in der Theorie, dass eine vorgeburtliche GC-Exposition die Reifung fetaler Lungen beschleunigt. Im Vergleich zu anderen Forschungsgruppen, die bereits eine signifikante Korrelation der ADC-Werte mit dem GA demonstrieren konnten, evaluierten wir die Diffusionseigenschaften reifender Lungen mit einer verhältnismäßig großen Breite an b-Werten ($b = 0, 100, 500 \text{ s mm}^{-2}$).

Bewertet man unsere Ergebnisse unter Berücksichtigung der Aussagen von Cannie et al. (Cannie et al., 2009), lässt sich mutmaßen, dass das Spektrum der b-Werte die Effektgröße reduziert haben könnte. Mit $b_3 = 500 \text{ s mm}^{-2}$ wählten wir einen b-Wert, der in der Studie von Cannie et al. den ADC_{high} zugeteilt wurde (Cannie et al., 2009). ADC_{high} nahmen mit dem Fortschreiten der Schwangerschaft ab (Cannie et al., 2009). Trotz der möglichen Abschwächung der Effektgröße, konnten wir eine signifikante Zunahme der ADC-Werte nach GC-Exposition der Lämmer zeigen. Da wir in unserer Studie die beschleunigte GC-induzierte Lungenreifung untersucht haben, vermuten wir, dass unsere Ergebnisse eher gravierende Veränderungen (vor allem die Zunahme des Blutflusses) als Antwort auf die GC-Exposition reflektieren.

Die Anwendung niedrigerer b-Werte könnte den beobachteten Effekt möglicherweise verstärken und so eine frühere Detektion von Veränderungen der Diffusionseigenschaften erlauben.

In unserer MRT-Studie konnten die Veränderungen der Diffusionseigenschaften in den fetalen Lungen erstmals fünf Tage nach der ersten GC-Injektion registriert werden. Zum Schutz der Muttertiere und Lämmer konnten wir die Versuche nicht in kürzeren Abständen durchführen. Die Nüchternphasen über 24-36 h vor den MRT-Untersuchungen stellten für die trächtigen Schafe extreme Belastungen dar. Nach der Intubationsnarkose benötigten die Tiere eine Rehabilitationsphase über mehrere Tage. So konnten ADC-Werte nur in einem Abstand von vier Tagen erhoben werden. Unsere Studie war in weiteren Aspekten limitiert. Die Stichproben-Größe war in beiden Untersuchungsgruppen klein (insbesondere in der GC-Gruppe). Zwei Tiere mussten aufgrund eines GC-induzierten Aborts von der Studie ausgeschlossen werden. Dass ACS bei trächtigen Schafen zum vorzeitigen Schwangerschaftsabbruch führen können, ist bereits von Liggins und Jenkin et al. gezeigt worden (Liggins, 1969, Jenkin et al., 1985). Um den Abort zu verhindern wurde den weiteren Muttertieren in unseren Versuchen mit der ersten Dosis Dexamethason zusätzlich MPA verabreicht. MPA wird in GC-Studien mit trächtigen Schafen häufig präventiv eingesetzt, um die Schwangerschaft aufrechtzuerhalten (Jenkin et al., 1985). Welchen Einfluss das applizierte Progesteron auf die Ergebnisse unserer Studie hat, bleibt ungewiss. Im Fortbestand der Schwangerschaft sind Östrogene und Progesterone entscheidende Hormone (Jobe et al., 2003). Ihre

Wirkung auf die Reifung der fetalen Lungen ist jedoch wenig erforscht. Laut Trotter et al. spielt Progesteron in Kombination mit Östrogen ebenfalls eine Rolle für die Induktion der Lungenreife (Trotter et al., 1999). Bezüglich des Östrogens alleine sind die Aussagen widersprüchlich (Ballard, 1986, Andujo et al., 1987) und das Hormon hat für die Erforschung der Induktion der Lungenreife keine Bedeutung mehr (Jobe et al., 2003). Was den Einfluss des MPA auf die unreifen Lungen betrifft, gibt es nur wenige Informationen. Moawad et al. entdeckten in fetalen Rattenlungen einen nachteiligen Effekt auf die Lungenreifung (Moawad et al., 1982). Jobe et al. registrierten in ihren Versuchen an trächtigen Schafen, dass MPA nach ACS-Gabe zum einen die Rate der vorzeitigen Schwangerschaftsabbrüche reduzierte und zum anderen keinen Einfluss auf die physiologische oder GC-induzierte Lungenreifung hatte (Jobe et al., 2003). Diese Beobachtung ist wichtig, da MPA nach GC-Applikationen für die Prävention der Aborte in trächtigen Schafen unbedingt erforderlich ist.

Unabhängig von der MPA-Gabe und deren möglichen Einfluss auf unsere Ergebnisse müssen wir darauf hinweisen, dass Änderungen der ADC-Werte um 10-12% in einer solch kleinen Untersuchungsgruppe keine endgültigen Aussagen zulassen. Unter anderem könnten Abweichungen der Körpertemperatur bei den einzelnen MRT-Studien die offensichtlichen Diffusionskoeffizienten beeinflusst haben.

Das Ziel unserer Studie war, herauszufinden wie sich die Diffusionseigenschaften in fetalen Lungen nach antenataler GC-Gabe verändern. Unsere Ergebnisse zeigen, dass GC-induzierte Wirkungen in der MRT mit Hilfe der DWI beobachtet werden können. Erhöhte ADC-Werte konnten fünf Tage nach der Applikation der GC registriert werden. In dem untersuchten Zeitraum konnte keine Korrelation der ADC Werte mit dem GA nachgewiesen werden.

Vermutlich ist die Zunahme der ADC-Werte in GC-exponierten Feten auf strukturelle Veränderungen und eine verstärkte Perfusion zurückzuführen. Wir gehen davon aus, dass kein Zusammenhang mit der Surfactant-Synthese besteht. Weitere Studien sollten untersuchen, ob die Wahl niedrigerer b-Werte den Effekt auf die ADC-Werte verstärkt und, ob die Wirkung des GC damit

früher nachgewiesen werden kann. Zudem sollte die Reproduzierbarkeit der Untersuchungen getestet werden.

6. Zusammenfassung

Das Ziel unserer MRT-Studie war, die GC-induzierten Veränderungen der Diffusionsleistung fetaler Lungen mittels DWI in Schafsfeten zu evaluieren.

Zur Durchführung des Tierversuchs wurde bei der lokalen Ethikkommission eine Genehmigung eingeholt. Elf trächtige Schafe mit Einlings-Schwangerschaften wurden mittels DWI an einem 1,5 Tesla Magnetresonanztomographen (Achieva®, Philips Medical Systems, Eindhoven, Niederlande) untersucht.

Vier Tiere erhielten GC-Injektionen (2 x 6 mg Dexamethason) 24 und 12 h vor einer Baseline-MRT-Untersuchung. Sieben Tiere wurden einer Kontrollgruppe zugeordnet. Aus den DWI-Sequenzen wurden ADC-Werte für die oberen, mittleren und unteren Lungenanteile durch zwei unabhängige Beobachter ermittelt. Anhand des Pearson Tests wurde zur Korrelation der ADC-Werte mit dem GA angewandt.

Ein t-Test wurde ausgeführt, um Unterschiede in den ADC-Werten der Baseline- und Follow-Up-MRT-Untersuchungen innerhalb der beiden Gruppen, sowie zwischen den GC- und Kontrolltieren, zu vergleichen. Die Interrater-Reliabilität wurde berechnet.

In der GC-Gruppe nahmen die ADC-Werte um circa 10% zwischen der Baseline- und der Follow-Up-MRT-Untersuchung zu (mittlere Lungenanteile: $0,339 \pm 0,257$ s mm^{-2} ; $p = 0,039$). Vergleicht man die beiden Untersuchungsgruppen divergierten die ADC-Werte nicht zum Zeitpunkt der Baseline-MRT-Untersuchungen; wohingegen die ADC-Werte aus den Follow-Up-MRT-Untersuchungen in der GC-Gruppe signifikant höher waren (mittlere Lungenanteile: $3,454 \pm 0,204$ s mm^{-2} versus $3,077 \pm 0,287$ s mm^{-2} ; $p = 0,024$). Die ADC-Werte der fetalen Lungen korrelierten nicht mit dem GA ($p = 0,970$). Dies erlaubt es auszuschließen, dass die detektierten Veränderungen der ADC-Werte nach GC-Gabe Ausdruck der natürlichen Lungenreifung sind.

Die Interrater-Reliabilität war sehr hoch (Pearson Korrelationskoeffizient: 0,970, $p = 0,000$).

In unserem Versuchsmodell können mittels DWI GC-induzierte Veränderungen der Diffusionseigenschaften fetaler Lungen erfasst werden. Eine Zunahme der ADC-Werte kann fünf Tage nach der Applikation von GC gemessen werden.

The purpose of our magnetic resonance imaging (MRI) study was to assess changes of diffusion properties in the fetal lung after corticosteroid administration with DWI in fetal sheep.

Animal care committee approval was obtained for this study. DWI was performed on eleven pregnant sheep with singleton pregnancies on a 1.5 tesla MRI scanner (Achieva®, Philips Medical Systems, Eindhoven, Niederlande). Four animals received corticosteroid injections (2 x 6 mg dexamethasone) 24 and 12 hours prior to a baseline scan. Seven animals served as controls. ADC was measured on DWI in the upper, medial and inferior fetal lung lobes by two independent readers. The Pearson test was used to correlate ADC and gestational age. A t-test was performed to compare differences in ADC values at baseline and follow up scan within and between groups. Inter-rater reliability was calculated.

In the corticosteroid group, ADC values increased about 10% between the baseline and follow up scan (medial lung: $0,339 \pm 0,257 \text{ s mm}^{-2}$; $p = 0,039$).

Comparing the corticosteroid and control group, ADC values did not differ between baseline scans; whereas in the follow up scan, ADC values were significantly higher in the corticosteroid group (medial lung:

$3,454 \pm 0,204 \text{ s mm}^{-2}$ versus $3,077 \pm 0,287 \text{ s mm}^{-2}$; $p = 0,024$). Lung ADC values did not correlate with gestational age ($p = 0,970$), this finding excludes ADC changes induced by physiological lung maturation. Inter-rater reliability was very high (Pearson correlation coefficient: 0,970, $p = 0,000$).

In this experimental model DWI can detect corticosteroid-induced changes in diffusion properties of the fetal lung. An increase in ADC values can be detected five days after corticosteroid administration.

7. Literaturverzeichnis

- Alcorn DG, Adamson TM, Maloney JE, Robinson PM (1981) A morphologic and morphometric analysis of fetal lung development in the sheep. *Anat Rec*, 201(4):655-667.
- Andujo O, Rosenfeld CR, Nielsen HC, Parker CR, Jr., Snyder JM (1987) Failure to detect a stimulatory effect of estradiol-17 beta on ovine fetal lung maturation. *Pediatr Res*, 22(2):145-149.
- Balassy C, Kasprian G, Brugger PC, Csapo B, Weber M, Hormann M, Bankier A, Bammer R, Herold CJ, Prayer D (2008) Diffusion-weighted MR imaging of the normal fetal lung. *Eur Radiol*, 18(4):700-706.
- Ballard PL (1978) Hormonal regulation of surfactant in fetal life. *Mead Johnson Symp Perinat Dev Med*, (14):25-39.
- Ballard PL (1986) *Hormones and lung maturation*. 1. Aufl., 28. Bd., Springer Verlag, Berlin, 1-345.
- Ballard PL, Ballard RA (1995) Scientific basis and therapeutic regimens for use of antenatal glucocorticoids. *Am J Obstet Gynecol*, 173(1):254-262.
- Ballard PL, Ning Y, Polk D, Ikegami M, Jobe AH (1997) Glucocorticoid regulation of surfactant components in immature lambs. *Am J Physiol*, 273(5 Pt 1):L1048-1057.
- Bar-Lev MR, Maayan-Metzger A, Matok I, Heyman Z, Sivan E, Kuint J (2004) Short-term outcomes in low birth weight infants following antenatal exposure to betamethasone versus dexamethasone. *Obstet Gynecol*, 104(3):484-488.
- Barkai G, Mashiach S, Reichman B, Modan M, Meir E, Goldman B (1986) Effect of blood contamination on the fluorescence polarization value of amniotic fluid lamellar bodies. *Obstet Gynecol*, 68(3):379-381.
- Battal B, Akgun V, Kocaoglu M (2012) Diffusion-weighted MRI beyond the central nervous system in children. *Diagn Interv Radiol*, 18(3):288-297.
- Baud O, Foix-L'Helias L, Kaminski M, Audibert F, Jarreau PH, Papiernik E, Huon C, Lepercq J, Dehan M, Lacaze-Masmonteil T (1999) Antenatal glucocorticoid treatment and cystic periventricular leukomalacia in very premature infants. *N Engl J Med*, 341(16):1190-1196.

-
- Baud O, Sola A (2007) Corticosteroids in perinatal medicine: how to improve outcomes without affecting the developing brain? *Semin Fetal Neonatal Med*, 12(4):273-279.
- Baud O, Zupan V, Lacaze-Masmonteil T, Audibert F, Shojaei T, Thebaud B, Ville Y, Frydman R, Dehan M (2000) The relationships between antenatal management, the cause of delivery and neonatal outcome in a large cohort of very preterm singleton infants. *Bjog*, 107(7):877-884.
- Beggs JM, Brown TH, Byrne JH, Crow T, LeDoux JE, LeBar K, Thompson RF (1999) Learning and memory: basic mechanisms. In: *Fundamental Neuroscience*. Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL (Hrg.). Academic Press, San Diego, 1411-1454.
- Blickstein I, Shinwell ES, Lusky A, Reichman B (2005) Plurality-dependent risk of respiratory distress syndrome among very-low-birth-weight infants and antepartum corticosteroid treatment. *Am J Obstet Gynecol*, 192(2):360-364.
- BQS. 2008. Entwicklung der VLBW-Zahlen von 2005-2008. Düsseldorf: Bundesgeschäftsstelle Qualitätssicherung. [Online im Internet.] URL: www.bqs-qualitaetsreport.de/2008/ergebnisse/leistungsbereiche/geburtshilfe/basis [Stand: 12. Januar 2012].
- Brown MA, Semelka RC (2003) Advanced Imaging Applications. In: *MRI: Basic Principles and Applications*. Brown MA, Semelka RC (Hrg.). 3. Aufl., John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 165 - 169.
- Brownfoot FC, Crowther CA, Middleton P (2008) Different corticosteroids and regimens for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*, (4):CD006764.
- Brumley GW, Chernick V, Hodson WA, Normand C, Fenner A, Avery ME (1967) Correlations of mechanical stability, morphology, pulmonary surfactant, and phospholipid content in the developing lamb lung. *J Clin Invest*, 46(5):863-873.
- Cannie M, Jani J, De Keyzer F, Roebben I, Dymarkowski S, Deprest J (2009) Diffusion-weighted MRI in lungs of normal fetuses and those with congenital diaphragmatic hernia. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 34(6):678-686.

-
- Carr HY, Purcell EM (1954) Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Physical Review*, 94(3):630-638.
- Chouthai NS, Sampers J, Desai N, Smith GM (2003) Changes in neurotrophin levels in umbilical cord blood from infants with different gestational ages and clinical conditions. *Pediatr Res*, 53(6):965-969.
- Colagrande S, Belli G, Politi LS, Mannelli L, Pasquinelli F, Villari N (2008) The influence of diffusion- and relaxation-related factors on signal intensity: an introductory guide to magnetic resonance diffusion-weighted imaging studies. *J Comput Assist Tomogr*, 32(3):463-474.
- Collaborative1984 (1984) Effects of antenatal dexamethasone administration in the infant: long-term follow-up. *J Pediatr*, 104(2):259-267.
- Crossley KJ, Morley CJ, Allison BJ, Davis PG, Polglase GR, Wallace MJ, Zahra VA, Hooper SB (2009) Antenatal corticosteroids increase fetal, but not postnatal, pulmonary blood flow in sheep. *Pediatr Res*, 66(3):283-288.
- Crowley P, Chalmers I, Keirse MJ (1990) The effects of corticosteroid administration before preterm delivery: an overview of the evidence from controlled trials. *Br J Obstet Gynaecol*, 97(1):11-25.
- Crowther CA, Harding JE (2007) Repeat doses of prenatal corticosteroids for women at risk of preterm birth for preventing neonatal respiratory disease. *Cochrane Database Syst Rev*, (3):CD003935.
- Cudd TA (2008) Animal Models for Studying Fetal Alcohol Syndrome, Alcohol-Related Birth Defects, and Alcohol-Related Neurodevelopmental Disorder. In: *Sourcebook of Models for Biomedical Research*. Conn PM (Hrg.). 1. Aufl., 1. Bd., Humana Press Inc., Totowa, 607.
- Dalence CR, Bowie LJ, Dohnal JC, Farrell EE, Neerhof MG (1995) Amniotic fluid lamellar body count: a rapid and reliable fetal lung maturity test. *Obstet Gynecol*, 86(2):235-239.
- Dalziel SR, Liang A, Parag V, Rodgers A, Harding JE (2004) Blood pressure at 6 years of age after prenatal exposure to betamethasone: follow-up results of a randomized, controlled trial. *Pediatrics*, 114(3):e373-377.
- Dalziel SR, Lim VK, Lambert A, McCarthy D, Parag V, Rodgers A, Harding JE (2005a) Antenatal exposure to betamethasone: psychological functioning and health related quality of life 31 years after inclusion in randomised controlled trial. *Bmj*, 331(7518):665.

-
- Dalziel SR, Walker NK, Parag V, Mantell C, Rea HH, Rodgers A, Harding JE (2005b) Cardiovascular risk factors after antenatal exposure to betamethasone: 30-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet*, 365(9474):1856-1862.
- De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M (1998) Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev*, 19(3):269-301.
- Dean JM, van de Looij Y, Sizonenko SV, Lodygensky GA, Lazeyras F, Bolouri H, Kjellmer I, Huppi PS, Hagberg H, Mallard C (2011) Delayed cortical impairment following lipopolysaccharide exposure in preterm fetal sheep. *Ann Neurol*, 70(5):846-856.
- Demir OI, Obuz F, Sagol O, Dicle O (2007) Contribution of diffusion-weighted MRI to the differential diagnosis of hepatic masses. *Diagn Interv Radiol*, 13(2):81-86.
- Dessens AB, Haas HS, Koppe JG (2000) Twenty-year follow-up of antenatal corticosteroid treatment. *Pediatrics*, 105(6):E77.
- DiFiore JW, Wilson JM (1994) Lung development. *Semin Pediatr Surg*, 3(4):221-232.
- Doyle IR, Nicholas TE, Bersten AD (1999) Partitioning lung and plasma proteins: circulating surfactant proteins as biomarkers of alveolocapillary permeability. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 26(3):185-197.
- Doyle LW, Ford GW, Davis NM, Callanan C (2000) Antenatal corticosteroid therapy and blood pressure at 14 years of age in preterm children. *Clin Sci (Lond)*, 98(2):137-142.
- Doyle LW, Kitchen WH, Ford GW, Rickards AL, Kelly EA (1989) Antenatal steroid therapy and 5-year outcome of extremely low birth weight infants. *Obstet Gynecol*, 73(5 Pt 1):743-746.
- Elimian A, Garry D, Figueroa R, Spitzer A, Wiencek V, Quirk JG (2007) Antenatal betamethasone compared with dexamethasone (betacode trial): a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*, 110(1):26-30.
- Elimian A, Verma U, Canterino J, Shah J, Visintainer P, Tejani N (1999) Effectiveness of antenatal steroids in obstetric subgroups. *Obstet Gynecol*, 93(2):174-179.

-
- Ernfors P (2001) Local and target-derived actions of neurotrophins during peripheral nervous system development. *Cell Mol Life Sci*, 58(8):1036-1044.
- Eventov-Friedman S, Shinwell ES (2008) Current controversies in perinatal steroid therapy. *Acta Paediatr*, 97(11):1492-1501.
- Frank L, Sosenko IR (1987) Development of lung antioxidant enzyme system in late gestation: possible implications for the prematurely born infant. *J Pediatr*, 110(1):9-14.
- Gluck L, Kulovich MV, Borer RC, Jr., Brenner PH, Anderson GG, Spellacy WN (1971) Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol*, 109(3):440-445.
- Gould E (1994) The effects of adrenal steroids and excitatory input on neuronal birth and survival. *Ann N Y Acad Sci*, 743:73-92.
- Gould E, Woolley CS, McEwen BS (1991) Adrenal steroids regulate postnatal development of the rat dentate gyrus: I. Effects of glucocorticoids on cell death. *J Comp Neurol*, 313(3):479-485.
- Hallman M, Arjomaa P, Mizumoto M, Akino T (1988) Surfactant proteins in the diagnosis of fetal lung maturity. I. Predictive accuracy of the 35 kD protein, the lecithin/sphingomyelin ratio, and phosphatidylglycerol. *Am J Obstet Gynecol*, 158(3 Pt 1):531-535.
- Hallman M, Feldman BH, Kirkpatrick E, Gluck L (1977) Absence of phosphatidylglycerol (PG) in respiratory distress syndrome in the newborn. Study of the minor surfactant phospholipids in newborns. *Pediatr Res*, 11(6):714-720.
- Harding R, Hooper SB (1996) Regulation of lung expansion and lung growth before birth. *J Appl Physiol*, 81(1):209-224.
- Henderson-Smart DJ, Lumbiganon P, Festin MR, Ho JJ, Mohammad H, McDonald SJ, Green S, Crowther CA (2007) Optimising reproductive and child health outcomes by building evidence-based research and practice in South East Asia (SEA-ORCHID): study protocol. *BMC Med Res Methodol*, 7:43.
- Hooper SB, Harding R (1995) Fetal lung liquid: a major determinant of the growth and functional development of the fetal lung. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 22(4):235-247.

-
- Howatt WF, Avery ME, Humphreys PW, Normand IC, Reid L, Strang LB (1965) Factors affecting pulmonary surface properties in the foetal lamb. *Clin Sci (Lond)*, 29(2):239-248.
- Ikegami M, Polk D, Jobe A (1996a) Minimum interval from fetal betamethasone treatment to postnatal lung responses in preterm lambs. *Am J Obstet Gynecol*, 174(5):1408-1413.
- Ikegami M, Polk DH, Jobe AH, Newnham J, Sly P, Kohan R, Kelly R (1996b) Effect of interval from fetal corticosteroid treatment to delivery on postnatal lung function of preterm lambs. *J Appl Physiol*, 80(2):591-597.
- Jacobson L, Sapolsky R (1991) The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev*, 12(2):118-134.
- Jenkin G, Jorgensen G, Thorburn GD, Buster JE, Nathanielsz PW (1985) Induction of premature delivery in sheep following infusion of cortisol to the fetus. I. The effect of maternal administration of progestagens. *Can J Physiol Pharmacol*, 63(5):500-508.
- Jobe AH, Newnham J, Willet K, Sly P, Ikegami M (1998a) Fetal versus maternal and gestational age effects of repetitive antenatal glucocorticoids. *Pediatrics*, 102(5):1116-1125.
- Jobe AH, Newnham JP, Moss TJ, Ikegami M (2003) Differential effects of maternal betamethasone and cortisol on lung maturation and growth in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*, 188(1):22-28.
- Jobe AH, Polk DH, Ervin MG, Padbury JF, Rebello CM, Ikegami M (1996) Preterm betamethasone treatment of fetal sheep: outcome after term delivery. *J Soc Gynecol Investig*, 3(5):250-258.
- Jobe AH, Soll RF (2004) Choice and dose of corticosteroid for antenatal treatments. *Am J Obstet Gynecol*, 190(4):878-881.
- Jobe AH, Wada N, Berry LM, Ikegami M, Ervin MG (1998b) Single and repetitive maternal glucocorticoid exposures reduce fetal growth in sheep. *Am J Obstet Gynecol*, 178(5):880-885.
- Johnson A, Townshend P, Yudkin P, Bull D, Wilkinson AR (1993) Functional abilities at age 4 years of children born before 29 weeks of gestation. *Bmj*, 306(6894):1715-1718.

-
- Kasprian G, Del Rio M, Prayer D (2010) Fetal diffusion imaging: pearls and solutions. *Topics in magnetic resonance imaging : TMRI*, 21(6):387-394.
- Katzung BG (2004) *Basic and clinical pharmacology*. 9. Aufl., McGraw-Hill, New York, 641-660.
- Kauffman SL (1977) Acceleration of canalicular development in lungs of fetal mice exposed transplacentally to dexamethasone. *Lab Invest*, 36(4):395-401.
- Keller-Wood M, Wood CE, McCartney J, Jesse NM, Perrone D (2011) A role for mineralocorticoid receptors in the physiology of the ovine fetus: effects on ACTH and lung liquid composition. *Pediatr Res*, 69(6):491-496.
- Kitterman JA, Liggins GC, Campos GA, Clements JA, Forster CS, Lee CH, Creasy RK (1981) Prepartum maturation of the lung in fetal sheep: relation to cortisol. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*, 51(2):384-390.
- Koh DM, Collins DJ (2007) Diffusion-weighted MRI in the body: applications and challenges in oncology. *AJR Am J Roentgenol*, 188(6):1622-1635.
- Laudy JA, Wladimiroff JW (2000) The fetal lung. 1: Developmental aspects. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 16(3):284-290.
- Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Aubin ML, Vignaud J, Laval-Jeantet M (1988) Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging. *Radiology*, 168(2):497-505.
- Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M (1986) MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology*, 161(2):401-407.
- Lee BH, Stoll BJ, McDonald SA, Higgins RD (2006) Adverse neonatal outcomes associated with antenatal dexamethasone versus antenatal betamethasone. *Pediatrics*, 117(5):1503-1510.
- Lee BH, Stoll BJ, McDonald SA, Higgins RD (2008) Neurodevelopmental outcomes of extremely low birth weight infants exposed prenatally to dexamethasone versus betamethasone. *Pediatrics*, 121(2):289-296.
- Lee W, Krisko A, Shetty A, Yeo L, Hassan SS, Gotsch F, Mody S, Goncalves LF, Romero R (2009) Non-invasive fetal lung assessment using diffusion-weighted imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 34(6):673-677.

-
- Levin DL, Rudolph AM, Heymann MA, Phibbs RH (1976) Morphological development of the pulmonary vascular bed in fetal lambs. *Circulation*, 53(1):144-151.
- Leviton A, Dammann O, Allred EN, Kuban K, Pagano M, Van Marter L, Paneth N, Reuss ML, Susser M (1999) Antenatal corticosteroids and cranial ultrasonographic abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*, 181(4):1007-1017.
- Leviton A, Pagano M, Kuban KC (1988) Etiologic heterogeneity of intracranial hemorrhages in preterm newborns. *Pediatr Neurol*, 4(5):274-278.
- Lewis DF, Futayyeh S, Towers CV, Asrat T, Edwards MS, Brooks GG (1996) Preterm delivery from 34 to 37 weeks of gestation: is respiratory distress syndrome a problem? *Am J Obstet Gynecol*, 174(2):525-528.
- Liggins GC (1969) Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. *J Endocrinol*, 45(4):515-523.
- Liggins GC, Howie RN (1972) A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics*, 50(4):515-525.
- Liley HG, White RT, Warr RG, Benson BJ, Hawgood S, Ballard PL (1989) Regulation of messenger RNAs for the hydrophobic surfactant proteins in human lung. *J Clin Invest*, 83(4):1191-1197.
- Loehle M, Schwab M, Kadner S, Maner KM, Gilbert JS, Brenna JT, Ford SP, Nathanielsz PW, Nijland MJ (2010) Dose-response effects of betamethasone on maturation of the fetal sheep lung. *Am J Obstet Gynecol*, 202(2):186.e181-187.
- Lucey JF, Soll RF, Horbar JD (1991) Vermont-Oxford Trial Network. 52 Overlake Park, Burlington, VT 05401.
- MacArthur BA, Howie RN, Dezoete JA, Elkins J (1981) Cognitive and psychosocial development of 4-year-old children whose mothers were treated antenatally with betamethasone. *Pediatrics*, 68(5):638-643.
- MacArthur BA, Howie RN, Dezoete JA, Elkins J (1982) School progress and cognitive development of 6-year-old children whose mothers were treated antenatally with betamethasone. *Pediatrics*, 70(1):99-105.
- Magee LA, Dawes GS, Moulden M, Redman CW (1997) A randomised controlled comparison of betamethasone with dexamethasone: effects

-
- on the antenatal fetal heart rate. *Br J Obstet Gynaecol*, 104(11):1233-1238.
- Manganaro L, Perrone A, Sassi S, Fierro F, Savelli S, Di Maurizio M, Tomei A, Francioso A, La Barbera L, Giancotti A, Ballesio L (2008) Diffusion-weighted MR imaging and apparent diffusion coefficient of the normal fetal lung: preliminary experience. *Prenat Diagn*, 28(8):745-748.
- Mardor Y, Pfeffer R, Spiegelmann R, Roth Y, Maier SE, Nissim O, Berger R, Glicksman A, Baram J, Orenstein A, Cohen JS, Tichler T (2003) Early detection of response to radiation therapy in patients with brain malignancies using conventional and high b-value diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *J Clin Oncol*, 21(6):1094-1100.
- Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ, Menacker F, Munson ML (2003) Births: final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep*, 52(10):1-113.
- Matthews SG (2000) Antenatal glucocorticoids and programming of the developing CNS. *Pediatr Res*, 47(3):291-300.
- McAllister AK (2001) Neurotrophins and neuronal differentiation in the central nervous system. *Cell Mol Life Sci*, 58(8):1054-1060.
- Moawad AH, River LP, Kilpatrick SJ (1982) The effect of estrogen and progesterone on beta-adrenergic receptor activity in rabbit lung tissue. *Am J Obstet Gynecol*, 144(5):608-613.
- Modi N, Lewis H, Al-Naqeeb N, Ajayi-Obe M, Dore CJ, Rutherford M (2001) The effects of repeated antenatal glucocorticoid therapy on the developing brain. *Pediatr Res*, 50(5):581-585.
- Moore RJ, Strachan B, Tyler DJ, Baker PN, Gowland PA (2001) In vivo diffusion measurements as an indication of fetal lung maturation using echo planar imaging at 0.5T. *Magn Reson Med*, 45(2):247-253.
- Moseley ME, Cohen Y, Mintorovitch J, Chileuitt L, Shimizu H, Kucharczyk J, Wendland MF, Weinstein PR (1990) Early detection of regional cerebral ischemia in cats: comparison of diffusion- and T2-weighted MRI and spectroscopy. *Magn Reson Med*, 14(2):330-346.
- Moss TJ, Nitsos I, Knox CL, Polglase GR, Kallapur SG, Ikegami M, Jobe AH, Newnham JP (2009) Ureaplasma colonization of amniotic fluid and efficacy of antenatal corticosteroids for preterm lung maturation in sheep. *Am J Obstet Gynecol*, 200(1):96 e91-96.

-
- Muneoka K, Mikuni M, Ogawa T, Kitera K, Kamei K, Takigawa M, Takahashi K (1997) Prenatal dexamethasone exposure alters brain monoamine metabolism and adrenocortical response in rat offspring. *Am J Physiol*, 273(5 Pt 2):R1669-1675.
- Neil JJ, Ackerman JJH (1992) Detection of pseudodiffusion in rat brain following blood substitution with perfluorocarbon. *Journal of Magnetic Resonance* (1969), 97(1):194-201.
- NIH1994 (1995) Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. NIH Consensus Development Panel on the Effect of Corticosteroids for Fetal Maturation on Perinatal Outcomes. *Jama*, 273(5):413-418.
- NIH2000 (2001) Antenatal corticosteroids revisited: repeat courses - National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement, August 17-18, 2000. *Obstet Gynecol*, 98(1):144-150.
- Nimrod C, Davies D, Iwanicki S, Harder J, Persaud D, Nicholson S (1986) Ultrasound prediction of pulmonary hypoplasia. *Obstet Gynecol*, 68(4):495-498.
- NNF5. 2006. The Neonatal Formulary (NNF5). Oxford: BMJ Books/ Blackwell. [Online in Internet.] URL: <http://www.blackwellpublishing.com/medicine/bmj/nnf5/drugs.asp> [Stand: 24. Oktober 2011].
- O'Shea TM, Kothadia JM, Roberts DD, Dillard RG (1998) Perinatal events and the risk of intraparenchymal echodensity in very-low-birthweight neonates. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 12(4):408-421.
- Padhani AR, Liu G, Koh DM, Chenevert TL, Thoeny HC, Takahara T, Dzik-Jurasz A, Ross BD, Van Cauteren M, Collins D, Hammoud DA, Rustin GJ, Taouli B, Choyke PL (2009) Diffusion-weighted magnetic resonance imaging as a cancer biomarker: consensus and recommendations. *Neoplasia*, 11(2):102-125.
- Pekar J, Moonen CT, van Zijl PC (1992) On the precision of diffusion/perfusion imaging by gradient sensitization. *Magn Reson Med*, 23(1):122-129.
- Pinkerton KE, Willet KE, Peake JL, Sly PD, Jobe AH, Ikegami M (1997) Prenatal glucocorticoid and T4 effects on lung morphology in preterm lambs. *Am J Respir Crit Care Med*, 156(2 Pt 1):624-630.

-
- Planer BC (1996) Use of antenatal corticosteroids in USA (ABST 576). *Am J Obstet Gynecol*, 174(1):467.
- Polglase GR, Nitsos I, Jobe AH, Newnham JP, Moss TJ (2007) Maternal and intra-amniotic corticosteroid effects on lung morphometry in preterm lambs. *Pediatr Res*, 62(1):32-36.
- Polk DH, Ikegami M, Jobe AH, Sly P, Kohan R, Newnham J (1997) Preterm lung function after retreatment with antenatal betamethasone in preterm lambs. *Am J Obstet Gynecol*, 176(2):308-315.
- Post M, Smith BT (1992) Hormonal control of surfactant metabolism. In: *Pulmonary surfactant*. Robertson B, Van Golde LMG, Batenburg JJ (Hrg.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 379-424.
- Pringle KC (1986) Human fetal lung development and related animal models. *Clin Obstet Gynecol*, 29(3):502-513.
- Ragosch V (2004) Klinische Maßnahmen bei imminenter oder geplanter Frühgeburt. In: *Die Geburtshilfe*. Schneider H, Husslein P, Schneider KTM (Hrg.). 2. Aufl., Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 489-497.
- Ragosch V, Weitzel H (1995) Derzeitiger Stand der Lungenreifeinduktion zur Vermeidung eines neonatalen Atemnotsyndroms. *Der Gynäkologe*, 28(3):203-210.
- Reynolds EO, Jacobson HN, Motoyama EK, Kikkawa Y, Craig JM, Orzalesi MM, Cook CD (1965) The Effect of Immaturity and Prenatal Asphyxia on the Lungs and Pulmonary Function of Newborn Lambs: The Experimental Production of Respiratory Distress. *Pediatrics*, 35:382-392.
- Roberts D, Dalziel S (2006) Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*, 3:CD004454.
- Robertson B (1993) Corticosteroids and surfactant for prevention of neonatal RDS. *Ann Med*, 25(3):285-288.
- Rotmensch S, Liberati M, Vishne TH, Celentano C, Ben-Rafael Z, Bellati U (1999) The effect of betamethasone and dexamethasone on fetal heart rate patterns and biophysical activities. A prospective randomized trial. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 78(6):493-500.

-
- Saengwaree P, Liabsuetrakul T (2005) Changing physician's practice on antenatal corticosteroids in preterm birth. *J Med Assoc Thai*, 88(3):307-313.
- Saigal S, Doyle LW (2008) An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *Lancet*, 371(9608):261-269.
- Scheid P (2005) Atmung. In: *Physiologie*. Klinker R, Pape H-C, Silbernagl S (Hrg.). 5. Aufl., Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, 255-310.
- Schmand B, Neuvel J, Smolders-de Haas H, Hoeks J, Treffers PE, Koppe JG (1990) Psychological development of children who were treated antenatally with corticosteroids to prevent respiratory distress syndrome. *Pediatrics*, 86(1):58-64.
- Schneider H, Helmer H (2011) Frühgeburt: pränatale und intrapartale Aspekte. In: *Die Geburtshilfe*. Schneider H, Husslein P, Schneider K-TM (Hrg.). 4. Aufl., Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 513-556.
- Schwab M, Coksaygan T, Samtani MN, Jusko WJ, Nathanielsz PW (2006) Kinetics of betamethasone and fetal cardiovascular adverse effects in pregnant sheep after different doses. *Obstet Gynecol*, 108(3 Pt 1):617-625.
- Smolders-de Haas H, Neuvel J, Schmand B, Treffers PE, Koppe JG, Hoeks J (1990) Physical development and medical history of children who were treated antenatally with corticosteroids to prevent respiratory distress syndrome: a 10- to 12-year follow-up. *Pediatrics*, 86(1):65-70.
- Sorensen A, Holm D, Pedersen M, Tietze A, Stausbol-Gron B, Duus L, Ulbjerg N (2011) Left-right difference in fetal liver oxygenation during hypoxia estimated by BOLD MRI in a fetal sheep model. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 38(6):665-672.
- Stejskal EO, Tanner JE (1965) Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *Journal of Chemical Physics*, 42(1):288-292.
- Subtil D, Tiberghien P, Devos P, Therby D, Leclerc G, Vaast P, Puech F (2003) Immediate and delayed effects of antenatal corticosteroids on fetal heart rate: a randomized trial that compares betamethasone acetate and phosphate, betamethasone phosphate, and dexamethasone. *Am J Obstet Gynecol*, 188(2):524-531.

-
- Takahashi LK (1998) Prenatal stress: consequences of glucocorticoids on hippocampal development and function. *Int J Dev Neurosci*, 16(3-4):199-207.
- Taouli B, Koh DM (2010) Diffusion-weighted MR imaging of the liver. *Radiology*, 254(1):47-66.
- Thoeny HC, De Keyzer F (2007) Extracranial applications of diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Eur Radiol*, 17(6):1385-1393.
- Thoeny HC, Ross BD (2010) Predicting and monitoring cancer treatment response with diffusion-weighted MRI. *J Magn Reson Imaging*, 32(1):2-16.
- Trotter A, Maier L, Grill HJ, Kohn T, Heckmann M, Pohlandt F (1999) Effects of postnatal estradiol and progesterone replacement in extremely preterm infants. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(12):4531-4535.
- Uno H, Eisele S, Sakai A, Shelton S, Baker E, DeJesus O, Holden J (1994) Neurotoxicity of glucocorticoids in the primate brain. *Horm Behav*, 28(4):336-348.
- Uno H, Lohmiller L, Thieme C, Kemnitz JW, Engle MJ, Roecker EB, Farrell PM (1990) Brain damage induced by prenatal exposure to dexamethasone in fetal rhesus macaques. I. Hippocampus. *Brain Res Dev Brain Res*, 53(2):157-167.
- Vermillion ST, Soper DE, Newman RB (2001) Is betamethasone effective longer than 7 days after treatment? *Obstet Gynecol*, 97(4):491-493.
- Vidaeff AC, Ramin SM, Gilstrap LC, 3rd, Alcorn JL (2004) In vitro quantification of dexamethasone-induced surfactant protein B expression in human lung cells. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*, 15(3):155-159.
- Walther FJ, David-Cu R, Mehta EI, Polk DH, Jobe AH, Ikegami M (1996) Higher lung antioxidant enzyme activity persists after single dose of corticosteroids in preterm lambs. *Am J Physiol*, 271(2 Pt 1):L187-191.
- Wapner R, Jobe AH (2011) Controversy: antenatal steroids. *Clin Perinatol*, 38(3):529-545.

-
- Wedegartner U, Kooijman H, Andreas T, Beindorff N, Hecher K, Adam G (2010) T2 and T2* measurements of fetal brain oxygenation during hypoxia with MRI at 3T: correlation with fetal arterial blood oxygen saturation. *Eur Radiol*, 20(1):121-127.
- Weinstock M (1997) Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? *Neurosci Biobehav Rev*, 21(1):1-10.
- Wheeler-Kingshott CA, Thomas DL, Lythgoe MF, Guilfoyle D, Williams SR, Doran SJ (2000) Burst excitation for quantitative diffusion imaging with multiple b-values. *Magn Reson Med*, 44(5):737-745.
- Willet KE, Jobe AH, Ikegami M, Newnham J, Brennan S, Sly PD (2000) Antenatal endotoxin and glucocorticoid effects on lung morphometry in preterm lambs. *Pediatr Res*, 48(6):782-788.
- Wright C, Sibley CP, Baker PN (2010) The role of fetal magnetic resonance imaging. *Archives of Disease in Childhood Fetal & Neonatal Edition*, 95(2):F137-F141.
- Zeltner TB, Bertacchini M, Messerli A, Burri PH (1990) Morphometric estimation of regional differences in the rat lung. *Experimental lung research*, 16(2):145-158.

8. Danksagung

Ich möchte allen danken, die mir bei der Realisierung dieser Arbeit geholfen haben.

Bei Frau Prof. Dr. med. Ulrike Wedegärtner möchte ich mich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichneten Möglichkeiten, es zu bearbeiten, bedanken.

Vielen Dank an den Klinikdirektor, Prof. Dr. med. Gerhard Adam, für die Unterstützung unserer Arbeitsgruppe.

Frau Dr. med. Chressen Remus (geb. Much) danke ich für ihre großzügige Hilfsbereitschaft und Geduld, die sie mir trotz ihrer weiteren klinischen und wissenschaftlichen Aufgaben, entgegenbrachte. Ohne die Mitarbeit von PD Dr. med. Jin Yamamura und Dr. med. Björn Schönengel wäre das Projekt nicht durchführbar gewesen; vielen Dank.

Besonderer Dank gilt auch der gesamten Arbeitsgruppe (vor allem Thomas Andreas und Anne Groth) für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, viele wertvolle Anregungen und stete Hilfsbereitschaft, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Vielen Dank auch an die Versuchstierhaltung für die artgerechte Betreuung der Tiere und den MTAs der radiologischen Abteilungen des UKE für die Geduld mit unserer Arbeitsgruppe.

Bedanken möchte ich mich schließlich auch bei meiner Mutter und meinen Geschwistern, die mich während des gesamten Studiums unterstützt haben und mir stets zur Seite standen.

9. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

(Anne-Kathrin Schätzle)