

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Experimentelle Feto-Maternale Medizin
Klinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. Kurt Hecher

Einfluss von psychosozialem Stress auf maternale T-Zellen und T-Zell-spezifische Glucocorticoid-Sensitivität in der humanen Schwangerschaft

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Eva Ludwigs
aus Leipzig

Hamburg 2016

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 15.11.2017**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Petra Arck

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Christian Krebs

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. Hans-Willi Mittrücker

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	5
1.1	Einführung	5
1.2	Stress während der Schwangerschaft	6
1.2.1	Definition von Stress	6
1.2.2	Pränataler Stress, Schwangerschaftskomplikationen und fetale Programmierung	7
1.2.3	Psychosoziale und soziodemographische Einflussfaktoren	10
1.3	Die Adaptationen des Immunsystems an die Schwangerschaft	11
1.3.1	Fetomaternaler Kontakt und fetale Abwehrmechanismen	12
1.3.2	Periphere T-Zell-Lymphozyten	14
1.3.3	Störungen der maternalen T-Zell-Anpassung und Schwangerschaftskomplikationen	18
1.4	Die Hypophysen-Hypothalamus-Nebennierenrindenachse (HHNA) und Schwangerschaft	20
1.4.1	HHNA-Adaptationen in der Schwangerschaft	23
1.4.2	Epidemiologie assoziierter Schwangerschaftskomplikationen	24
1.5	Hypothese/Fragestellung	26
2	MATERIAL UND METHODEN	27
2.1	Studienplanung	27
2.2	Material und Methoden	29
2.2.1	Unabhängige Gruppenvariable: Erfassung von wahrgenommenem Stress	29
2.2.2	Erfassung psychosozialer und soziodemographischer Einflussfaktoren	31
2.2.3	Abhängige Variable/Outcome-Parameter: Schwangerschaftsergebnis	33
2.2.4	Durchflusszytometrische Analysen	34
2.2.5	PBMC-Isolierung	37
2.2.6	T-Zell-Proliferationsassays	39
2.3	Statistische Analyse	41
3	ERGEBNISSE	43
3.1	Beschreibung der Gesamtstichprobe und Vergleich zur Hamburger Bevölkerung	43

3.2	Überprüfung der Gruppeneinteilung und Gruppenvergleich wahrgenommener Stress	47
3.3	Durchflusszytometrische Analysen.....	49
3.4	Analyse der T-Zell-Proliferationsassays	55
3.5	Einfluss von pränatalem Stress auf das Schwangerschaftsergebnis	59
4	DISKUSSION.....	62
4.1	Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse.....	62
4.1.1	Auswahl und Beschreibung der Studienpopulation und Vergleich zur Hamburger Bevölkerung.....	62
4.1.2	Erfassung von wahrgenommenem Stress während der Schwangerschaft.....	64
4.1.3	Kontrolle soziodemographischer und psychometrischer Einflussfaktoren.....	66
4.1.4	Kein Stress-assoziiertes Unterscheid der T-Zell-Frequenzen	68
4.1.5	Verminderte GC-Resistenz von T-Zellen unter pränatalem Stress-einfluss	71
4.1.6	Stress zeigte keinen Einfluss auf das Schwangerschaftsergebnis	75
4.2	Stärken und Limitierungen des Studienaufbaus.....	77
4.3	Ausblick.....	78
5	ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY.....	80
6	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	82
7	LITERATURVERZEICHNIS	84
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	98
9	TABELLENVERZEICHNIS.....	101
10	PATIENTENAUFKLÄRUNG UND EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG	102
11	FRAGEBÖGEN.....	109
12	DANKSAGUNG.....	118
13	LEBENS LAUF.....	119
14	EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	120

1 EINLEITUNG

1.1 Einführung

“Since the dawn of time, organisms have been subject to evolutionary pressure from the environment. The ability to respond to environmental threats or stressors such as predation or natural disaster enhanced survival and therefore reproductive capacity (...).” (zit. aus Segerstrom & Miller 2004: S. 1, Z.1-6)

Die Schwangerschaft stellt eine einzigartige Herausforderung für das mütterliche Immunsystem dar, da es immunologische Toleranz gegenüber dem Fötus entwickeln muss, der als semi-allogen bezeichnet werden kann aufgrund der Expression von paternalen Antigenen (Ag) (Arck & Hecher 2013; Billington 2003). Eine zentrale Rolle bei der mütterlichen Immunanpassung spielen T-Zellen. Vor allem regulatorische T-Zellen (Treg) wurden als bedeutend identifiziert, da sie in der Lage sind, regulatorisch Immunantworten von Effektor-T-Zellen gegen fetale Antigene zu supprimieren und somit eine Abstoßung zu verhindern (Alijotas-Reig et al. 2014; Aluvihare et al. 2004). Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass das Erleben von Stress zu einer ineffizienten Immunanpassung an die Schwangerschaft führen kann. Dies kann zu Frühgeburtlichkeit, Spontanabort sowie auch zu Schwangerschafts-spezifischen Erkrankungen wie Präeklampsie führen (Dunkel Schetter 2011; Hobel et al. 2008). Auch eine beeinträchtigte Entwicklung des Fetus mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre, immunologische und psychiatrische Erkrankungen im Kindes- sowie im späteren Erwachsenenalter kann die Folge sein (Knackstedt et al. 2005; Solano et al. 2011). Zentral in der Stressverarbeitung ist die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHNA). Auch diese und die damit zusammenhängende Stressantwort zeigen schwangerschaftsspezifische Veränderungen auf, was ebenso Auswirkungen auf die Glucocorticoid (GC)-Sensitivität von verschiedenen Zellen und Geweben hat (Wadhwa 2005; Weinstock 2005). Die genauen Mechanismen der Stressvermittlung auf das Immunsystem bleiben jedoch weiterhin nicht vollständig verstanden. Diese Arbeit soll den Zusammenhang zwischen wahrgenommenem maternalen Stress, Frequenzen verschiedener T-Zell-Phänotypen und der GC-Sensitivität von T-Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft untersuchen. Inwiefern dies Auswirkungen auf den Erfolg der Schwangerschaft hat, wird ebenfalls eruiert.

1.2 Stress während der Schwangerschaft

1.2.1 Definition von Stress

“Everybody knows what stress is and nobody knows what it is“ (zit. aus Selye 1973: S.1, Z.1)

Auch wenn unsere heutige Gesellschaft komplexer geworden ist und Anforderungen in vielerlei Hinsicht gestiegen sind, haben sich unsere Bewältigungsmechanismen, mit den Widrigkeiten des Lebens umzugehen, in den letzten Jahrtausenden nicht signifikant weiterentwickelt (Chrousos & Gold 1992; Chrousos 2009). Bis heute gibt es keine einheitliche Definition und konzeptionelle Operationalisierung von Stress (Seegerstrom & Miller 2004). Allgemein wird Stress jedoch als Zustand der Disharmonie oder auch als Bedrohung der Homöostasis definiert (Chrousos & Gold 1992). Charakteristisch ist eine Abfolge aus dem Stressor, dem Stimulus oder Stressfaktor, sowie der Stressreaktion, welche durch diesen ausgelöst wird. Die adaptive Stressantwort kann spezifisch auf einen Stressor oder generalisiert und unspezifisch sein. Es erfolgt eine Anpassung der Stressreaktion bei persistierender Präsenz des Stressors (Pschyrembel 2004). Hans Selye beschrieb Stress schon früh als „unspezifische Antwort des Körpers auf jegliche sich ihm stellende Anforderungen“ (zitiert und frei übersetzt aus: Selye 1976: S. 137, Z. 1). Lazarus und Folkman erweiterten den Stressbegriff um die zentrale Rolle der kognitiven Bewertung (Appraisal) und Bewältigung (Coping) von physiologischem Stress (Lazarus & Folkman 1984). Eine Bewertung des Stressors und der eigenen Ressourcen zur Aufrechterhaltung der Homöostasis ist nötig. Nach Cohen ist objektives Stressempfinden daher nicht nur durch Qualität und Intensität des Stressors bestimmt, sondern auch durch die subjektive Einschätzung der empfundenen Belastung (Cohen et al. 1983). Eine ungenügende Adaptation ist nach ihm zumeist Folge einer Diskrepanz zwischen Stressor und vorhandenen Bewältigungsmechanismen. Sterling erweitert den Homöostase-Begriff um das dynamischere Allostase-Konzept, welches physiologische und psychologische Adaptationen beschreibt, die die Aufrechterhaltung von Stabilität auch bei zukünftigen Belastungen zulässt. Dies gewährleistet eine größere Variabilität sich an ändernde Bedingungen anzupassen, fordert aber auch mehr Ressourcen. Eine dauerhafte allostatische Aktivierung wird als allostatische Last bzw. Überlast („allostatic load“) bezeichnet (Sterling 2012).

Eine Adaptation an akute Stresssituationen ist nötig zur Aufrechterhaltung der physischen und psychischen Homöostasis. Dysfunktionen des Stresssystems und chronische Stressexposition können Wachstum, Verhalten und Metabolismus negativ beeinflussen, was potentiell zu zahlreichen akuten und chronischen Funktionsstörungen führen kann (Chrousos 2009). Gerade die Lebensumstände und der Lebensstil unserer heutigen Zeit scheinen besonders prädestiniert zu sein für die Entwicklung von Stress-assoziierten Erkrankungen wie Übergewicht, Diabetes mellitus Typ II, arterielle Hypertonie, Autoimmunerkrankungen und allergische Dispositionen sowie Angst-, Schlaf- und affektive Störungen wie Depression. All diese sind multifaktoriell und weisen eine hohe Komorbidität auf (Chrousos 2004; Chrousos 2009).

In dieser Arbeit sollen jedoch vor allem die Interaktionen zwischen Stress und dem Immunsystem im Fokus stehen. Lange Zeit wurde Stress eine globale immunsuppressive Wirkung zugeschrieben (Seegerstrom & Miller 2004). Dhabhar und McEwen erweiterten dies jedoch um ein biphasisches Modell, in welchem akuter Stress zu einer Steigerung, chronischer Stress dagegen zu einer Suppression des Immunsystems führt (Dhabhar & McEwen 1997). Angenommen wurde, dass verminderte Immunantworten für eine erhöhte Inzidenz von Infektions- und neoplastischen Erkrankungen unter chronisch gestressten Individuen verantwortlich seien. Gleichzeitig zeigten sich jedoch auch Krankheitsbilder assoziiert mit chronischen Stresszuständen, die mit einer Immunüberreaktivierung einhergingen, wie allergische und Autoimmunerkrankungen. So wird heute angenommen, dass Stress simultan zu einer Verstärkung und Suppression von Immunantworten durch Veränderung bzw. Verschiebung von Zytokinsekretionsmustern und zu einer Beeinflussung der Proliferation von regulatorischen T-Zellen führt (Dhabhar 2009; Dhabhar & McEwen 1997). Beide Systeme spielen auch in der Schwangerschaft eine unabdingbare Rolle.

1.2.2 Pränataler Stress, Schwangerschaftskomplikationen und fetale Programmierung

Organismen sind am anfälligsten gegenüber Umgebungseinflüssen in Phasen rapiden Wachstums und in der humanen Schwangerschaft findet die Zellteilung in utero in höherer Geschwindigkeit statt als bei jeder anderen tierischen Spezies (Wadhwa 2005). Die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft sowie die daraus

resultierende embryonale und fetale Entwicklung sind dementsprechend ein Zeitfenster außerordentlicher Vulnerabilität und Sensitivität gegenüber äußeren Einflüssen (Knackstedt et al. 2005; Nathanielsz 1999).

Hohe Stressbelastung scheint über das letzte Jahrhundert eine zunehmende Bedrohung für die Gesellschaft geworden zu sein. Arbeitsstress und intensiveres Karrierestreben sind vor allem für Frauen ausgeprägter geworden und führen zu einer erhöhten Stressbelastung, insbesondere auch während der Schwangerschaft (Knackstedt et al. 2005). Die Anzahl von Frauen, die während ihrer reproduktiven Periode in leitenden Positionen arbeiten, steigt stetig (Arck 2001). Solch eine pränatale Stressexposition moduliert maternale endokrine und Immunantworten während der Schwangerschaft (Solano et al. 2011) und kann die Gesundheit des wachsenden Fetus beeinflussen (Knackstedt et al. 2005; Nathanielsz 1999).

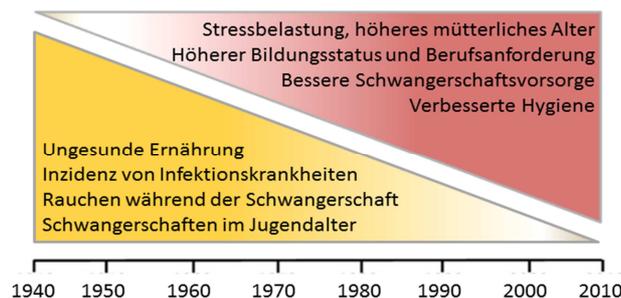


Abbildung 1: Veränderungen der äußeren Einflussfaktoren in westlichen Gesellschaften, welchen Frauen im reproduktiven Alter über die letzten Jahrzehnte ausgesetzt waren und sind. Quelle: in Anlehnung an M. E. Solano et al./Journal of Reproductive Immunology 90 (2011) 3-8, adaptiert und frei übersetzt (Solano et al. 2011).

Spontanaborte, Frühgeburtlichkeit (<37.Schwangerschaftswoche, SSW) und erniedrigtes Geburtsgewicht ($\leq 2500\text{g}$) sind die häufigsten negativen Schwangerschaftsausgänge (Arck 2001; Christian 2012), verbunden mit einer höheren Hospitalisationsrate und größerer perinataler Morbidität und Mortalität (Hobel et al. 2008). Zahlreiche epidemiologische Studien und Geburtskohorten konnten eindeutige Zusammenhänge von maternalem Stress und dem Auftreten dieser negativen Schwangerschaftsverläufe aufzeigen (Arck 2001; Dunkel Schetter 2011; Hobel et al. 2008; O'Hare & Creed 1995).

Niedriges Geburtsgewicht ist mit vielen langfristigen Gesundheitskonsequenzen des Kindes verbunden, allen voran kardiovaskuläre Erkrankungen (Barker 2006;

Osmond & Barker 2000; Solano et al. 2011; Wadhwa 2005). Die Inzidenz von Frühgeburtlichkeit und niedrigem Geburtsgewicht ist oftmals assoziiert (Weinstock 2005), jedoch können auch termingerecht geborene Kinder ein verringertes Gewicht haben abhängig von der fetalen Wachstumsrate während der Schwangerschaft. Ein erhöhtes Risiko für niedriges Geburtsgewicht zeigte sich vor allem in Zusammenhang mit dem Auftreten von belastenden Lebensereignissen („stressful life events“), wie z.B. dem Verlust eines Familienmitglieds oder dem Verlust des Arbeitsplatzes (Hobel et al. 2008). Wadhwa et al. beschrieben eine 55g-Reduktion des Geburtsgewichts mit jeder Einheit an auftretenden Lebensereignissen (Wadhwa et al. 1993). Auch chronischer pränataler Stress zeigte ein 2-3fach erhöhtes relatives Risiko für erniedrigtes Geburtsgewicht (Borders et al. 2007) und ist ein Prädiktor für eine verkürzte Gestationsdauer (Dunkel Schetter 2011). Gravierende Lebensereignisse sind verbunden mit einem 1,5-2fach erhöhten relativen Risiko für Frühgeburtlichkeit (Dunkel Schetter 2011). Ebenso zeigen sich stressbelastete Lebensereignisse in den vorangegangenen 3 Monaten assoziiert zu Fehlgeburten (O’Hare & Creed 1995). Vor allem auch unter Frauen, die erhöhtem arbeitsassoziiertem psychologischem Stress ausgesetzt waren, kam es zu einem vermehrten Auftreten von Spontanaborten (Fenster et al. 1995; Knackstedt et al. 2005). Stress führt nicht zwangsläufig zu Fehlgeburten, kann aber auch zu Schwangerschafts-assoziierten Erkrankungen führen. Beanspruchung durch zu hohe Arbeitsbelastung während der ersten 20 Schwangerschaftswochen (SSW) erhöht das Risiko für Präeklampsie und Gestationshypertonie (Marcoux et al. 1999; Triche & Hossain 2007), welche wiederum Frühgeburtlichkeit und erniedrigtes Geburtsgewicht zur Folge haben können.

Pränataler Stress und fetale Adaptationen an Bedingungen in utero beeinflussen jedoch nicht nur die Gesundheit des Fetus vor der Geburt, sondern scheinen auch entscheidend für das Krankheitsrisiko des Kindes im späteren Leben zu sein (Gluckman et al. 2008; Solano et al. 2011). Dies wird bezeichnet als fetale Programmierung (Knackstedt et al. 2005; Wadhwa 2005). Häufigste Folge sind kardiovaskuläre und metabolische Erkrankungen wie arterielle Hypertonie, Koronare Herzerkrankung und Diabetes mellitus Typ-II (Barker 2006; Cottrell & Seckl 2009; Osmond & Barker 2000; Solano et al. 2011; Wadhwa 2005), jedoch auch eine beeinträchtigte Entwicklung des Nervensystems mit Entwicklungs-

Aufmerksamkeits- und Verhaltensstörungen im Kindesalter (Wadhwa 2005; Weinstock 2005) sowie affektive Störungen oder Schizophrenie im Erwachsenenalter (Kinney et al. 2010; Kinsella & Monk 2009). Es scheint aber auch Einflüsse auf die Entwicklung des fetalen Immunsystems zu geben. Studien zeigen mehr und mehr den Zusammenhang zwischen pränataler Stressbelastung und dem erhöhten Risiko, chronische immunassoziierte Erkrankungen wie Allergien und Asthma zu entwickeln (Arck & Hecher 2013; Pincus et al. 2010; Sausenthaler et al. 2009; Solano et al. 2011).

Zwei Stressfaktoren haben sich als entscheidend für das Auftreten von negativen Schwangerschaftsereignissen herauskristallisiert: Zeitpunkt und subjektive Bewertung des Stressors. Messungen der subjektiven Stresswahrnehmung und -bewertung zeigten sich stärker assoziiert mit negativen Schwangerschaftsergebnissen als quantitative Messungen potentiell stressbehafteter Ereignisse oder Umstände (Hobel et al. 2008; Wadhwa 2005). Des Weiteren gibt es zahlreiche Nachweise, dass Frauen mit fortschreitender Schwangerschaft weniger sensitiv für Stressstimuli werden und die vulnerabelste Phase der Schwangerschaft das erste Trimenon darstellt (Hobel et al. 2008). Deswegen konzentriert sich diese Arbeit vor allem auf die Exposition von subjektiv wahrgenommenem Stress während der Schwangerschaft mit dem Fokus auf das erste Schwangerschaftsdrittel.

1.2.3 Psychosoziale und soziodemographische Einflussfaktoren

Neben Stress gibt es noch viele weitere Faktoren, die Einfluss auf das Schwangerschaftsergebnis bzw. auf das mütterliche Stressempfinden haben können. Zu den Störfaktoren, die prädiktiv vor allem für das Geburtsgewicht des Kindes sind, zählen das maternale Alter, der Body-Mass-Index der Mutter und soziokulturelle Faktoren wie Bildungsstatus, Ethnizität, Lebensführung und Rauchen (Wadhwa 2005). Der Anteil am Auftreten von erniedrigtem Geburtsgewicht und Frühgeburtlichkeit ist besonders hoch unter kulturellen Subgruppen mit Migrationshintergrund und niedrigem Bildungsstatus. Gleichzeitig ist die Rate an Arbeitslosigkeit, häuslicher Gewalt und Alkohol- und Drogenabusus erhöht, sodass auch das subjektive Stressempfinden eine 3-4fache Steigerung aufweist (Dunkel Schetter 2011). Während Stress einen aktuellen Zustand darstellt ('state'), gibt es auch Persönlichkeitsmerkmale ('traits'), z.B. Neuro-

tizismus, die Einfluss auf das Stressempfinden und Coping-Verhalten haben (Paarlberg et al. 1995). Stärkere persönliche Ressourcen und soziale Unterstützung zeigten sich assoziiert mit höherem Geburtsgewicht und längerer Gestationsdauer (Wadhwa 2005), höherer wahrgenommener psychosozialer Stress wiederum mit fehlenden Beziehungen und sozialen Kontakten (Hobel et al. 2008; O'Hare & Creed 1995). All diese Faktoren wurden in dieser Arbeit bedacht und als Störfaktoren kontrolliert.

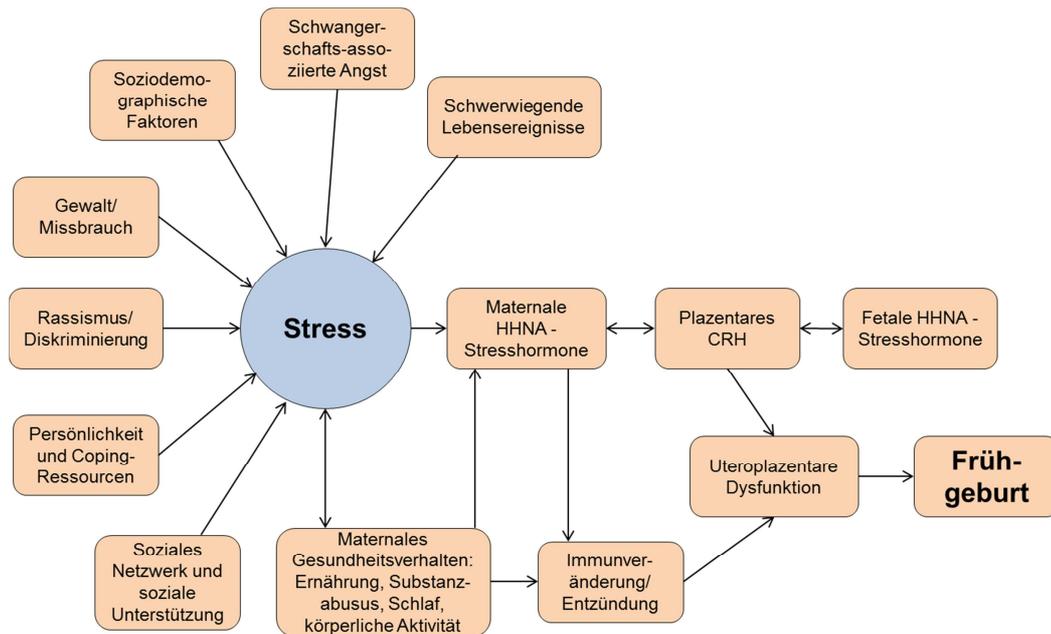


Abbildung 2: Stress und andere soziodemographische und psychometrische Einflussfaktoren während der Schwangerschaft. Quelle: in Anlehnung an Masho & Cha/ Preterm birth 2013, adaptiert und frei übersetzt (Masho & Cha 2013), modifiziert nach Dunkel Schetter (Dunkel Schetter 2011), HHNA – Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, CRH - Corticotropin-releasing-Hormon.

1.3 Die Adaptationen des Immunsystems an die Schwangerschaft

“The immunological problem of pregnancy may be formulated thus: how does the pregnant mother contrive to nourish within itself, for many weeks or months, a foetus that is an antigenically foreign body? Peter Medawar“ (zit. aus Billington 2003: S. 2, Z. 13-15)

Immunantworten spielen eine unabdingbare Rolle in vielseitigen Prozessen der Reproduktion. So auch während der Schwangerschaft, wenn das mütterliche Immunsystem immunologische Toleranz gegenüber durch den Fetus exprimierten paternalen Antigenen entwickeln muss, um eine Abstoßungsreaktion des sich

entwickelnden Kindes zu verhindern. Medawar prägte den Grundbegriff des „fetal allograft“ 1953, um die immunologische Beziehung zwischen Mutter und Fetus zu beschreiben (Billington 2003; Medawar 1953). Lange wurde angenommen, dass sich der Fetus unbemerkt vom mütterlichen Immunsystem entwickelt. Viele Studien der letzten Jahrzehnte haben aber gezeigt, dass es durchaus zu einer Aktivierung des mütterlichen Immunsystems kommt, sich aber bestimmte Mechanismen entwickeln, die die aktive immunologische Toleranz des Fetus erlauben (Billington 2003; Veenstra van Nieuwenhoven 2003). Diese immunologischen Mechanismen finden sowohl an der fetomaternalen Verbindungsstelle, der Plazenta, als auch im peripheren Blut der Mutter statt. Nicht zuletzt hat auch der sich entwickelnde Fetus selbst Abwehrmechanismen, um sich vor einer Abstoßung zu schützen.

1.3.1 Fetomaternaler Kontakt und fetale Abwehrmechanismen

Die Plazenta stellt, neben ihrer Aufgabe der Produktion wichtiger Schwangerschaftshormone wie dem Chorion-Gonadotropin (HCG) und dem etwa ab dem zweiten Trimenon Schwangerschafts-erhaltenden Progesteron, den entscheidenden fetomaternalen Kontakt dar, da dort die Implantation in mütterliches Gewebe erfolgt und die weitere Zellteilung und –differenzierung sowie auch die Nährstoff- und Sauerstoffversorgung des Fetus stattfinden muss (Veenstra van Nieuwenhoven 2003). Entsteht nach Einnistung der Blastozyste im Uterus unterscheidet man den mütterlichen Anteil, die Dezidua, und den fetalen Anteil, die Chorionplatte. Der dazwischen liegende intervillöse Raum ist mit mütterlichem Blut gefüllt, welches die Chorionzotten umspült. Die äußerste Schicht der Blastozyste sind Trophoblastenzellen, bestehend aus den villösen Zytotrophoblasten, sich aktiv teilenden Trophoblasten, welche in den Villi verbleiben, den darauf folgenden Synzytiotrophoblasten, welche im maternalen Blut kreisen und in engen Kontakt mit maternalen peripheren Leukozyten kommen, und schließlich den extravillösen Zytotrophoblasten, welche in die mütterliche Dezidua und Myometrium wandern und das Endothel der Spiralarterien ersetzen (Trowsdale & Betz 2006). Der Trophoblast ist somit das erste fetale Gewebe, welches mit dem mütterlichen Immunsystem in Berührung kommt und dadurch einer Immunabwehr ausgesetzt ist. Die am häufigsten vorkommenden Zellen in der maternalen Dezidua sind NK-Zellen (natural killer cells, natürliche Killerzellen), T-Lymphozyten und Makrophagen, wobei NK-Zellen mit 70% die Hauptpopulation ausmachen, T-

Zellen etwa 10% (Tabiasco et al. 2006; Trowsdale & Betz 2006). Die Verbindung des Embryos mit der Plazenta erfolgt über die Nabelschnur (Veenstra van Nieuwenhoven 2003).

Humane Trophoblasten-Zellen, die in Kontakt mit mütterlichen Immunzellen stehen, exprimieren keine klassischen MHC-Ia-Moleküle HLA-A und HLA-B, welche für die schnelle Abstoßung des Fetus verantwortlich sind, und werden somit nicht von T-Zellen als fremd erkannt (Clark et al. 2010; Trowsdale & Betz 2006; Veenstra van Nieuwenhoven 2003). Das hochpolymorphe MHC-Molekül (major histocompatibility complex, Haupthistokompatibilitätskomplex), beim Menschen auch als human leucocyten antigen (HLA) bezeichnet, ist verantwortlich für die Unterscheidung des Immunsystems zwischen Eigen und Fremd. T-Lymphozyten sind im Gegensatz zu B-Lymphozyten nicht in der Lage Antigene direkt zu erkennen. Sie benötigen neben dem T-Zell-Rezeptor (TCR) eine antigen-präsentierende Zelle (APZ), die das Antigen prozessiert und auf einem speziellen Oberflächenmolekül, dem MHC-Komplex, präsentiert. Zusätzlich nötig sind kostimulierende Faktoren und Zytokine. MHC-Ia-Typen HLA-A, -B, -C werden von allen kernhaltigen Zellen des Organismus exprimiert und präsentieren vor allem körpereigene und virale Peptide für CD8⁺ zytotoxische T-Zellen. Neben den klassischen MHC-Ia-Molekülen gibt es auch die weniger polymorphen MHC-Ib-Moleküle HLA-E, -F und -G. Humane Trophoblasten-Zellen exprimieren nicht-klassische HLA-E und HLA-G, welche andererseits die NK-Zell-Aktivierung inhibieren und die Proliferation von T-Zellen supprimieren (Clark et al. 2010; Makrigiannakis et al. 2008; Tilburgs et al. 2009; Trowsdale & Betz 2006). Dies scheint vor allem in der Implantationsphase entscheidend zu sein (Pfeiffer et al. 2000; Trowsdale & Betz 2006). Die MHC-II-Moleküle des Menschen (HLA-DR, -DP, -DQ) sind vor allem auf APZ und B-Zellen zu finden und präsentieren extrazelluläre Antigene wie Bakterien. Des Weiteren besitzt der Trophoblast Apoptose-induzierende Abwehrmechanismen, wie die Expression von Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO) zur T-Zell-Suppression und die Fas-induzierte Apoptose von Lymphozyten (Trowsdale & Betz 2006) und kann so selbst eine Abstoßungsreaktion verhindern.

Die Anwesenheit von Fetus-spezifischen HLA-Antikörpern und zytotoxischen T-Lymphozyten spezifisch für fetale Antigene wurde im mütterlichen peripheren Blut nachgewiesen und ist ein Zeichen für das Erkennen des semiallogenen Fetus

(Makrigiannakis et al. 2008; Veenstra van Nieuwenhoven 2003). Trotz aller Abwehrmechanismen erkennen maternale T-Zellen paternale Alloantigene während der Schwangerschaft, rufen jedoch keine Abstoßungsreaktion hervor (Tafari et al. 1995; Tilburgs et al. 2009; Trowsdale & Betz 2006; Veenstra van Nieuwenhoven 2003). Eine Balance zwischen Immunstimulation und -regulation ist also notwendig um eine fetale Abstoßung zu verhindern, gleichzeitig aber auch den Schutz vor Infektionen aufrecht zu erhalten (Veenstra van Nieuwenhoven 2003).

1.3.2 Periphere T-Zell-Lymphozyten

Die bestuntersuchte Zellpopulation während der Schwangerschaft sind periphere T-Zell-Lymphozyten, die auch Mittelpunkt dieser Arbeit sind. T-Zellen sind Teil der zellulären Immunreaktion. Aus der hämatopoetischen Stammzelle entsteht eine gemeinsame lymphatische Vorläuferzelle, aus der sich B-, T- und NK-Zellen entwickeln. T-Zell-Vorläuferzellen verlassen im Gegensatz zu B-Zellen das Knochenmark (*B* - ‚bone marrow‘), den Bildungsort der hämatopoetischen Stammzelle, und die weitere Entwicklung verläuft im Thymus (*T* – ‚thymus‘). Sie durchlaufen die negative Selektion zur Entfernung autoreaktiver Zellen und die positive Selektion zur Entfernung von Zellen mit fehlgebildeten Rezeptoren, bevor sie als naive, reife Zellen zur Aktivierung durch ein Antigen bereit sind. T-Zellen durchlaufen 4 Stadien: doppelnegativ, intermediär einzelpositiv, doppelpositiv und zuletzt CD4- oder CD8-positiv (*CD* – ‚cluster of differentiation‘). T-Zellen umfassen sowohl der MHC Klasse-II zugehörige CD4⁺ T-Zellen, welche vor allem andere Immunzellen durch Zytokinproduktion unterstützen, als auch der MHC Klasse-I zugehörige zytotoxische CD8⁺ T-Zellen, die direkt durch Apoptoseeinleitung fremde oder infizierte Zellen töten können (Piccinni 2010; Veenstra van Nieuwenhoven 2003). CD4⁺ Zellen machen etwa zwei, CD8⁺ etwa ein Drittel aller T-Zellen aus (Guerin et al. 2009). Der Fetus exprimiert paternale HLA-C-Antigene. Diese Alloantigene werden durch APZ aufgenommen, prozessiert und anschließend spezifischen maternalen T-Zellen präsentiert. Nach ihrer Aktivierung können diese zu Effektor-T-Zellen werden, welche in der Lage sind bestimmte Zytokine auszuschütten. Dies geschieht sowohl lokal in der Dezipua als auch im peripheren Blut. Eine Abstoßung des Fetus resultiert also aus einer koordinierten Aktivierung von mütterlichen T-Zellen und APZ. Charakterisiert sind T-Zellen durch den Oberflächenmarker CD3⁺ und den Ag-spezifischen T-Zell-Rezeptor (Mjösberg et al. 2010).

CD4⁺ T-Lymphozyten und regulatorische T-Zellen

Humane CD4⁺ T-Helfer-Lymphozyten (Th) können anhand ihrer Zytokin-Produktion eingeteilt werden (Mosmann & Coffman 1989). Th1-Typ Zytokine (IL-2, TNF-β, IFN-γ) schaffen ein proinflammatorisches Milieu und zeigten sich nachteilig für die Schwangerschaft durch die Inhibierung der Trophoblasteninvasion und assoziiert zu Spontan- und rezidivierenden Aborten (Das et al. 2002; Piccinni 2010; Raghupathy et al. 2000; Veenstra van Nieuwenhoven 2003). Th2-Zytokine (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13), welche die humorale Zellantwort fördern, inhibieren Th1-Antworten (Mosmann et al. 1986; Veenstra van Nieuwenhoven 2003). Eine Verschiebung der Th1/Th2-Ratio zugunsten der Th2-Zytokinproduktion während der Schwangerschaft wurde lange als Haupt-mechanismus der immunologischen Adaptation zum Erhalt der Toleranz gegenüber dem Fetus angenommen (Chaouat et al. 1990; Clark et al. 2010; Piccinni 2010; Wegmann et al. 1993). Andere CD4⁺ T-Zellen, die sowohl in der Dezidua als auch in der Peripherie vorkommen, sind für die körpereigene Immuntoleranz verantwortlich, indem sie Immunantworten gegen Selbst-Ag kontrollieren. Sie wurden definiert als regulatorische T-Zellen (Treg) (Piccinni 2010). Sie inhibieren die Proliferation von Effektor-T-Zellen durch Zell-zu-Zell-Kontakt oder immunsuppressive Zytokine wie IL-10 und TGF-β und wurden ursprünglich beschrieben aufgrund ihres Potentials Autoimmunerkrankungen vorzubeugen (Sakaguchi et al. 2009; Sakaguchi et al. 2001; Sakaguchi et al. 2010), fanden aber auch zunehmend Bedeutung in der Kontrolle der Allo-Antigen-Toleranz in der Transplantationsmedizin (Graca et al. 2002). Treg machen etwa 1-3% der CD4⁺ T-Zellen aus. Sie sind gekennzeichnet durch den IL-2-Rezeptor CD25, GITR, CTLA4, die Expression von CD95 und eine geringe Expression von CD45RB und CD127 (Guerin et al. 2009). CD4⁺ T-Zellen, die eine hohe Intensität von CD25 exprimieren, haben regulatorische Funktionen, wohingegen Zellen mit inter-mediärer CD25-Expression aktivierten T-Zellen entsprechen (Steinborn et al. 2012; Tilburgs et al. 2006). Zusätzlich kann man unterscheiden zwischen CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg und den konventionellen Effektor-T-Zellen CD4⁺CD25⁺CD127⁺ (Liu et al. 2006; Seddiki et al. 2006; Steinborn et al. 2012), aber Treg exprimieren keine anderen Aktivitätsmarker wie CD69 und HLA-DR im Gegensatz zu kürzlich aktivierten T-Zellen (Somerset et al. 2004). Als spezifischer Marker für die Funktionalität bzw. suppressive Aktivität hat sich die Expression des Transkriptionsfaktors ‚forkhead box P3‘ (FoxP3)

herausgestellt (Somerset et al. 2004). Treg inhibieren die Proliferation und Zytokinproduktion sowohl von CD4⁺ als auch von CD8⁺ T-Zellen, supprimieren die B-Zell-Proliferation sowie deren Antikörperproduktion und inhibieren die zytotoxische Funktion der NK-Zellen sowie Reifung und Funktion von APZ.

Während der menschlichen Schwangerschaft expandiert die Treg-Zahl in der Dezidua (Dimova et al. 2011; Sasaki et al. 2004) sowie auch im peripheren Blut (Somerset et al. 2004). Peripher zeigte sie sich im Median verdoppelt im Vergleich zu Nicht-Schwangeren ohne Unterschiede der Lymphozytenzahl. Es kommt zu einem rapiden Anstieg der Treg-Frequenzen in der Frühschwangerschaft mit einem Höhepunkt im Übergang zum zweiten Trimenon, passend zur maximalen Trophoblasteninvasion der maternalen Dezidua. Anschließend folgt ein Abfall post partum. Es gibt klare Hinweise, dass der Anteil der CD4⁺CD25⁺ Treg und deren suppressive Aktivität verringert ist in Fällen von Spontanaborten, Fehlgeburten und Präeklampsie (Alijotas-Reig et al. 2014; Aluvihare et al. 2005; Saito et al. 2005; Sasaki et al. 2004; Steinborn et al. 2012; Teles et al. 2013), insbesondere in der Frühschwangerschaft (Aluvihare et al. 2004; Sasaki et al. 2004). Treg, welche 20% der dezidualen CD4⁺ Zellen in der Frühschwangerschaft ausmachen, sinken auf 6% bei Spontanaborten (Sasaki et al. 2004) und niedrigere Werte in der Dezidua zeigten sich generell assoziiert zu Aborten (Teles et al. 2013; Zenclessen et al. 2007). Eine Assoziation zu geringeren Treg-Zahlen zeigte sich auch in geringerem Maße bei rezidivierenden Fehlgeburten (Sasaki et al. 2004). Eine große Rolle wird auch den memory Treg zugesprochen, da Schwangerschaftskomplikationen wie Fehlgeburten und Präeklampsie weniger selten in der Zweitschwangerschaft auftreten (Arck & Hecher 2013; Clark 2008). So spielen Treg in der Schwangerschaft eine entscheidende Rolle, indem sie gegen den Fetus gerichtete maternale Immunantworten, insbesondere T-Zell-Antworten, und damit die fetale Abstoßung unterdrücken (Sakaguchi et al. 2001). Erhöhte maternale Treg-Funktionen werden auch zunehmend als Ursache für die klinische Verbesserung einiger Autoimmunerkrankungen während der Schwangerschaft, wie z.B. Multiple Sklerose, angenommen (Beagley & Gockel 2003).

CD8+ T-Zellen

Extravillöse Trophoblastenzellen (EVT) exprimieren keine HLA-A- und HLA-B-Moleküle, welche der Hauptgrund für eine CD8⁺-T-Zell-vermittelte

Transplantatabstoßung sind. CD8⁺ Effektor-T-Zellen haben die Fähigkeit proinflammatorische Zytokine wie IFN- γ und TNF- α zu sezernieren sowie zytolytische Moleküle wie Perforin und Granzym zu synthetisieren. Während der T-Zell-Aktivierung verlieren sie Oberflächenmoleküle, um nicht mehr länger kostimulatorische Signale zu benötigen, sondern Zielzellen direkt zu töten. CD4⁺ T-Helferzellen sind für eine CD8⁺-Aktivierung nicht nötig, Treg-Zellen können jedoch eine CD8⁺-Antwort unterdrücken (Tilburgs & Strominger 2013). Die Anwesenheit von hoch differenzierten CD8⁺ Effektor-Memory-T-Zellen im Deziduagewebe lässt vermuten, dass Antigene an der fetomaternalen Kontaktstelle vorhanden sind, die eine Ag-spezifische Antwort hervorrufen. Es werden vier Subtypen anhand der Expression von Oberflächenmolekülen unterschieden: CD8⁺ naive Zellen (CD45RA⁺CCR7⁺, Na), deren nachfolgende Differenzierung charakterisiert ist durch die Hochregulierung der zytolytischen Aktivität bei gleichzeitigem Verlust von CCR7, CD8⁺ Effektor Zellen (CD45RA⁺CCR7⁻, Eff), welche differenzierten Ag-spezifischen Effektor-Zellen entsprechen, CD8⁺ Effektor Memory Zellen (CD45RA⁻CCR7⁻; EM) und CD8⁺ Central Memory Zellen (CD45RA⁻CCR7⁺, CM), für die niedrige Level an Effektor-Mediatoren wie Granzym B und Perforin charakteristisch sind (Tilburgs & Strominger 2013). Mit dem ‚homing receptor‘ CCR7 kann man die zirkulierenden T-Zellen differenzieren von den nach Aktivierung im Gewebe verbleibenden T-Zellen, die bei Reinfektion schnell wieder reaktiviert werden können. CD45RA wird genutzt, um Memory-Zellen zu identifizieren (Hamann et al. 1997; Romero et al. 2007; Tomiyama et al. 2002). Ag-spezifische EM-Zellen können des Weiteren noch anhand der Expression der kostimulatorischen Moleküle CD28 und CD27 weiter differenziert werden (Romero et al. 2007; Tomiyama et al. 2002; Tomiyama et al. 2004). Im peripheren Blut überwiegen CD4⁺ T-Zellen, wohingegen in der Dezidua die CD8⁺ T-Zellen die vorherrschende T-Zell-Subpopulation sind. Etwa die Hälfte der CD8⁺ T-Zellen im peripheren Blut sind unspezifische naive Zellen (Lanzavecchia & Sallusto 2000; Romero et al. 2007), wohingegen diese an der feto-maternalen Verbindungsstelle kaum vorhanden sind, sondern aktivierte differenzierte EM-T-Zellen dominieren (Tilburgs et al. 2006), was erneut nahe legt, dass eine spezifische T-Zell-Antwort durch vorhandene Ag hervorrufen wird.

1.3.3 Störungen der maternalen T-Zell-Anpassung und Schwangerschaftskomplikationen

Das Immunsystem verändert sich drastisch, um die gesunde Schwangerschaft zu erhalten und typische Schwangerschaftskomplikationen wie Spontanaborte, Präeklampsie, Plazentainsuffizienz und fetale Wachstumsstörungen sind zumindest teilweise Folge einer insuffizienten Immunanpassung (Aagaard-Tillery et al. 2006; Heikkinen et al. 2004; Sasaki et al. 2004; Somerset et al. 2004). Psychosozialer Stress ist assoziiert mit einem Anstieg der proinflammatorischen Zytokine im Serum sezerniert durch stimulierte Lymphozyten in der Früh- und Spätschwangerschaft (Blois et al. 2004; Coussons-Read et al. 2007; Parker & Douglas 2010). Verschiedene Schwangerschaftskomplikationen, insbesondere Präeklampsie (Wilczyński et al. 2003), sind mit einer signifikant höheren Anzahl CD8⁺ und NK-Zellen im Dezidualgewebe assoziiert (Arck et al. 2001). Eine positive Korrelation zwischen steigenden Stress-Scores und dezidualen (Arck 2001) sowie peripheren CD8⁺ T-Zellen (Maes et al. 1999) konnte nachgewiesen werden, sowie eine signifikante Reduktion der CD4⁺/CD8⁺-Ratio unter Stress (Maes et al. 1999). Die verminderte Anzahl von Treg nach Stressexposition lässt

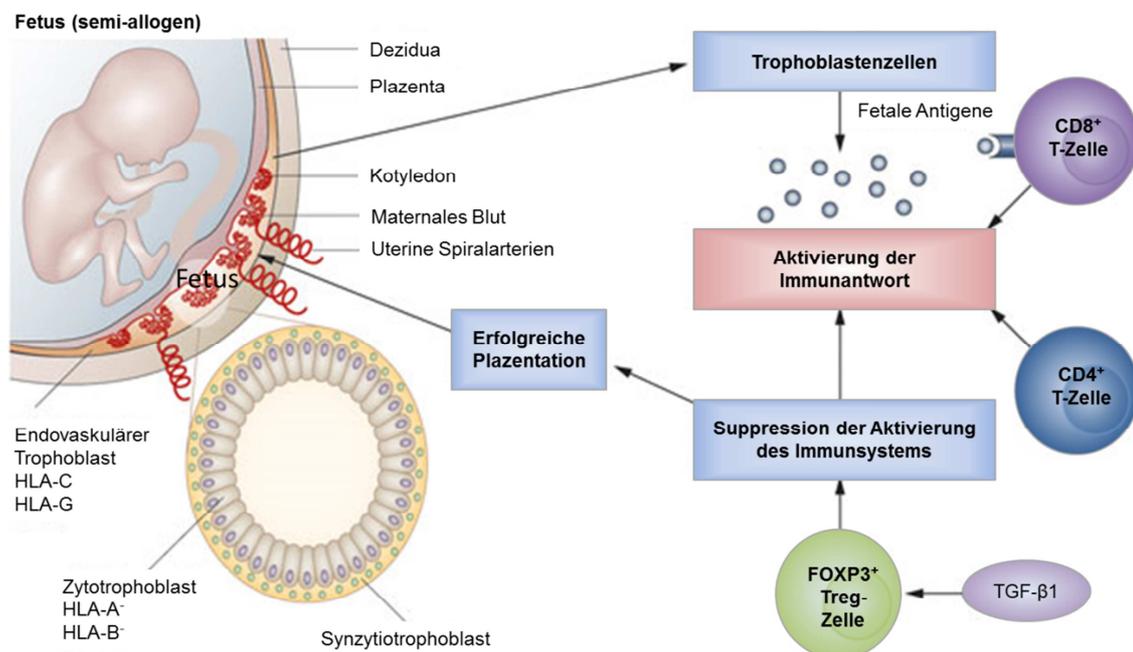


Abbildung 3: Fetomaternalen Toleranz. Quelle: in Anlehnung an Tower et al./ Nature reviews. Rheumatology vol. 7 (2), adaptiert und frei übersetzt (Tower et al. 2011), CD–Cluster of Cluster of differentiation, HLA–human leucocyten antigen, TGF–Transforming growth factor, Treg–regulatorische T-Zelle.

eine verminderte Gegenregulation vermuten (Aluvihare et al. 2004; Knackstedt et al. 2005; Sasaki et al. 2004). Diese Ergebnisse unterstützen weiter die Annahme, dass pränataler Stress zu Änderungen der maternalen Immunfunktion führt, welche ein erhöhtes Risiko für Schwangerschaftskomplikationen zur Folge haben (Coussons-Read et al. 2012; Ruiz et al. 2003; Zhang et al. 2000). Die genauen Mechanismen der Vermittlung der Stressexposition auf das Immunsystem bleiben weiterhin unklar. Einige der immunmodulierenden Effekte wurden zurückgeführt auf den Stress-induzierten Anstieg von Serumcortisol und anderen Hormonen der Stressachse, welche auch außerhalb der Schwangerschaft Einfluss auf Immunzellen haben (Maes et al. 1999). Jedoch scheint auch der direkte Einfluss der Stress-induzierten Suppression von Progesteron, welches essentiell für die Schwangerschaftserhaltung ist, da es unter anderem die Plazentation und die Treg-Proliferation fördert (Blois et al. 2004; Solano et al. 2011), eine entscheidende Rolle zu spielen (Arck et al. 2008; Solano et al. 2011).

Forschungen zur Untersuchung von Störungen der Anpassung des Immunsystems während der Schwangerschaft durch den Einfluss von psychosozialen Stress haben ein großes Potential Angriffspunkte für therapeutische Interventionen darzustellen, was zu einer verbesserten mütterlichen Gesundheit sowie zu einer Verringerung negativer Schwangerschaftsausgänge und -komplikationen führen kann (Solano et al. 2011). Sie sind jedoch nicht nur für das Verständnis von Schwangerschafts-assoziierten Erkrankungen und innerhalb der Reproduktions- und Infertilitätsmedizin entscheidend, sondern auch wichtig für das Verständnis der möglichen Modulation der Immuntoleranz in anderem klinischen Kontext, z.B. der Transplantationsmedizin, Autoimmunerkrankungen und Tumorentstehung (Arck & Hecher 2013).

1.4 Die Hypophysen-Hypothalamus-Nebennierenrindenachse (HHNA) und Schwangerschaft

“The most important nine months of our lives are probably the nine months we know the least about. Christopher Coe, 3. Mai 2008, American Psychological Society Meetings, Chicago, Illinois” (zit. aus Dunkel-Schetter & Glynn 2010, S. 321, Z. 1-4.)

Stimuli, welche vom Körper als extrem oder bedrohend empfunden werden (Stressoren), rufen eine sofortige stereotypische Antwortkaskade hervor, die von erhöhter Kognition und einem globalen katabolen Zustand gekennzeichnet ist. Das Erleben von stressbelasteten Situationen resultiert in einer feinabgestimmten Antwortkette, um die Homöostasis zu bewahren bzw. wieder herzustellen und beinhaltet behaviorale, autonome und endokrine Adaptationen, die zusammen die Chance auf Überleben erhöhen (Brunton 2010; Brunton & Russell 2008).

Die zentrale Säule dieser neuroendokrinen Antwort ist die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHNA), an deren Ende die Produktion und Sekretion von Glucocorticoiden (GC), allen voran Cortisol, steht (Brunton 2010). Steroidhormone, zu denen diese gehören, sind lipophile Stoffe, die aus Cholesterin synthetisiert werden und sowohl Zellmembranen als auch die Blut-Hirn-Schranke passieren können. Neben den GC werden auch die Mineralcorticoide (MC) wie Aldosteron und Sexualhormone wie Progesteron und Testosteron zu dieser Gruppe gezählt. Hauptwirkung der GC ist die Aktivierung kataboler Stoffwechselforgänge um Energieträger wie Glucose, Aminosäuren und Fettsäuren bereitzustellen (Brunton & Russell 2008). GC sind in zahlreichen zellulären, molekularen und physiologischen Vorgängen des Organismus involviert und spielen eine unabdingbare Rolle in kritischen biologischen Prozessen wie Wachstum, Reproduktion, Stoffwechsel, Immun- und inflammatorischen Reaktionen, sowie bei zentralnervösen und kardiovaskulären Funktionen. In hohen Dosen haben Sie eine immunsuppressive und entzündungshemmende Wirkung (Brunton & Russell 2008), die pharmakologisch schon lange in der Therapie allergischer, Autoimmun-, chronisch entzündlicher und lymphoproliferativer Erkrankungen genutzt wird (Gupta et al. 2007; Kino & Chrousos 2005). Bei drohender Frühgeburt werden GC zur Förderung der fetalen Lungenreifung eingesetzt (Michael & Papageorghiou 2008).

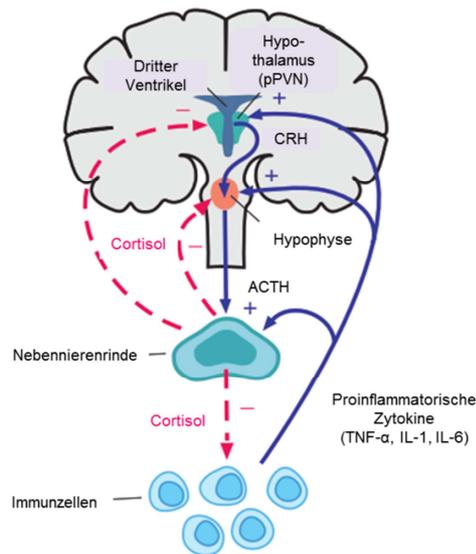


Abbildung 4: Interaktionen der HHNA und des Immunsystems. Quelle: in Anlehnung an Silverman & Sternberg/ Annals of the New York Academy of Sciences vol. 1261, adaptiert und frei übersetzt (Silverman & Sternberg 2012), ACTH - Adrenocorticotropes Hormon, CRH - Corticotropin-releasing-Hormon, HHNA - Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, IL - Interleukin, pPVN - paraventriculärer Nucleus, TNF - Tumornekrosefaktor.

Das Corticotropin-releasing-Hormon (CRH) wird in parvozellulären Neuronen des paraventriculären Nucleus (pPVN) des Hypothalamus synthetisiert und bei Stressorexposition über axonale Enden in das kapilläre Portalsystem zur Hypophyse sezerniert. Im Hypophysenvorderlappen, der Adenohypophyse, stimuliert es die Ausschüttung von Corticotropin, auch Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) genannt (Brunton et al. 2008; Chrousos 1992; Johnson et al. 1992). Über den Blutweg gelangt dies zur Nebennierenrinde, woraufhin die Biosynthese von GC aus Cholesterol angeregt wird. Zu den wichtigsten gehört das als Stresshormon bezeichnete Cortisol (Hobel et al. 2008). Über einen negativen Feedback-Mechanismus inhibiert Cortisol die Hormonausschüttung des Hypothalamus sowie der Hypophyse (Parker & Douglas 2010). Ausgelöst werden kann die Stressreaktion durch psychologische Stressoren (Angst, Lärm), meist über das limbische System zwischenverarbeitet, sowie durch physikalische Stressoren (Kälteexposition, Infektion, Verletzung), welche direkt ohne kognitive Verarbeitung verschaltet werden (Brunton et al. 2008). Die CRH-Freisetzung aus dem Hypothalamus wird beeinflusst durch Stress, physische Aktivität und Belastung sowie den Basis-Blutcortisolspiegel und den zirkadianen Rhythmus. In gesunden Individuen erreicht der Cortisolwert morgens nach dem Aufwachen sein Maximum (‘Cortisol awakening response’), um anschließend zwischen 18 und 24

Uhr auf ein Minimum zu fallen. Physiologische Konzentrationen von Cortisol im Blutserum liegen morgens zwischen 171-536 nmol/L, Nachtcortisol bei <50 nmol/L (Turpeinen & Hämäläinen 2013). 90% liegen gebunden an Transcortin (Corticosteroid binding globulin, CBG) und Albumin vor, wirksam sind nur freie GC (Marques et al. 2009). Der humane Glucocorticoidrezeptor (GR) ist ein ubiquitär exprimierter, intrazellulärer, Liganden-abhängiger Rezeptor, welcher durch Bindung in seiner Eigenschaft als Transkriptionsfaktor aktiviert wird und so zur Expression verschiedener Zielgene, z. B. von Enzymen der Gluconeogenese oder Entzündungsmediatoren führt (Marques et al. 2009; Karow & Lang-Roth 2011). Eine hohe Dichte von GR in Geweben geht mit einer erhöhten Sensitivität für GC einher (Marques et al. 2009; Miller et al. 1998). Neben der HHNA wird auch das sympathische Nervensystem aktiviert und führt zur Sekretion der Katecholamine Adrenalin (A) und Noradrenalin (NA), deren Hauptwirkung u.a. eine Vasokonstriktion und Erhöhung des Herz-Zeit-Volumens ist. Das Katecholamin-System ist in seiner Wirkung schneller als die HHNA, da es transmembranöse Rezeptoren nutzt, die direkt eine Signalkaskade auslösen (Herman & Cullinan 1997).

Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, dass das endokrine System und das Immunsystem eng interagieren (Besedovsky & del Rey 2000). Traumata oder chronischer Stress haben einen Effekt sowohl auf die Regulation der HHNA und des Immunsystems (Glaser & Kiecolt-Glaser 2005) als auch auf deren Interaktionen (Raison & Miller 2003). Cortisol als Endprodukt der HHNA-Aktivierung ist ein starker endogener Modulator der Immunantwort. Die Bindung von GC an GR inhibiert die Mitogen-induzierte Lymphozyten-Proliferation und die Produktion proinflammatorischer Zytokine, hohe Dosen reduzieren auch zirkulierende dendritische Zellen (DC) (Suda et al. 2003). Cortisol ist ein potenter Inhibitor von NK-Zell-Aktivität (Arck 2001; Gatti et al. 1993), aber auch vor allem T-Zellen werden durch GC beeinflusst. Vorläuferzellen von CD4⁺ und zytotoxischen CD8⁺ T-Zellen gehen eine GC-induzierte Apoptose ein, was auch bei der T-Zell-Selektion eine entscheidende Rolle spielt (Dorshkind & Horseman 2001). Naive T-Zellen sind sensitiver gegenüber GC-Einfluss und werden mit ihrer Aktivierung resistenter, in Mäusen führt Stress zu einer gesteigerten Proliferation von CD25⁺ - Zellen und einem Verlust der GC-Sensitivität in T-Zellen (D'Elia et al. 2010). Etwa

20% der Gene, die in humanen Leukozyten exprimiert sind, werden durch GC reguliert (Galon et al. 2002).

Der immunmodulierende Effekt basiert nicht nur auf der Höhe des zirkulierenden Cortisolspiegels, sondern auch auf der Anzahl und den Subtypen der GR in Immunzellen (Bamberger et al. 1996; Dorshkind & Horseman 2001). Die Sensitivität von neuroendokrinen Rezeptoren (Dichte und Subtyp) wird kontinuierlich durch inflammatorische Prozesse und chronischen Stress reguliert (Heijnen 2007), z. B. Traumata und posttraumatische Belastungsstörung (PTBS) zeigen sich assoziiert zu niedrigerer GR-Dichte auf Leukozyten (de Kloet et al. 2007). Veränderte GC-Sensitivität von T-Zellen wird auch im Zusammenhang mit anderen psychiatrischen Erkrankungen beschrieben, wie z.B. bei affektiven Störungen, in deren Fokus auch häufig eine Veränderungen der HHNA stehen (Abe et al. 2011; Fischer et al. 2012).

1.4.1 HHNA-Adaptationen in der Schwangerschaft

Die normal verlaufende Schwangerschaft beim Menschen ist im Allgemeinen assoziiert mit einer Steigerung der maternalen HHNA-Aktivität (Bronstein et al. 2011). Die Level aller Hormone der HHNA (CRH, ACTH, Cortisol) sind im Verlauf der Schwangerschaft signifikant erhöht (Wadhwa 2005) und die Schwangerschaft stellt einen vorübergehenden Zustand des relativen Hypercortisolismus dar (Arck 2001). Ursächlich ist dafür vor allem die plazentare CRH-Ausschüttung (Duthie & Reynolds 2013). Die plazentare CRH-Produktion und die Erhöhung des Cortisolspiegels beginnen im zweiten Trimenon und steigen linear während der Schwangerschaft bis zur Geburt mit einem Höhepunkt in den letzten 6-8 Wochen der Schwangerschaft (Arck 2001; Wadhwa 2005; Weinstock 2005), wo sie ein bis zu 2-3faches Level erreichen im Vergleich zu nicht schwangeren Frauen (Mastorakos & Ilias 2003; Weinstock 2005). Post partum normalisiert sich die HHNA etwa bis 8-12 Wochen nach der Geburt (Checkley 1996; Mastorakos & Ilias 2003). Im Gegensatz zu seiner inhibitorischen Aktivität im Gehirn, stimulieren GC die plazentare CRH-Genexpression und -freisetzung, was zu einem positiven Feedbackmechanismus führt, der einen 20fachen Anstieg des CRH-Levels zur Folge hat (Challis et al. 2001; Weinstock 2005). Die biologische Aktivität wird eingegrenzt durch ein CRH-bindendes Protein (CBP), welches im Plasma und in der Amnionflüssigkeit vorhanden ist. CBP fällt jedoch zum Ende der Schwangerschaft und setzt damit erhöhte CRH-Spiegel frei (Grammatopoulos

2008). Bei beiden Mechanismen wird ursächlich ein Zusammenhang mit dem in der Schwangerschaft erhöhten Östrogen angenommen (Bronstein et al. 2011). Des Weiteren gibt es Hinweise, dass Stressantworten während der gesunden Schwangerschaft abgeschwächt sind (Christian 2012). Es wurde gezeigt, dass die Cortisol-Antworten von schwangeren Frauen auf akute Stresssituationen im Verlauf der Gestation abnehmen (Kammerer et al. 2002; Kinsella & Monk 2009; Tsigos & Chrousos 2002). Die HHNA-Responsivität reduziert sich progredient im Schwangerschaftsverlauf und vor allem die Spätschwangerschaft ist durch eine starke Suppression der HHNA-Antwort auf Stressoren gekennzeichnet (Brunton & Russell 2008; Kammerer et al. 2002; Wadhwa 2005). Diese trotz hoher Grundaktivität gleichzeitig niedrige GC-Sekretion als Antwort auf akute Stressbelastung scheint entscheidend zu sein für den Schutz von Mutter und Fetus vor übermäßigem GC-Einfluss (Brunton 2010; Christian 2012). Im Fetus sind GC-Spiegel wesentlich niedriger als im maternalen Kreislauf. Ab der 16. SSW formt das plazentare Enzym 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase-2 (11 β -HSD2), welches die Konversion von Cortisol in inaktives Cortison katalysiert, eine Barriere zum Fetus, um ihn vor maternalen GC zu schützen. Trotzdem passieren noch etwa 10% bis 20% des maternalen Cortisol diese Barriere (Bronstein et al. 2011; Kinsella & Monk 2009; Tsigos & Chrousos 2002).

1.4.2 Epidemiologie assoziierter Schwangerschaftskomplikationen

Postnataler Stress und Depression sind schon seit vielen Jahren Fokus fetomaternaler Forschung. Studien haben jedoch gezeigt, dass die Inzidenz maternaler Depression, Stress oder Angst auch schon während der Schwangerschaft hoch ist und entscheidende Konsequenzen haben kann (Kinsella & Monk 2009). Schwangerschaften, die durch erhöhte Morgencortisolwerte innerhalb der ersten drei Wochen post conceptionem gekennzeichnet sind, zeigten eine signifikante Korrelation mit späteren Fehlgeburten (Nepomnaschy et al. 2006), ebenso wie erhöhte periphere CRH-Werte (Arck et al. 2008; Hobel et al. 2008). Höhere CRH-Spiegel in SSW 28-30 zeigten sich signifikant assoziiert mit verkürzter Gestationsdauer, erniedrigtem Geburtsgewicht und dem Auftreten vorzeitiger Wehen (Wadhwa 2005; Weinstock 2005). Verlängerte HHNA-Aktivierung trägt zu intrauteriner Wachstumsrestriktion (intrauterine growth restriction, IUGR) bei, erhöhte Level von CRH, ACTH und GC wurden bei small for gestational age-Kindern (SGA, zu klein bezogen auf das Reifealter) dokumentiert (Knackstedt et

al. 2005). Maternale Cortisolspiegel in SSW 15 sagen den CRH-Anstieg im Gestationsverlauf voraus (Sandman et al. 2006) und sind negativ assoziiert zum fetalen Gewicht (Field et al. 2010; Kinsella & Monk 2009). Die normalerweise unterdrückte HHNA-Aktivität kann durch lange Phasen von ausgeprägtem Stress aufgehoben werden und zu einem Überschuss an HHNA-Hormonen führen (Weinstock 2005). Stress-induzierte Immunsuppression in der Frühschwangerschaft gefährdet die Implantation und Aufrechterhaltung der Gestation (Nakamura et al. 2001). Auch können Stresseinflüsse die GR-Verteilung oder -struktur und damit die GC-Sensitivität von Geweben beeinflussen (de Kloet et al. 2007; Silverman & Sternberg 2012). Einerseits haben Stresshormone eine direkte Wirkung auf die Plazentaentwicklung und fetale Versorgung, da erhöhte GC-Level zur Steigerung des Blutdrucks und einer Vasokonstriktion führen, was eine insuffiziente uterine Perfusion und damit verminderte Versorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff zur Folge hat. Dies kann zu Minderentwicklung von Organen und Geweben führen und ist assoziiert zu Frühgeburten und erniedrigtem Geburtsgewicht (Hobel et al. 2008; Knackstedt et al. 2005). Andererseits zeigten sich auch direkte GC-Wirkungen im Fetus assoziiert zu multiplen Schwangerschaftskomplikationen. Lokale GC-Wirkung in der Dezidua führen zur Inhibierung der 11 β -HSD2 in der Plazenta (Seckl & Meaney 2004; Welberg & Seckl 2001) und maternaler Stress reduziert die 11 β -HSD2 mRNA-Expression (Russell et al. 2008; Welberg et al. 2005). Belastung durch chronischen Stress und GC während der Früh- und Spätschwangerschaft sowie während der Neonatalperiode können Langzeitfolgen für das Neugeborene haben und sind mit einem erhöhtem Risiko für metabolische und Herz-Kreislauferkrankungen im späteren Leben verbunden (Cottrell & Seckl 2009; Hobel et al. 2008; Knackstedt et al. 2005). Pränatale Exposition zu GC beeinflusst direkt die Entwicklung des fetalen HHNA-Systems und die daraus resultierende spätere Stressantwort (Seckl 2001), ebenso zeigte sich eine beeinträchtigte neurokognitive Entwicklung und Reproduktionsfähigkeit (Chrousos 2009; Wadhwa 2005). Genaue Transmissionsmechanismen, wie maternaler Stress auf den Fetus vermittelt wird, bleiben weiterhin unklar. Umwege über die Schwangerschafts-assoziierten Hormone werden angenommen, aber auch direkte Interaktionen der Stresshormone und des Immunsystems nehmen einen zentralen Stellenwert in Untersuchungen ein.

1.5 Hypothese/Fragestellung

Angenommen wird, dass pränataler Stress Einfluss auf die Immunadaptation während der Schwangerschaft hat. Dies wird vermittelt durch eine Änderung der Sensitivität von Immunzellen auf Stresshormone. Als Stressor wurde psychosozialer akuter Stress, erlebt durch die Mutter während der Schwangerschaft, ausgewählt, welcher ein zunehmender Faktor für schwangere Frauen in der heutigen Zeit ist und negative Auswirkungen auf die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft sowie auf die fetale Entwicklung hat.

Primäre Hypothese

Einfluss von psychosozialen Stress, vor allem in der Frühschwangerschaft, führt zu Schwangerschaftskomplikationen und einem negativen Schwangerschaftsergebnis mit erniedrigtem Geburtsgewicht und/oder verkürzter Gestationsdauer.

Sekundäre Hypothese

Änderungen der Frequenzen regulatorischer T-Zellen und aktivierter CD4⁺/CD8⁺ T-Zellen vermitteln den Effekt von Stress in der Schwangerschaft über eine stress-induzierte GC-Sensitivitätsänderung von T-Zellen.

Fragestellungen

Zur Untersuchung dieser Hypothesen wurden die folgenden Fragestellungen entworfen:

1. Führt subjektiv empfundener psychosozialer Stress zu einer Verringerung der regulatorischen T-Zellen und einer gleichzeitigen Erhöhung von aktivierten CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen?
2. Hat psychosozialer Stress Einfluss auf die Veränderung der GC-Sensitivität von T-Zellen als möglichen Weg der Stressvermittlung auf Immunzellen?
3. Hat psychosozialer Stress in diesem Zusammenhang einen Einfluss auf das Schwangerschaftsergebnis?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studienplanung

Die Auswahl der Studienpopulation für diese Arbeit erfolgte im Rahmen der PRINCE-Studie (Prenatal Identification of Children's Health), einer unizentrischen prospektiven Geburtskohortenstudie, die seit 2011 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf in einer Kooperation der Experimentellen Feto-Maternalen Medizin unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Petra C. Arck und der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Kurt Hecher im Verbundprojekt ‚Feto-Maternal Immune Cross Talk‘ existiert. Ziel der PRINCE-Studie ist die Identifizierung von pränatalen Faktoren, die Einfluss auf die zukünftige Entwicklung und Gesundheit des Kindes haben mit besonderem Fokus auf die Entwicklung des Immunsystems. Zu den zu untersuchenden Faktoren gehören unter anderem Ernährung und Medikamenteneinnahme sowie der Einfluss von Stress während der Schwangerschaft. Im Rahmen dieser Studie wurde für diese Arbeit eine Subpopulation zur gezielten Untersuchung von wahrgenommenem maternalem Stress während der Schwangerschaft ausgewählt.

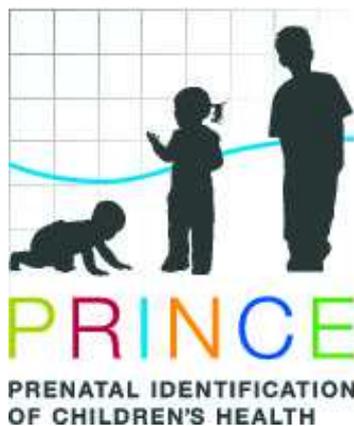


Abbildung 5: Logo der PRINCE-Studie (Prenatal Identification of Children's Health), Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Studienpopulation

Für diese Arbeit erfolgte die Auswahl einer Stichprobe aus der Studienpopulation der PRINCE-Studie. Eingeschlossen wurden 80 schwangere, gesunde Frauen, die sich in der Zeit von Januar 2011 bis Juli 2012 im Rahmen der PRINCE-Studie in der Pränatalambulanz des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf vorstellten

und deren Schwangerschaft innerhalb des Erhebungszeitraums abgeschlossen war. Eingeschlossen wurden Frauen mit einer vorliegenden Unigravidität. Die Anzahl vorhergehender Graviditäten und Paritäten war für den Studieneinschluss nicht von Belang, die Informationen wurden aber dokumentiert. Grund zum Ausschluss aus der Studie waren Schwangerschaften, die durch In-vitro-Fertilisation (IVF) oder intrauterine Insemination (IUI) herbeigeführt wurden. Ausgeschlossen wurden des Weiteren Frauen mit stark ausgeprägter Adipositas, die Angabe von Rauchen auch während der Schwangerschaft oder Frauen mit chronischen, schwerwiegenden Erkrankungen, vor allem Autoimmun- oder immunassoziierten Erkrankungen wie z.B. Multiple Sklerose und Morbus Bechterew. Kein Grund für den Studienausschluss war die Angabe von Bluthochdruck, Hypo-/Hyperthyreose und Asthma bronchiale. Das Mindestalter betrug 18 Jahre.

Studienablauf

Die Vorstellung erfolgte zu drei Untersuchungszeitpunkten während der Schwangerschaft. Der erste Untersuchungszeitpunkt fand in der 14. Schwangerschaftswoche (13. – 15. SSW) statt, der zweite innerhalb der 24. Schwangerschaftswoche (23. – 25. SSW) und der dritte Termin wurde in der 36. Woche (35. – 37. SSW) der Schwangerschaft durchgeführt. Zu jedem Termin wurden den Probandinnen spezifisch ausgewählte Fragebögen ausgehändigt, die vor Ort selbstständig ausgefüllt wurden. Neben der Aufklärung der Probandin über Ziel und Umfang der Studie wurden während des ersten Untersuchungszeitpunkts soziodemographische Informationen und die gesundheitliche und geburtshilfliche Vorgeschichte erfragt. Ebenso zu Beginn der Studienteilnahme erfolgte die Erfassung der Sozialen Unterstützung. Zu allen drei Zeitpunkten erfolgte die Erhebung von wahrgenommenem maternalem Stress mit Hilfe von spezifischen Fragebögen. Zur Beurteilung des Schwangerschaftserfolgs wurden die Gestationsdauer und das fetale Geburtsgewicht herangezogen. Die Probandinnen wurden bis zur Geburt ihres Kindes verfolgt und Informationen zu Geburtszeitpunkt, Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen, Geburtsgewicht und Geschlecht des Kindes wurden nachträglich von der Studienhebamme oder der Mutter selbst im Rahmen einer Geburtskarte weitergegeben.

Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurde den Probandinnen peripheres, venöses Vollblut entnommen, welches für weitere Analysen zur Verfügung stand. Es erfolgte eine sachgemäß ausgeführte Blutentnahme mit Butterfly (Blutentnahmesystem Safety-Multifly ®-Set, Sarstedt) unter Beachtung der hygienischen Vorschriften in vorgefertigte Monovetten beschichtet mit dem Antikoagulant EDTA zur Gerinnungshemmung (Sarstedt-Monovette® EDTA, Sarstedt). Im Durchschnitt wurden 10-13 ml Blut entnommen. Das Vollblut wurde innerhalb von maximal 3 Stunden weiterverarbeitet. Die genaue Schwangerschaftswoche wurde post menstruationem (p.m.) errechnet. Als Beginn der Schwangerschaft wurde demnach der erste Tag der letzten Menstruation, angegeben durch die Probandin, gewertet. Die zu erwartende Schwangerschaftsdauer betrug damit 40 Wochen. Die Aufklärung der Probandinnen und die Einholung des schriftlichen Einverständnisses zur Studienteilnahme und die Blutentnahme erfolgten durch die Studienärztinnen der Geburtshilfe des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Es liegt ein positives Ethikvotum zur Durchführung dieser Studie vor.



Abbildung 6: Flussdiagramm des Studienablaufs, SSW -Schwangerschaftswoche.

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Unabhängige Gruppenvariable: Erfassung von wahrgenommenem Stress

Zur Erfassung des wahrgenommenen Stress wurde die Perceived Stress Scale (PSS) mit 14 Items, entwickelt von Cohen, Kamarck und Mermelstein (Cohen et al. 1983), genutzt. Die PSS dient der Messung des subjektiv wahrgenommenen Stresserlebens und misst den Ausprägungsgrad, in welchem das Leben im letzten Monat als stressbelastet, also „unvorhersehbar, unkontrollierbar und überfordernd“

(zit. aus Cohen et al. 1983: S. 387, Z. 46-47) bewertet wurde und bezieht sich dabei auf das transaktionale Stresskonzept nach Lazarus (Lazarus 1993). Der Fragebogen umfasst 14 Items, die jeweils allgemeine Situationen und Gefühle beschreiben. Jedem Item wird nach einer 5-stelligen Likert-Skala eine von fünf Antwortmöglichkeiten eindeutig zugeordnet. Die Antwortmöglichkeiten spiegeln dabei die Frequenz der beschriebenen Empfindung wieder: Nie (0) – Fast Nie (1) – Manchmal (2) – Ziemlich oft (3) – Sehr oft (4). Der Gesamtscore wird errechnet, indem die Summe aller Items gebildet wird, wobei negativ formulierte Items invertiert bewertet werden. Es können Gesamtwerte von 0 bis 56 auftreten, wobei ein hoher PSS-Score eine höhere empfundene Stressbelastung bedeutet. Bei Auslassen oder Fehlen eines Items wurde der komplette Fragebogen der Probandin nicht gewertet. Die PSS gilt als ein gutes Instrument zur globalen Stresserhebung, indem es den Stressverlauf über die Zeit erfasst. Für den Fragebogen gilt laut Cohen et al. eine Vorhersagbarkeit von 4-8 Wochen (Cohen et al. 1983). Im Rahmen unserer Studie wurde zu den drei Untersuchungszeitpunkten das subjektive Stresserleben der letzten vier Wochen abgefragt, jeweils in einem Abstand von ca. 12 Wochen. Die PSS wies in verschiedenen Gruppentestungen eine gute Validität und Reliabilität auf (Cohen et al., 1983; Cohen & Williamson, 1988.) und wurde auch schon in anderen Studien mit geburtshilflichem Aspekt (Lau & Yin 2011; Nelson et al. 2003) genutzt. Auch wurde eine hohe Validität in deutscher Sprache gezeigt (Wolf 1998).

Die Einteilung der Untersuchungsgruppen erfolgte anhand der unabhängigen Gruppenvariable des wahrgenommenen Stress erhoben durch die PSS. Ziel war eine Betrachtung bzw. der direkte Vergleich von Extremgruppen. Dafür wurden die Gesamtscores aller gewerteten PSS-Fragebögen in Quartile (25%-Abschnitte) eingeteilt. Das niedrigste Quartil, entsprechend der Gruppe *Niedriger Stress*, umfasste dabei die PSS-Werte 6 bis 15 und schloss somit 17 Probandinnen ein. Das höchste Quartil, welches der Gruppe *Hoher Stress* entspricht, bestand aus 14 Probandinnen mit PSS-Werten von 24 bis 35 Punkten. Somit wurde eine Betrachtung und Gegenüberstellung von gestressten und wenig gestressten Frauen während der Schwangerschaft ermöglicht.

Eine Hauptkritik der PSS ist ein großer Einfluss von Persönlichkeitsvariablen. Neurotizismus korreliert sehr hoch mit der PSS (Wolf 1998), sodass diese Variable ebenfalls als Einflussfaktor erhoben und kontrolliert wurde.

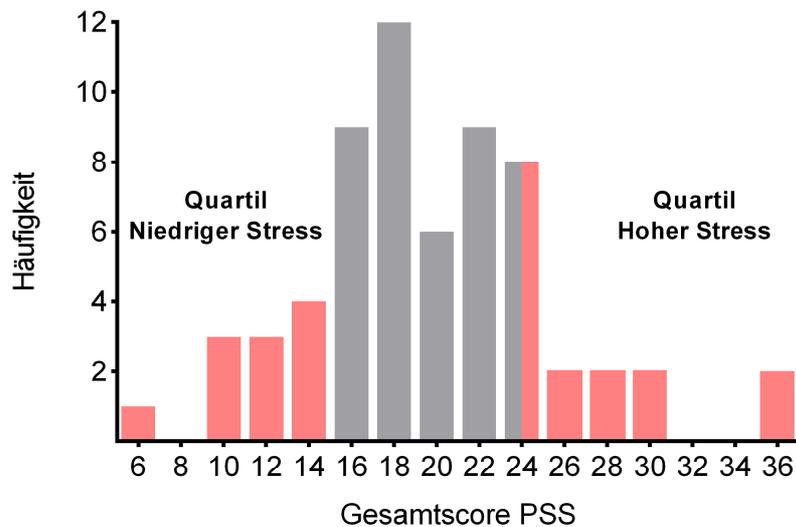


Abbildung 7: Histogramm der PSS-Gesamtscore-Verteilung des wahrgenommenen Stress mit Kennzeichnung (rot) der ausgewählten Quartile: Hoher Stress (PSS-Wert 24-35, n=14); Niedriger Stress (PSS-Wert 6-15, n=17), PSS – Perceived Stress Scale.

2.2.2 Erfassung psychosozialer und soziodemographischer Einflussfaktoren

Soziodemographische Faktoren und geburtshilfliche Anamnese

Zum ersten Untersuchungszeitpunkt erhielten die Probandinnen einen Fragebogen zum selbstständigen Ausfüllen, entworfen für die Erhebung allgemeiner soziodemographischer Faktoren und Fakten zur geburtshilflichen Anamnese mit Fokus auf Einflussfaktoren für die Outcome-Variable des Geburtsgewichts wie mütterliches Alter und Body-Mass-Index ($BMI = \text{Körpergewicht}/\text{Körpergröße}^2$) bei Studieneintritt sowie Rauchen vor der Schwangerschaft und ethnische Herkunft der leiblichen Eltern der Probandin (Mittleuropäisch – Eurasisch – Arabisch – Afrikanisch – Asiatisch – Süd-amerikanisch). Ebenso erfolgte die Erfassung des Beziehungsstatus (in fester Beziehung: ja/nein), der Arbeitssituation (berufstätig: ja/nein) und des Bildungsstatus unterschieden nach dem höchsten Abschluss: ohne Schulabschluss – Volks-/Hauptschule – Mittlere Reife – Fachabitur – Abitur – Fachhochschulabschluss – Hochschulabschluss. Informationen zur allgemeinen medizinischen Vorgeschichte mit chronischen Erkrankungen und Medikamenteneinnahme wurden ebenso erhoben wie die geburtshilfliche Anamnese: erster Tag

der letzten Menstruation zur Berechnung der Schwangerschaftswoche und Gestationslänge, Planung der Schwangerschaft, Zahl vorhergehender Schwangerschaften und Geburten, Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen der vorhergehenden Schwangerschaften und Fehlbildungen und Wachstumsstörungen der daraus hervorgegangenen Kinder.

Erfassung der sozialen Unterstützung - Berliner Social Support Skalen (BSSS)

Zur Erfassung der Sozialen Unterstützung („Social Support“), als bedeutsamer Faktor bei der Stressbewältigung, wurden die Berliner Social Support Skalen nach Schulz & Schwarzer (Schulz & Schwarzer 2003; Schulz & Schwarzer 2004) in deutscher Sprache verwendet. Diese Skalen erfassen in einem mehrdimensionalem Ansatz soziale Unterstützung als „qualitativ-funktionale“ Größe im Gegensatz zu anderen Instrumenten, die eher soziale Integration aus „quantitativ-strukturellen Aspekt“ betrachten (zit. Schulz & Schwarzer 2003, S. 73, Z. 20-21). Die Skalen umfassen dabei 6 Dimensionen, wobei sich in dieser Arbeit vor allem auf die Skalen der *wahrgenommenen sozialen Unterstützung* (perceived available social support) und der *erhaltenen sozialen Unterstützung* (actually received social support) konzentriert wurde. Erstere Skala umfasst 8 Items, die vor allem zeitunabhängige und allgemeine Fragen zum subjektiv wahrgenommenen Unterstützungspotenzial des sozialen Netzwerks beinhalten. Zweitere umfasst 11 Items, die speziell nach dem retrospektiv betrachteten Verhalten einer ausgewählten Bezugsperson in der letzten Woche fragt. Bewertet wird die subjektive Wahrnehmung sowohl kognitiver als auch behavioraler Aspekte sozialer Unterstützung durch Zustimmung zu Aussagen einer 4-stelligen Likert-Skala: Stimmt nicht (1) – Stimmt eher nicht (2) – Stimmt eher (3) – Stimmt genau (4). Die Skalengesamtwerte ergeben sich entweder durch Summenbildung aus den Antworten der betreffenden Skala oder durch Bildung eines Skalendurchschnittswerts. Beide Skalen zeigen eine hohe interne Konsistenz und eine gute Validität (Schulz & Schwarzer 2003). Weitere Subskalen zur Unterscheidung der emotionalen, instrumentellen und informationellen Unterstützung wurden in dieser Arbeit nicht betrachtet.

Neurotizismus

Neurotizismus ist ein Persönlichkeitsmerkmal, welches die emotionale Labilität einer Person beschreibt. Es stellt neben Extraversion, Offenheit für Erfahrungen, Gewissenhaftigkeit und Verträglichkeit eine der fünf Hauptdimensionen der Persönlichkeit dar (Eysenck 1947). Erfasst wurde die Variable mit Hilfe des NEO-Fünf-Faktoren-Inventars (NEO-FFI) nach Costa und McCrae (Costa & McCrae 1989) übersetzt durch Borkenau und Ostendorf (Borkenau & Ostendorf 1993). Das NEO-FFI hat einen multidimensionalen Ansatz und erfasst die wichtigsten Bereiche individueller Unterschiede, indem es die fünf Persönlichkeitsdimensionen erfasst. Im Rahmen dieser Studie wurden die 12 Items der Neurotizismus-Skala betrachtet, welche in Form von Aussagen formuliert sind, denen durch eine fünfstufige Likert-Skala der Grad der Zustimmung zugeordnet werden kann: starke Ablehnung (1) - Ablehnung (2) – neutral (3) – Zustimmung (4) - starke Zustimmung (5). Ein Summenwert aller Items ergibt den Gesamtskalenwert, wobei negativ formulierte Items invertiert bewertet werden (Costa & McCrae 1989). Das NEO-FFI ist sowohl für Jugendliche als auch Erwachsene geeignet und findet in vielen Bereichen der klinischen Psychologie sowie auch in der Forschung seinen Einsatz. Dem Test liegt eine hohe Reliabilität sowie Validität zu Grunde (Borkenau & Ostendorf 1993).

2.2.3 Abhängige Variable/Outcome-Parameter: Schwangerschaftsergebnis

Zum Erfolg der Geburt beurteilt wurden das Geburtsgewicht und die Gestationslänge. Einflussfaktoren wie Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen wurden mit aufgenommen und Gruppenunterschiede beachtet. Als Komplikation galten Schwangerschafts-bedingter Bluthochdruck (SIH, Schwangerschafts-induzierte Hypertonie, Blutdruck >140/90mmHg zwischen 20. SSW und 40 Tage post partum), Präeklampsie (Gestationshypertonie, Proteinurie und gegebenenfalls neurologische Symptome), HELLP-Syndrom (*Hemolysis* - Hämolyse, *Elevated Liver enzymes* - Erhöhung der Leberenzyme/Leberfunktionsstörungen, *Low Platelet count* - Thrombozytopenie/Gerinnungsstörungen), Gestationsdiabetes (erstmalig in der Schwangerschaft diagnostizierte Glucose-Stoffwechselstörung mit Normalisierung post partum), vorzeitige Wehentätigkeit (Wehentätigkeit vor der 37+0 SSW), vorzeitiger Blasensprung (PROM, Premature Rupture of Membranes - Eröffnung der Amnionhöhle mit Fruchtwasserabgang vor der Eröffnungsperiode) und Infektionen in der Schwangerschaft (allgemein, Soor-/

Pilzinfektion, Harnwegsinfekt) (Uhl 2013). Nicht gewertet wurden Unfälle/Verletzungen, die keinen Einfluss auf eine verfrühte Geburt hatten (z.B. Handfraktur). Früh- und Fehlgeburten wurden gesondert betrachtet. Ebenso aufgenommen wurde das Kindsgeschlecht (männlich/weiblich) und der Geburtstyp (Natürliche Geburt/Sectio caesarea - Kaiserschnitt, operative Beendigung der Schwangerschaft), wobei nicht gesondert zwischen primärer (geplant - auf Wunsch der Patientin oder aus medizinischer Indikation) und sekundärer Sectio (als Folge von Geburtskomplikationen) unterschieden wurde. Das Schwangerschaftsergebnis wurde innerhalb der ausgewählten Stressgruppen im Gruppenvergleich betrachtet.

2.2.4 Durchflusszytometrische Analysen

Zur Bestimmung der T-Zell-Phänotypen und Frequenzen im peripheren venösen Blut der Probandinnen wurden zu jedem Untersuchungszeitpunkt durchflusszytometrische Untersuchungen mit Proben aus peripherem, venösem Vollblut durchgeführt. Grundlage der Fluoreszenz-Durchflusszytometrie ist eine Antigen-Antikörper-Reaktion, bei der mit Fluoreszenzfarbstoff versehene Antikörper an charakteristische oder zu bestimmende Moleküle der Zellen, z.B. CD-Oberflächenmarker (cluster of differentiation), binden und diese dadurch markieren. Die Zellen werden anschließend durch ein Flüssigkeitssystem hydrodynamisch fokussiert, sodass sie einen Laserstrahl geeigneter Wellenlänge passieren. Durch Absorption der Lichtenergie strahlen die Fluorochrome proportional zur Menge der gebundenen Antikörper pro Zelle eine charakteristische Fluoreszenz aus, welche durch einen Photodetektor registriert wird. Somit können Zellpopulationen charakterisiert, identifiziert und quantifiziert werden. Neben der Fluoreszenz kann auch Streulicht erfasst werden. Das Vorwärtsstreulicht (FSC = Forward Scatter) ist ein Maß für die Beugung des Lichts im flachen Winkel und ist abhängig vom Volumen der Zelle. Das Seitwärtsstreulicht (SSC = Side Scatter) ist ein Maß für die Brechung des Lichts im rechten Winkel, die eine Aussage über Granularität der Zelle, Zellkerngröße etc. erlaubt. So können vor allem Blutzellen gut differenziert werden (Luttmann et al. 2009, S. 77-81).

Die extrazelluläre Färbung mit Antikörpern erfolgte direkt mit EDTA-Vollblut, welches maximal 3 Stunden zuvor in der Ambulanz per peripherer Venenpunktion entnommen wurde. Die Färbung erfolgte stets lichtgeschützt und Antikörper wurden auf Eis gehalten. Je 100 µl EDTA-Vollblut wurden in FACS-Tubes (BD

Falcon™ Polysterene Bound-Bottom Tube 5 ml, BD Biosciences) gegeben und es erfolgte die Zugabe (Eppendorf-Pipette Research Plus 2-20 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl, Eppendorf /Pipettenspitzen 200 µl, 1000 µl) der Antikörpermischungen (Antikörper-Mix 1: 1 µl CD4, 10 µl CD25, 3,3 µl CD127; Antikörper-Mix 2: 1 µl CD4, 1 µl CD8, 1 µl CD45RA, 5 µl CCR7), Durchmischen (Vortexer Press_to_mix „524“, RLABIN) und eine anschließende Inkubation bei Dunkelheit und Raumtemperatur für 30 Minuten. Anschließend wurden die Zellen mit 100 µl FACS-Lysing-Solution (BD FACS Lysing Solution, BD BioSciences), 1:10 verdünnt mit destilliertem Wasser (Distilled water H₂O, Kautex) gespült, durchgeführt nach Herstellerinstruktionen. Nach erneuter 10-minütiger Inkubation erfolgte die Zentrifugation (Zentrifuge Rotina 380R, Hettich) für 5 Minuten mit einer Geschwindigkeit von 1500 rounds per minute (rpm) bei 22°C und eine anschließende Resuspension der Zellen mit PBS (Dulbecos PBS, PAA Laboratories GmbH) nach Dekantieren des Überstands. Anschließend wurden die Proben erneut für 5 Minuten bei 22°C mit 1500 rpm zentrifugiert und der Überstand anschließend dekantiert. Nach Zugabe von je 300 µl PBS wurden die Proben bei -4°C gekühlt (Kühlschrank, Liebherr profiline) und lichtgeschützt bis zur Durchführung der durchflusszytometrischen Untersuchungen aufbewahrt.

Tabelle 1: Humane Antikörper verwendet für durchflusszytometrische Analysen von maternalen T-Zellen aus peripherem venösem Vollblut

Antigen-spezifität	Fluoreszenz-farbstoff	Klon	Verdünnung	Laser	Hersteller/Katalognummer
CD4	V500	RPA-T4	1:10	407nm	BioLegend/560769
CD25	PE	BC96	1	488nm	BioLegend/302606
CD127 (IL-7Rα)	PerCP-Cy5.5	HCD127	1:3	407nm	BioLegend/317610
CD8a	APC-Cy7	RPA-T8	1:10	633nm	BioLegend/301016
CD45RA	Pacific Blue™	HI100	1:10	407nm	BioLegend/304123
CCR7 (CD197)	Alexa Fluor® 647	TG8/CC R7	1	633nm	BioLegend/335603

Die Durchführung der fluoreszenz-durchflusszytometrischen Analysen erfolgte mit einem BD FACSCanto™ II Gerät (BD Biosciences), zur Verfügung gestellt und gewartet von der FACS Core Facility des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Der FACSCanto™ II ist geeignet für Mehrfachfluoreszenz-Analysen

und verfügt über 3 Laser, die bis zu 8 Farben detektieren können. Etwa 50.000 events innerhalb des Lymphozyten-Gates (siehe Abbildung 8: Gate A) wurden pro Probe aufgenommen. Die Daten wurden standardgemäß in einem Flow Cytometry Standard Format ausgegeben und als .fcs-Dateien gespeichert. Die Aufnahme erfolgte mit der BD FACS Diva™ Software (BD Biosciences). Die Auswertung der .fcs-Dateien zur Analyse der Phänotypen und Frequenzen maternaler Immunzellpopulationen wurde mit der FlowJo Flow Cytometry Analyses Software (Software Version 9.5.2. Mac, Tree Star Inc.) für ein MAC DOS Betriebssystem durchgeführt. Für die genaue Festlegung der Gates wurden ‚fluorescence minus one‘ (FMO)-Kontrollen durchgeführt. In einer FMO-Färbungs-Kontrolle sind alle genutzten Reagenzien einer Mehrfach-Fluoreszenz-Analyse enthalten, außer jenes, welches den Antikörper enthält, für welchen der zur Auswertung benötigte Schwellenwert festzulegen ist. Werte von Zellpopulationen, die trotzdem nicht eindeutig zu identifizieren waren, wurden ausgeschlossen.

Die Analyse-Strategie basiert auf mindestens 5×10^5 Lymphozyten, identifiziert durch Forward (FSC-A) und Side Scatter (SSC-A) während der durchflusszytometrischen Messung **(A)**. Aus dieser ausgewählten Gruppe hervorgehend wurden $CD4^+$ Zellen im Histogramm bestimmt **(D)** und $CD4^+CD25^+$ -Zellen wurden ausgewählt durch Fluoreszenz-Intensität von CD4 versus CD25 **(E)**. Hervorgehend aus Gate D ($CD4^+$) wurden regulatorische T-Zellen, definiert als $CD4^+CD25^+CD127^{low}$, in einem weiteren Gate durch Fluoreszenz-Intensität CD25 versus CD127 **(F)** bestimmt. Zur Bestimmung der $CD8^+$ -Zellen wurde erneut bei den ausgewählten Lymphozyten **(A)** begonnen. Aus diesem Gate weiterführend wurden $CD8^+$ -Zellen identifiziert durch Fluoreszenz-Intensitäten CD4 versus CD8 **(B)**. Die Charakterisierung der $CD8^+$ -Subtypen, $CD8^+$ naive Zellen ($CD45RA^+CCR7^+$), $CD8^+$ Effektor Zellen ($CD45RA^+CCR7^-$), $CD8^+$ Effektor Memory Zellen ($CD45RA^-CCR7^-$) und $CD8^+$ Central Memory Zellen ($CD45RA^-CCR7^+$), durch Gegenüberstellung der Fluoreszenz-Intensitäten CD45RA versus CCR7 **(C)**. Die Angabe der Zellfrequenzen erfolgte in %/absolute Zellzahl.

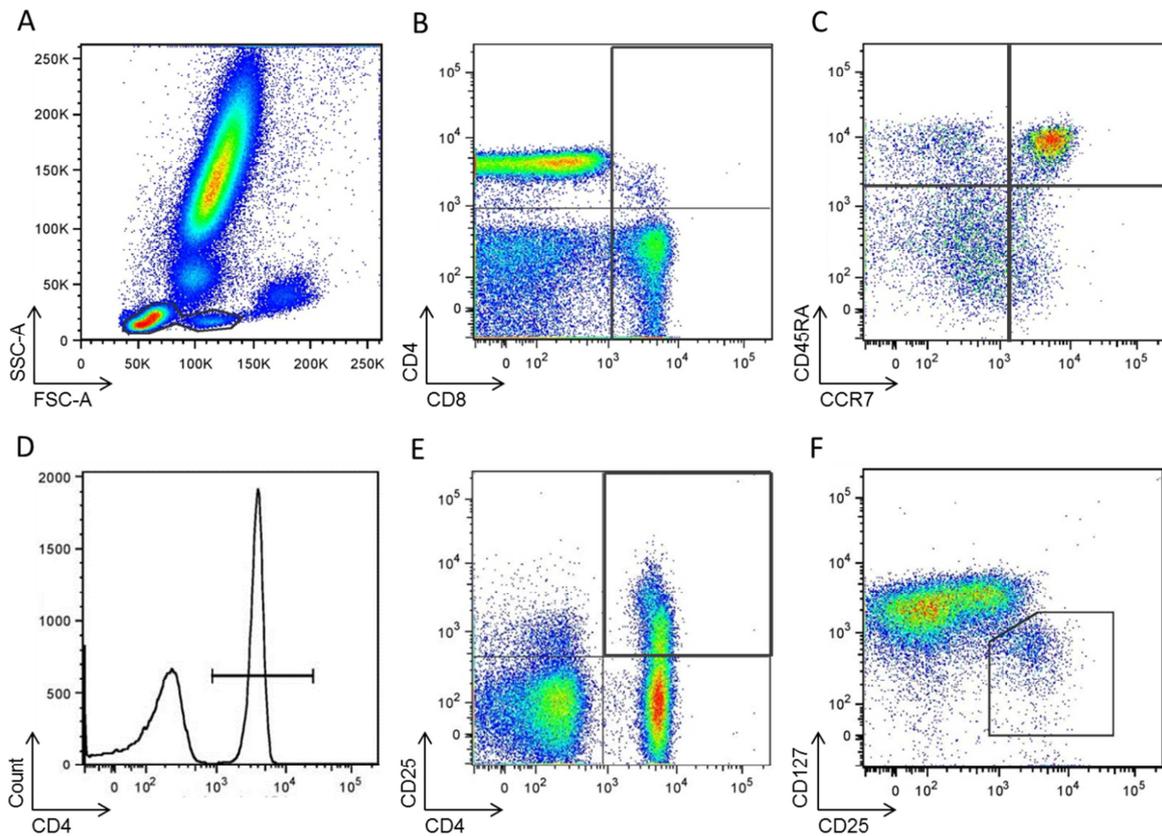


Abbildung 8: Gating-Strategie zur durchflusszytometrischen Analyse von Phänotypen und Frequenzen maternalen T-Zell-Populationen aus peripherem Vollblut, CD - Cluster of differentiation

2.2.5 PBMC-Isolierung

Zur Durchführung funktioneller Versuche mit Lymphozyten aus venösem Blut müssen diese möglichst rein und funktionstüchtig betrachtet werden. Zu diesem Zwecke erfolgte eine Zellseparation der Blutzellen unter Ausnutzung ihrer spezifischen Dichteigenschaften mit Hilfe eines Zellseparationsmediums und der Dichtegradienten-Zentrifugation. Periphere mononukleäre Zellen (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) aus dem Vollblut der Probandinnen wurden hierbei nach der Ficoll-Hypaque-Methode isoliert. Das eingesetzte Lymphozytentrenmedium Ficoll (PAA Laboratories GmbH) hat eine größere Dichte als PBMC, aber eine geringere Dichte als Erythrozyten und Granulozyten, so dass eine Fraktionierung des Blutes möglich ist. Beim Zentrifugieren bildet sich auf der Ficollschicht ein Leukozytenring, der leicht abgenommen werden kann (Luttmann et al. 2009, S. 53-55). EDTA-Vollblut wurde bei Raumtemperatur 1:2 mit sterilem PBS verdünnt (Pasteurpipetten 150 mm, Glas, Heinz Herenz/ Pipettierhilfe Pipetboy, Integra). Anschließend wurden je 4 ml vorgelegtes Ficoll (Fertiglösung

Ficoll-Hypaque: 5,7 g Ficoll 400, 9g Natriumdiatrizoat, auf 100ml Wasser) mit je 8 ml des verdünnten Bluts vorsichtig überschichtet und für 35 Minuten bei Raumtemperatur und einer Geschwindigkeit von 400g ohne Bremse, um die Schichtung zu erhalten, zentrifugiert. Die Leukozyten wurden mit einer sterilen Pasteurpipette (Einweg-Pasteurpipette steril gradiert 3,2 ml, Carl Roth GmbH) in ein 50 ml-Falcon (Cellstar® Tube 15 ml/50 ml, Greiner bio-one) überführt und mit kaltem, sterilen PBS aufgefüllt. Anschließend wurden sie für 10 Minuten bei Raumtemperatur und 350g sedimentiert und schließlich noch einmal mit 25 ml sterilem, kaltem PBS gewaschen. Das gebildete Zellpellet wurde in 1ml RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium 1640, Gibco® by Life Technologies™) + 10% FCS (fetal calf serum, fetales Rinderserum, Gibco® by Life Technologies™) aufgenommen zur Bestimmung der Lebendzellzahl. Für die Langzeitlagerung in Flüssigtickstoff wurde den Zellen 1 ml Einfriermedium (40 % RPMI + 40 % FCS) + 20 % DMSO (Dimethylsulfoxid, Sigma Life Science) hinzugefügt und diese in Kryovials (Cryo Tube™ Vials 1,8 ml, Thermo Fischer Sciences) überführt. Es folgte die Lagerung in einem Cryo Freezing Container (Nalgene™), in welchem flüssiges Ethanol ein langsames und konstantes Abkühlen der Zellen von - 1°C/Minute zunächst bis auf -80°C gewährleistet. Nach 24 bis 48 Stunden erfolgte der Transfer in flüssigen Stickstoff und die Lagerung bis zur Durchführung anschließender Versuche bei - 200°C.

Zum Auftauen wurde die Zellen zunächst langsam in 8 ml PBMC-Medium (kaltes, steriles PBS + 10% FCS) überführt und für 5 Minuten bei 1500rpm und 4°C sedimentiert. Anschließend folgte das Hinzufügen von 1ml Medium für die Zellzahlbestimmung. Die PBMC-Isolierung erfolgte stets unter hygienisch vorgeschriebenen Bedingungen unter einer sterilen Abzugswerkbank (Sicherheitsbank MSC Advantage, Thermo Scientific). Zur Bestimmung der Lebendzellzahl nach der PBMC-Isolierung wurden die Zellen in 1 ml RPMI + 10% FCS aufgenommen und 10µl der Zellsuspension mit 90 µl Türk-Lösung (Tuerk Solution, Flucal Analytical) verdünnt. Wiederum 10 µl dieser Zellsuspension wurde in eine Neubauer-Zählkammer (Neubauer-Zählkammer bright-line, Marienfeld Germany, Tiefe 0,1 mm; x 0,0025 mm²) überführt und die Zellzahl lichtmikroskopisch (Mikroskop Ph1 10/0.22, Carl Zeiss) bestimmt. Durchschnittlich wurde etwa eine Anzahl von 12 - 28 x 10⁶ Zellen pro Probandin gelagert. Es erfolgte die Aufnahme von 6-12 x 10⁶ Zellen/ml. Nach dem Auftauen für

funktionelle Versuche erfolgte die erneute Zellzahlbestimmung und Überprüfung der Zellviabilität. Die Zellen wurden in 1 ml PBMC-Medium aufgenommen und 10 µl dieser Zellsuspension mit 90 µl Trypanblau (Trypanblau 0,4 %, Gibco® by Life Technologies™) vermischt. Die Farbstoffmoleküle des anionischen Diazofarbstoffs können die intakte Zellmembran nicht überwinden, sondern gelangen nur bei abgestorbenen Zellen in das Zytoplasma und färben dieses. Trypanblau erlaubt somit eine Unterscheidung zwischen lebenden und toten Zellen. Es erfolgte erneut die Zählung ungefärbter Zellen in einer Zellkammer und die Bestimmung der Gesamtzellzahl.

2.2.6 T-Zell-Proliferationsassays

Für eine suffiziente adaptive Immunantwort ist die T-Zell-Aktivierung und die daraus resultierende T-Zell-Proliferation entscheidend. Zur Bestimmung der Glucocorticoid-Rezeptor-Sensitivität der T-Zellen wurden [³H]-Thymidin-Inkorporations-Proliferationsassays durchgeführt, bei welchen die induzierte T-Zellproliferation mit verschiedenen Konzentrationen des Glucocorticoids Hydrocortison inhibiert wurde. Es erfolgte wieder der Vergleich innerhalb der beiden Stressgruppen. Allerdings mussten für die Durchführung der Proliferationsassays einige Probandinnen ausgeschlossen werden, da durch das Vorhandensein von bestimmten Erkrankungen bzw. die Einnahme von Medikamenten, die Einfluss auf die HHNA haben, die Ergebnisse verfälscht werden könnten. Zu den Ausschlusskriterien gehörten das Vorliegen einer Hyper- oder Hypothyreose (8 Frauen) und Asthma bronchiale/Emphysem (2 Frauen), die Einnahme von Schilddrüsenmedikamenten (L-Thyroxin, α-Thyroxin, Thiamazol; 7 Frauen) oder Utrogest (Progesteronhaltiges Medikament, 1 Frau). Zusätzlich konnten nicht bei den Proben aller Frauen ausreichend vitale PBMC nachgewiesen werden bzw. wurden schon für andere funktionelle Versuche genutzt. Somit befanden sich zur Auswertung der Versuchsergebnisse der Proliferationsassays in der Subgruppe „Hoher Stress“ 7 Probandinnen, in der Subgruppe „Niedriger Stress“ 6 Probandinnen.

Zur Bestimmung der Glucocorticoid-Sensitivität der T-Zellen wurden T-Zell-Proliferationsassays durchgeführt, bei welchen die klonale Expansion stimulierter T-Zellen in Anwesenheit von GC gemessen wird. Zur Stimulation der T-Zell-Proliferation wurde Phytohämagglutinin (PHA) verwendet. Die mitogene PHA-

Stimulation ist ein schon lange eingesetztes Mittel zur gezielten Messung von T-Zell-Aktivität in gemischten Populationen wie humanen peripheren Leukozyten (Potter & Moore 1975), da es spezifisch auf T-Zellen wirkt und vermutlich über eine indirekte Quervernetzung glykosylierter Oberflächenproteine des T-Zell-Rezeptors (TCR) ihre Aktivierung und damit ihre Proliferation stimuliert (Kruisbeek et al. 2004). Proportional zur Proliferation von Zellen erfolgt die DNA-Neusynthese. Während der Zellteilung kommt es bei der semikonservativen Replikation der DNA zum Einbau von Nukleotiden in die neu entstehende Doppelhelix. Die Menge der eingebauten Nukleotide kann daher als Maß für das Ausmaß der Zellteilung und damit der Proliferation gewertet werden. Um diese Menge zu bestimmen, wurde das mit Tritium radioaktiv markierte Nukleotid Desoxythymidin ^3H -Thymidin eingesetzt und ermöglicht daher die Bestimmung der Zellproliferation über die Messung der eingebauten Radioaktivität (Luttmann et al. 2009, S. 112-114). Um die Steroidrezeptor-Funktion zu untersuchen bzw. den inhibierenden Einfluss von Glucocorticoiden (GC) auf die T-Zell-Proliferation, wurden die Messungen in Anwesenheit von verschiedenen GC-Konzentrationen durchgeführt. Als Agonist wurde Hydrocortison gewählt, da es am ehesten dem endogenen Agonisten der Glucocorticoid-Rezeptoren der T-Zellen entspricht. Der Verdünnungsreihe mit 11 Verdünnungen von 10^{-15} bis 10^{-5} M mit jeweils einer Differenz von 10^{-1} M wurde ausreichende Inhibition in vorhergehenden Versuchen nachgewiesen und sie enthält sowohl physiologische als auch pharmazeutische Dosierungen (Fischer et al. 2012). Alle Proliferationsassays mit den Zellen einer Probandin (Proben der 14., 24., 36. SSW) wurden am selben Tag durchgeführt und es wurden je eine Teilnehmerin aus der Gruppe ‚Hoher Stress‘ und ‚Niedriger Stress‘ miteinander gepaart, um Zeit und Materialartefakte zu vermeiden. Die Durchführung der Assays erfolgte mit der Unterstützung der Forschungsgruppe von Dr. Stefan Gold, Institut für Neuroimmunologie, Zentrum für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH).

Nach dem Auftauen der PBMC wurde diese auf eine 96-well Rundbodenplatte (Mikrowellplatte 96 well NunclonTM Δ Surface, Nunc A/S) überführt. Die Einsaatdichte der Zellen betrug $2 \times 10^6/\text{ml}^{-1}$ (200.00 Zellen pro well) in vorgelegtes Medium (RPMI-1640 versetzt mit Penicillin/Streptomycin und 2 mM L-Glutamin, Gibco® by Life TechnologiesTM). Anschließend folgte die Zugabe von 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ mitogenem PHA zur Proliferationsstimulation. Die Proliferation wurde inhibiert

durch das Hinzuführen von Hydrocortison in ansteigenden Dosen in einem Bereich von 10^{-15} bis 10^{-5} M Hydrocortison, welche in einer seriellen Verdünnungsreihe vorbereitet wurden. Eine Positivkontrolle, die nur PBMC und PHA ohne Inhibitor enthielt, diente als Referenz für die normalisierte Proliferation. Eine Negativkontrolle, die nur PBMC und das Grundmedium enthielt, wurde für die Bestimmung eines Stimulationsindex angelegt. Jede Probe in jedem Konzentrationsschritt sowie Positiv- und Negativkontrolle wurde in Triplets angelegt. Die Zellen wurden schließlich bei 37°C in 5% CO₂ für 48 Stunden inkubiert, anschließend erfolgte die Zugabe von je 1 µCi/well [³H]-Thymidin. Erneut wurden die Zellen 24 Stunden bei 37°C und 5% CO₂ bebrütet und anschließend mit einem Harvester 96® Mach III M (Tomtec, Inc.) gesammelt. Der ³H-Thymidin-Einbau in die DNA wurde mittels eines Liquid-Szintillations-Zählers gemessen (MicroBeta TriLux, Wallac 1450). Die Ergebnisse wurden als counts per minute (cpm) dargestellt. Die Anzahl der radioaktiven cpm bezog sich dabei jeweils auf die gleiche Zellzahl (200.000/well). Um sicherzustellen, dass eine Stimulation der Zellen stattgefunden hat, wurde ein Stimulationsindex (SI) bestimmt, berechnet durch Quotientenbildung aus dem Mittelwert der Negativkontroll-Triplets und dem Mittelwert der Positivkontroll-Triplets jeder Probe jeder Probandin. Die erhobenen Werte einer Probandin mussten hierbei für weitere Berechnungen ausgeschlossen werden, da sie keine Stimulationen aufzeigten. Zur weiteren Auswertung erfolgte die Normalisierung der gemessenen Ergebnisse auf die Positivkontrolle. Dafür wurde der Quotient aus dem Mittelwert eines Triplets und dem dazugehörigen Mittelwert des Positivkontroll-Triplets gebildet, sodass nun Daten der relativen Proliferation vergleichbar wurden. Der Gruppenvergleich der relativen Proliferation (bezogen auf die Positivkontrolle) erfolgte innerhalb der einzelnen Hydrocortison-Konzentrationsschritte.

2.3. Statistische Analyse

Alle Daten wurden auf Normalverteilung überprüft. Diese wurde rechnerisch überprüft und angenommen bei einem Signifikanzwert > 0,001 nach Shapiro-Wilk. Aufgrund der kleinen Stichprobe erfolgte auch eine visuelle Kontrolle mit Boxplots. Statistische Ausreißer und Extremwerte wurden nach Tabachnick & Fidell getestet und bei einem Wert von $z < 3,29$ als normalverteilt gewertet (Tabachnick & Fidell 2005). Innerhalb der großen Stressgruppen erfolgte der Ausschluss von

Ausreißern und Extremwerten bei Standardwerten von $z > 3,29$. Innerhalb der Untergruppen der Stresseinteilung wurden aufgrund der geringen Stichprobengröße keine Werte ausgeschlossen, sondern es erfolgte eine Anpassung der statistischen Testung. Bei kategorialen Variablen mit vorliegender Normalverteilung wurden die Gruppenvergleiche durchgeführt mit dem gepaarten, zweiseitigen Student's T-Test, bei nicht normal verteilten Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Für die Stichprobenvergleiche hinsichtlich ihrer soziodemographischen und klinischen Daten wurden Mittelwertvergleiche (Student's-t-Test) bzw. Chi-Quadrat-Tests genutzt. Die Daten der Versuchsergebnisse wurden jeweils als arithmetischer Mittelwert (MW) und Standardfehler des Mittelwerts (SEM) (durchflusszytometrische Analysen und T-Zell-Proliferationsassays) oder Standardabweichung (SD) bzw. als Prozent der Gesamtstichprobe angegeben (soziodemographische und psychometrische Daten).

Es wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ angenommen. Signifikanzen wurden mit folgenden p-Werten beschrieben: $p > 0,1$ nicht signifikant - $p \leq 0,1$ Tendenz - $p \leq 0,05$ * - $p \leq 0,01$ ** - $p \leq 0,001$ ***. Alle statistischen Berechnungen und die Überprüfung der Normalverteilungen wurden mit der SPSS Software (IBM SPSS 20 Statistics, IBM® Statistics) durchgeführt. Zur Darstellung der Daten im Rahmen von Graphiken wurde die GraphPad Prism-Software (GraphPad Prism® Version 5.01, Graphpad Software, Inc.) genutzt. Sämtliche weitere Tabellen, Abbildungen und die Texterstellung wurden mit Hilfe von Microsoft Word, Microsoft Excel und Microsoft Powerpoint (Microsoft Office Professional Plus 2010, © 2010 Microsoft Corporation) erstellt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Beschreibung der Gesamtstichprobe und Vergleich zur Hamburger Bevölkerung

Im Erhebungszeitraum von Januar 2011 bis Juli 2012 erklärten sich 81 Frauen jeweils in der 13. – 15. SSW zu einer Teilnahme an der PRINCE-Studie am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf bereit und beendeten bis einschließlich Juli 2012 ihre Schwangerschaft mit der Geburt ihres Kindes. Bei allen Frauen lag eine Unigravidität vor. Eine Frau wurde für diese Arbeit ausgeschlossen, da die Einflüsse der bei ihr vorliegenden chronischen Erkrankung des Morbus Bechterew auf Untersuchungen von Immunzellen und der HHNA nicht auszuschließen waren und damit Ergebnisse verfälscht werden könnten. Alle in diese Arbeit eingeschlossenen Teilnehmerinnen nahmen bis zum Schwangerschaftsende an der Studie teil und es lagen Daten zum Geburtsergebnis vor. Alle im folgenden Text nicht anders gekennzeichneten Daten zum bundesdeutschen und Hamburger Vergleich ergeben sich aus den Berichten und Analysen „Rund um Schwangerschaft und Geburt“ der Freien Hansestadt Hamburg (Freie Hansestadt Hamburg, Behörde für Soziales, Familie, Gesundheit und Verbraucherschutz (BSG) 2010).

Das durchschnittliche Alter der Teilnehmerinnen bei Studieneintritt lag bei 31,74 Jahren (SD = 3,88, Min = 22,17 Jahre, Max = 45,79 Jahre, n = 80). Damit liegt die Stichprobe in einem ähnlichen Bereich im Vergleich zum Durchschnitt der schwangeren Frauen in Hamburg bei 31,8 Jahre (Statistisches Bundesamt 2014). Der durchschnittliche Body-Mass-Index (BMI), berechnet aus Körpergröße und Körpergewicht gemessen zum ersten Untersuchungszeitpunkt, betrug 24,29 (SD = 3,47; Min = 18,5; Max = 38,4, n = 72) und liegt damit im Bereich des Normalgewichts (BMI < 18,5 Untergewicht; 18,5 – 25,0 Normalgewicht; 25,0 – 30,0 Übergewicht; >30,0 Adipositas) wie 67% der Schwangeren in Hamburg. Der durchschnittliche BMI ist nur schwer mit der Hamburger Bevölkerung zu vergleichen, da die meisten Daten vor bzw. zu Beginn der Schwangerschaft erhoben wurden und die Probandinnen dieser Studie sich bereits im 3./4. Monat der Schwangerschaft befanden. Die Mehrheit der Teilnehmerinnen befand sich zu Beginn der Studie in einer festen Beziehung (98,9%, Vergleich Hamburg 82%) und war berufstätig (86,3%, Vergleich Hamburg: 48%). Ein Großteil der Frauen besaß einen Hochschul- oder Fachhochschulabschluss (46,1%, n = 80) und

Tabelle 2: Beschreibung der Gesamtstichprobe

Gesamtstichprobe N = 80	
<i>Soziodemographische und geburtshilfliche Daten</i>	
Mütterliches Alter bei Studieneintritt (MW[SD])	31,74 [3,88]
BMI bei Studieneintritt (MW[SD])	24,29 [3,47]
Rauchen vor Schwangerschaft	5% (4/80)
Beziehungsstatus	
In Beziehung	98,8% (79/80)
Arbeitssituation	
Berufstätig	86,3% (69/80)
Bildungsstatus	
Hoch-/Fachhochschulabschluss	46,1% (35/76)
Abitur	25,0% (19/76)
Fachabitur	11,8% (9/76)
Mittlere Reife	17,1% (13/76)
Ethnizität Mutter	
Mitteleuropäisch	95,0% (76/80)
Eurasisch	2,5% (2/80)
Asiatisch	1,3% (1/80)
Afrikanisch	1,3% (1/80)
Ethnizität Vater	
Europäisch	96,3% (77/80)
Eurasisch	2,5% (2/80)
Afrikanisch	1,3% (1/80)
Erfolgreiche vorhergehende Schwangerschaften	78,1% (25/32)
<i>Erhobene psychometrische Daten</i>	
Stress bei Studieneintritt (MW[SD])	19,13 [5,75]
Neurotizismus (MW[SD])	26,07 [7,86]
Soziale Unterstützung	
Wahrgenommene soziale Unterstützung	7,68 [0,63]
Erhaltene soziale Unterstützung	53,38 [5,44]
<i>Erhobene Daten zu Schwangerschaft und Geburt</i>	
Geburtsgewicht (MW[SD])	3485,69 [464,10]
Gestationslänge (MW[SD])	39,72 [1,50]
Kindsgeschlecht	
Weiblich	37,5% (30/80)
Männlich	62,5% (50/80)
Schwangerschafts-/Geburtskomplikationen	16,7% (13/78)
Frühgeburten	3,80% (3/79)

Die Daten sind präsentiert als Mittelwert mit [Standardabweichung] oder in % (n/N). Das mütterliche Alter ist in Jahren, das Geburtsgewicht in Gramm und die Gestationslänge in Wochen angegeben.

stammte von mitteleuropäischen Eltern ab (Mutter 95%, Vater 96,3%, n = 80). In Hamburg betrug der Anteil nicht deutscher Gebärender 2008 22%, unter Frauen zwischen 35 und 65 Jahren besitzen etwa 24% einen Fach-/ Hochschulabschluss (Hamburger Behörde für Arbeit, Soziales, Familie und Integration 2014). Im allgemeinen bundesweiten Durchschnitt geben 12,6% auch Rauchen während der Schwangerschaft an, in Hamburg konstant 7% über die letzten Jahre. Alle Schwangeren mit Angabe von Rauchen auch während der Schwangerschaft

wurden jedoch nicht in die PRINCE-Studie aufgenommen. 11 Frauen (13,7%) gaben das Vorliegen einer chronischen Erkrankung an (10% aller Probandinnen Hypo-/ Hyperthyreose, 2,5% Asthma/Emphysem, 1,3% Migräne), somit waren 86,3% der Teilnehmerinnen frei von chronischen Erkrankungen (n=80). Außerdem gaben 11 der 80 Frauen (13,7%) die regelmäßige, wenn auch teilweise nur vorübergehende Einnahme von Medikamenten an (6,3% L-Thyroxin, je 1,3% α -Thyroxin, Thiamazol, Pantoprazol, Vomex, Utrogest), wobei dies nicht zwangsläufig dieselben Teilnehmerinnen waren, die eine chronische Erkrankung angegeben hatten. Zur geburtshilflichen Vorgeschichte gaben 33 der 80 Probandinnen (41,25%) bereits vorhergehende Schwangerschaften an. Von diesem Anteil waren 69,7% bereits einmal, 21,2% zweimal, 6,1% dreimal und 3,0% siebenmal schwanger. Aus diesen Schwangerschaften gingen in 75,8% der Fälle Kinder hervor (66,7% 1 Kind, 6,1% 2 Kinder, 3,0% 4 Kinder), 3,0% keine Angabe und in 21,2% der Fälle blieb die Schwangerschaft erfolglos. Dabei gab es allerdings nur bei 4 Fällen mehr als eine Fehlgeburt. Als vorhergehende erfolgreiche Schwangerschaft wurde somit gewertet, wenn mindestens eine Schwangerschaft in der Vorgeschichte zur Geburt eines Kindes geführt hat, was bei 25 von 32 Frauen (78,1%) der Fall war. Des Weiteren wurde nach dem Verlauf der aktuellen Schwangerschaft gefragt, wobei 13 Frauen das Auftreten von Schwangerschafts- und/oder Geburtskomplikationen angaben (16,25 %, n = 78). Diese umfassten in 53,9% der Fälle eine Infektion bzw. eine Soor-/ Pilzinfektion, bei 30,8% vorzeitige Wehentätigkeit, bei 15,4% Schwangerschafts-bedingten Bluthochdruck und zu je 7,7% einen vorzeitigen Blasensprung bzw. die Diagnose ‚Small for Gestational Age‘ (SGA, Gewicht und Länge liegen unterhalb der zehnten Perzentile der bevölkerungsbezogenen Wachstumskurve bzw. mindestens 2 Standardabweichungen unterhalb des Mittelwerts). Keine Frau gab als Komplikation eine Frühgeburt an. Per definitionem lag aber bei 3 der Frauen (3,8%, n = 79) eine Frühgeburt vor, mit der Geburt eines Neugeborenen vor Vollendung der 37. SSW. Im Hamburger Vergleich beträgt die Rate durchschnittlich 8%. Die im Bundesgebiet häufigste Komplikation der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (Präeklampsie, HELLP-Syndrom, Gestationshypertonie), normalerweise mit einem Auftreten von 6-8% verbunden, trat nur bei 2 Probandinnen (1,6%) in Form der Gestationshypertonie auf. Fehlgeburten ebenso wie Gestationsdiabetes (deutschlandweite Prävalenz 5%,

Hamburg 3%) wurden nicht angegeben. Des Weiteren wurde in 13 Fällen die Beendigung durch eine Sectio caesarea benannt. Auf genaue Ursachen konnte aufgrund des multiple-choice-Aufbaus der Geburtskarte zur Erhebung der Daten zum Schwangerschaftsergebnis nicht eindeutig geschlossen werden. Zwar wurden in 5 Fällen (5/13, 38,5%) Infektionen oder vorzeitige Wehentätigkeit als Schwangerschaftskomplikationen angegeben, jedoch nicht, wann diese genau auftraten und ob sie zur frühzeitigen Beendigung der Schwangerschaft führten oder ob eine geplante Sectio durchgeführt wurde (7,7% Fraktur, 15,4% Frühgeburt, 15,4% mit Terminüberschreitung bis zur 43.SSW, 46,2% ohne Angabe von Komplikationen). In Hamburg werden in der Altersgruppe von 25 bis 35 Jahren ca. 25-40% der Mütter durch eine primäre oder sekundäre Sectio entbunden. Das durchschnittliche Geburtsgewicht der Kinder in dieser Stichprobe lag bei 3485,69 g (SD = 464,10, Min = 2010,00 g, Max = 4505,00, n = 80), Hamburger Vergleich 3300g (Statistisches Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein 2008), und die durchschnittliche Gestationslänge bei 39,72 Wochen (SD = 1,49, Min = 34 Wochen, Max = 43 Wochen, n = 79). Ebenso werden 90% der Hamburger Neugeborenen termingerecht zwischen der 38. und 42. SSW geboren. Bei 8 Neugeborenen lag ein Geburtsgewicht von <3000g (8/80, 10,0%) in einem Fall davon verringertes Geburtsgewicht <2500g (1/80, 1,3%) vor. Von diesen Fällen trat nur bei 37,5% (3/8) eine Frühgeburt auf, 62,5% waren termingerecht. Es wurden mehr Jungen (62,5%, n = 80) als Mädchen geboren, wie auch deutschlandweit zu beobachten (Freie Hansestadt Hamburg, Behörde für Soziales, Familie, Gesundheit und Verbraucherschutz (BSG) 2010).

Zusammenfassend ist die Stichprobe aus der PRINCE-Studienpopulation etwa im gleichen Alter wie der Hamburger Durchschnitt, jedoch sind die Schwangeren aus der Stichprobe dieser Arbeit häufiger in einer festen Beziehung sowie arbeitstätig und haben einen höheren Bildungsstatus als der Hamburger Vergleich. Die Mütter sind weniger übergewichtig, rauchen weniger und haben weniger Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen als der bundesweite sowie auch Hamburger Durchschnitt. Werte des fetalen Geburtsgewichts und der Gestationslänge bewegen sich in einem ähnlichen Rahmen. In der Übersichtstabelle befinden sich des Weiteren die Mittelwerte der erhobenen psychometrischen Daten.

Tabelle 3: Orientierende Vergleichsübersicht der Studienkohorte mit der Hamburger Bevölkerung

	Studienkohorte	Hamburger Bevölkerung
Alter (in Jahren)	31,74	31,8 ^a
In Beziehung	98,9%	82% ^b
Berufstätig	86,3%	48% ^b
Hochschul- oder Fachhochschulabschluss	46,1%	24% ^c
Herkunft	Mitteleuropäisch 95%-96,3%	Deutschland 78% ^c
Frühgeburt (<37.SSW)	3,8%	8% ^b
Fehlgeburt	0%	3% ^b
Gestationsdiabetes	0%	3% ^b
Hypertensive Schwangerschaftserkrankung	1,6%	6-8% ^b
Durchschnittl. Geburtsgewicht	3485,79g	3300g ^d

Quellen: ^a(Statistisches Bundesamt 2014) ^b(Freie Hansestadt Hamburg, Behörde für Soziales, Familie, Gesundheit und Verbraucherschutz (BSG) 2010) ^c(Hamburger Behörde für Arbeit, Soziales, Familie und Integration 2014) ^d(Statistisches Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein 2008) *auch nicht schwangere Frauen im Alter von 35-64 Jahren.

3.2 Überprüfung der Gruppeneinteilung und Gruppenvergleich wahrgenommener Stress

Zur Erfassung des wahrgenommenen Stresses wurde die Perceived Stress Scale (PSS) benutzt. Der PSS-Mittelwert der gesamten Stichprobe zum ersten Untersuchungszeitpunkt betrug 19,13 (SD = 5,75, Min = 6, Max = 35, n = 63). Es konnten nur die Daten von 63 Teilnehmerinnen mit einbezogen werden, da der PSS-Fragebogen in der 14. SSW nicht oder nur fehlerhaft ausgefüllt worden war. Das Ranking erfolgte anhand der Werte zum ersten Untersuchungszeitpunkt (14.

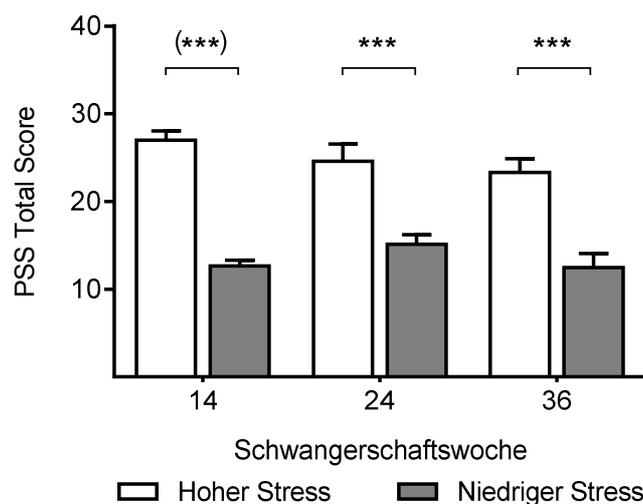


Abbildung 9: Wahrgenommener Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft im Gruppenvergleich zwischen höchstem und niedrigstem Quartil der Gesamtstichprobe zum ersten Untersuchungszeitpunkt. Die Daten sind präsentiert als Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts, ***, $p < 0,001$, PSS – Perceived Stress Scale.

SSW). Die Untersuchungsgruppen wurden gebildet aus dem Quartil der höchsten PSS-Gesamtwerte, Gruppe ‚Hoher Stress‘ (n = 14), und dem Quartil der niedrigsten PSS-Gesamtwerte, Gruppe ‚Niedriger Stress‘ (n = 17). Die beiden ausgewählten Gruppen zeigten zum ersten Untersuchungszeitpunkt einen signifikanten Unterschied im wahrgenommenem Stress ($p < 0,000$), wie vorausgesetzt worden war. Zur Betrachtung der Beständigkeit des subjektiven Stressempfindens wurden auch die Stresswerte der beiden folgenden Untersuchungszeitpunkte in derselben Gruppenkonstellation betrachtet. Auch hier zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden ausgewählten Stressgruppen ($p < 0,000$) zu allen Untersuchungszeitpunkten.

Analyse der Gruppenunterschiede der Untersuchungsgruppen

Tabelle 4: Vergleich der beiden ausgewählten Stressgruppen

	Gruppe mit niedrigem Stress n = 17	Gruppe mit hohem Stress n = 14	p - Wert
<i>Soziodemographische und geburtshilfliche Daten</i>			
Mütterliches Alter bei Studieneintritt	32,26 [4,25]	29,94 [3,57]	,116 ^a
BMI bei Studieneintritt	22,719 [4,01]	23,34 [6,20]	,769 ^b
Rauchen vor Schwangerschaft	5,9% (1/17)	14,3% (2/14)	,431 ^c
Beziehungsstatus			
In Beziehung	100% (17/17)	92,9% (13/14)	,263 ^c
Arbeitssituation			
Berufstätig	94,1% (16/17)	85,7% (12/14)	,431 ^c
Bildungsstatus			,610 ^c
Hoch-/Fachhochschulabschluss	47,1% (8/17)	42,9% (6/14)	
Abitur	23,5% (4/17)	21,4% (3/14)	
Fachabitur	5,9% (1/17)	21,4% (3/14)	
Mittlere Reife	23,5% (4/17)	14,3% (2/14)	
Ethnizität Mutter			*
Mitteleuropäisch	100% (17/17)	100% (14/14)	
Ethnizität Vater			*
Mitteleuropäisch	100% (17/17)	100% (14/14)	
Erfolgreiche vorhergehende Schwangerschaften	71,4% (5/7)	60,0% (3/5)	,679 ^c
<i>Erhobene psychometrische Daten</i>			
Neurotizismus	25,73 [9,65] ^d	31,50 [6,96]	,078 ^a
Soziale Unterstützung			
Wahrgenommene soziale Unterstützung	7,47 [0,72]	7,57 [0,852]	,570 ^b
Erhaltene soziale Unterstützung	53,47 [3,97]	53,79 [4,74]	,842 ^a

Die Daten sind präsentiert als Mittelwert mit [Standardabweichung] oder in % (n/N). Mit ^a gekennzeichnete Werte wurden mit dem T-Test, mit ^b gekennzeichnete bei nicht vorliegender Normalverteilung mit dem Mann-Whitney-Test, mit ^c gekennzeichnete Werte mit dem Chi-Quadrat-Test berechnet. Mit * gekennzeichnete Werte waren nicht ermittelbar, da konstante Werte vorlagen, ^d n=15. Das mütterliche Alter ist in Jahren angegeben.

Die ausgewählten Gruppen ‚Hoher Stress‘ (n = 14) und ‚Niedriger Stress‘ (n = 17), eingeteilt anhand der PSS-Werte zum ersten Untersuchungszeitpunkt (14. SSW), unterschieden sich in keinen der erhobenen soziodemographischen Daten wie Alter, BMI, Rauchen, Beziehungs-, Berufs- und Bildungsstatus und ethnische Herkunft. Auch die geburtshilfliche Anamnese zeigte keine signifikanten Unterschiede. Als Einflussfaktoren für wahrgenommenen Stress gelten auch Neurotizismus, als Ausdruck für eine beständige Persönlichkeitseigenschaft, und Soziale Unterstützung, als Coping-Ressource. Um den Einfluss dieser Faktoren auf unsere Berechnungen auszuschließen, wurden auch dahingehend die gebildeten Gruppen untersucht. Sie zeigten jedoch ebenfalls keinen signifikanten Unterschied bei Werten des Neurotizismus ($p = 0,683$) und den zwei untersuchten Skalen der sozialen Unterstützung ‚Wahrgenommene soziale Unterstützung‘ ($p = 570$) und tatsächlich ‚Erhaltene soziale Unterstützung‘ ($p = 0,842$).

3.3 Durchflusszytometrische Analysen

Zur Untersuchung der T-Zellpopulationen wurden venöse Vollblutproben verwendet, welche den Probandinnen per peripherer venöser Blutentnahme zu allen drei Untersuchungszeitpunkten (14., 24. und 36. SSW) entnommen wurde. Es erfolgte die durchflusszytometrische Analyse der Frequenzen und Phänotypen von CD4⁺ T-Zellen und CD4⁺CD25⁺ aktivierten T-Zellen und regulatorischer T-Zellen (Treg), in dieser Arbeit definiert als CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T-Zellen. Des Weiteren erfolgte die Analyse CD8⁺ T-Zellen und deren Subpopulationen CD8⁺ Effektor Zellen (Eff, CD45RA⁺CCR7⁻), CD8⁺ Naive Zellen (Na, CD45RA⁺CCR7⁺), CD8⁺ Effektor Memory Zellen (EM, CD45RA⁻CCR7⁻) und CD8⁺ Central-Memory-Zellen (CM, CD45RA⁻CCR7⁺). Die statistischen Berechnungen erfolgten erneut innerhalb der ausgewählten Stressgruppen ‚Hoher Stress‘ (n = 14) und ‚Niedriger Stress‘ (n = 17) basierend auf der Quartileinteilung nach der Perceived Stress Scale (PSS) zum ersten Untersuchungszeitpunkt. Dotplots, in denen Populationen nicht eindeutig zuzuordnen waren, wurden ausgeschlossen.

Der statistische Gruppenvergleich ergab zu keinem der Untersuchungszeitpunkte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ‚Hoher Stress‘ und ‚Niedriger Stress‘ in Bezug auf Zellfrequenzen von CD4⁺, CD4⁺CD25⁺ Lymphozyten und Treg. Trotzdem konnte beobachtet werden, dass stets höhere Zellfrequenzen in der Gruppe mit höherem Stress auftraten, wobei jedoch nie das Signifikanzniveau

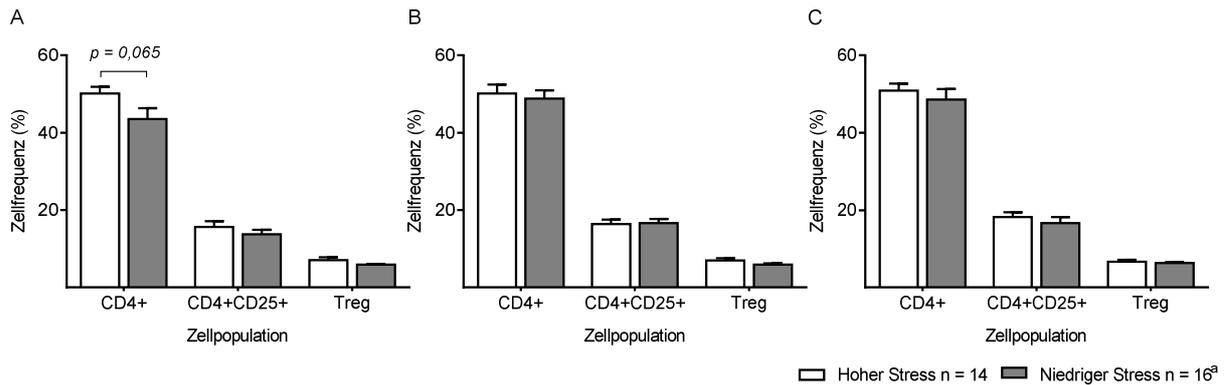


Abbildung 10: Frequenzen von CD4⁺-Lymphozyten und CD4⁺-Subpopulationen im peripheren Vollblut schwangerer Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenen Stress in der 14. (A), 24. (B) und 36. (C) Schwangerschaftswoche (SSW). ^a24. SSW: n = 17, CD4⁺CD25⁺: n = 16 (24. SSW) und n = 13 (36. SSW), CD - Cluster of differentiation.

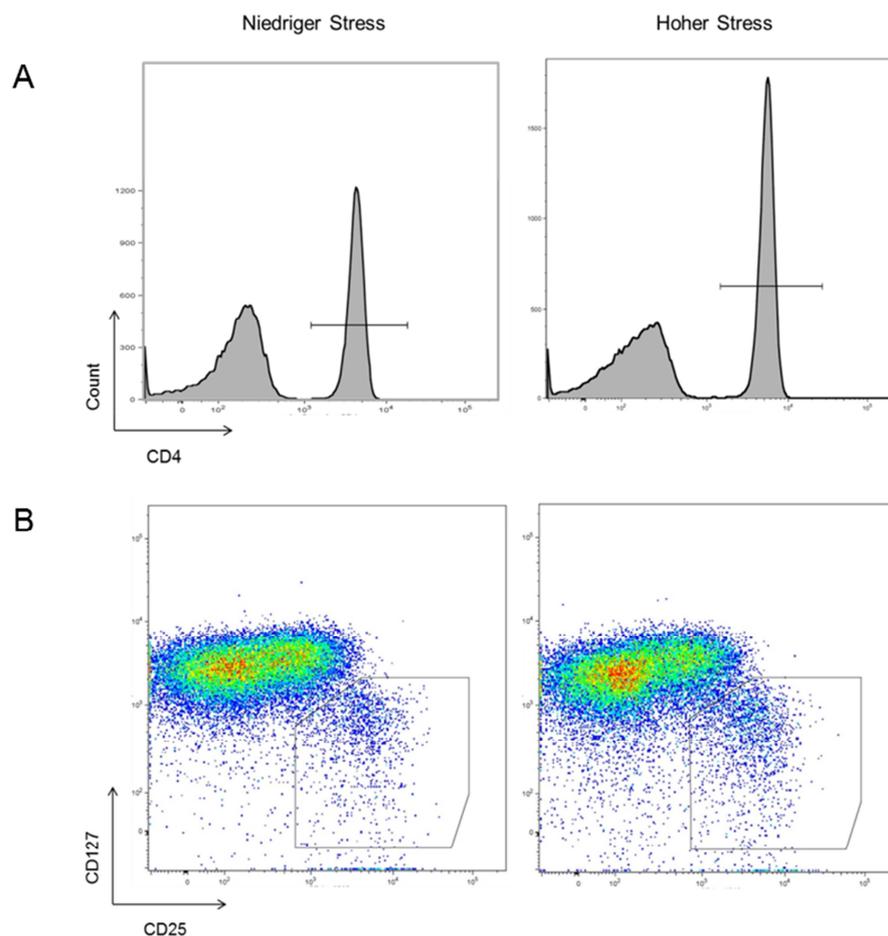


Abbildung 11: Darstellung der durchflusszytometrischen Analysen von CD4⁺ (A) und regulatorischen CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T-Zellen (B) von Frauen mit hohem und niedrigem Stress in der 14. Schwangerschaftswoche, CD - Cluster of differentiation.

erreicht wurde. Es zeigte sich nur eine statistische Tendenz ($p < 0,1$) erhöhter Frequenzen der CD4⁺ Lymphozyten zum Zeitpunkt der 14. SSW in der gestressten

Gruppe ($p = 0,065$). Danach zeigten Treg höhere Frequenz in der gestressten Gruppe innerhalb der 14. SSW ($p = 0,164$) und der 24. SSW ($p = 0,114$). CD4+-Lymphozyten und CD4+CD25+ sind dargestellt als Prozent der gemessenen Lymphozyten und Treg als Prozent der gemessenen CD4+-Lymphozyten.

Beim Vergleich der CD8⁺ Lymphozyten ergaben sich signifikant höhere Werte der CD8⁺ Central Memory Zellen (CM) innerhalb der gestressten Gruppe zum zweiten Untersuchungszeitpunkt, 24.SSW ($p = 0,047$), in der 14. SSW ($p = 0,083$) wurde das Signifikanzniveau nicht erreicht. Zum dritten Untersuchungszeitpunkt (36. SSW) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Auch im Bereich der CD8⁺ Lymphozyten und der anderen Subpopulationen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der gemessenen Zellfrequenzen. CD8⁺ Lymphozyten sind dargestellt als Prozent der gemessenen Lymphozyten, CD8⁺ Eff, Na, EM und CM als Prozent der gemessenen CD8⁺ Lymphozyten.

Tabelle 5: Frequenzen von CD8⁺ Lymphozyten und CD8⁺ Subpopulationen im peripheren Vollblut schwangerer Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenen Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft

Untersuchungs- zeitpunkt	Zellpopulation Frequenz [%]	Gruppe mit niedrigem Stress	Gruppe mit hohem Stress	p-Wert
14. SSW		n = 16	n = 14	
	CD8 ⁺ Lymphozyten	20,85 ± 1,16	19,60 ± 1,72	,542
	Effektor Zellen	16,84 ± 1,73	14,10 ± 2,40	,355
	Naive Zellen	33,91 ± 4,13	40,31 ± 3,24	,243
	Effektor Memory Zellen	44,55 ± 3,90	39,62 ± 3,07	,339
	Central Memory Zellen	4,71 ± 0,45	5,93 ± 0,50	,083
24. SSW		n = 17	n = 13	
	CD8 ⁺ Lymphozyten	22,02 ± 1,46	18,57 ± 2,08	,173
	Effektor Zellen	16,29 ± 2,07	14,05 ± 2,56	,498
	Naive Zellen	36,35 ± 4,42	40,71 ± 3,70	,474
	Effektor Memory Zellen	42,55 ± 3,90	38,99 ± 3,35	,510
	Central Memory Zellen	4,82 ± 0,41	6,23 ± 0,57	,047
36. SSW		n = 16	n = 14	
	CD8 ⁺ Lymphozyten	21,49 ± 1,29	21,09 ± 1,98	,865
	Effektor Zellen	17,54 ± 1,88	17,87 ± 2,76	,922
	Naive Zellen	35,54 ± 3,48	36,43 ± 3,69	,863
	Effektor Memory Zellen	41,78 ± 3,53	39,64 ± 3,68	,679
	Central Memory Zellen	5,11 ± 0,45	6,06 ± 0,67	,232

Die Daten sind präsentiert als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwerts. Signifikante Werte ($p < 0,05$) sind dick gedruckt gekennzeichnet, CD - Cluster of differentiation, SSW – Schwangerschaftswoche.

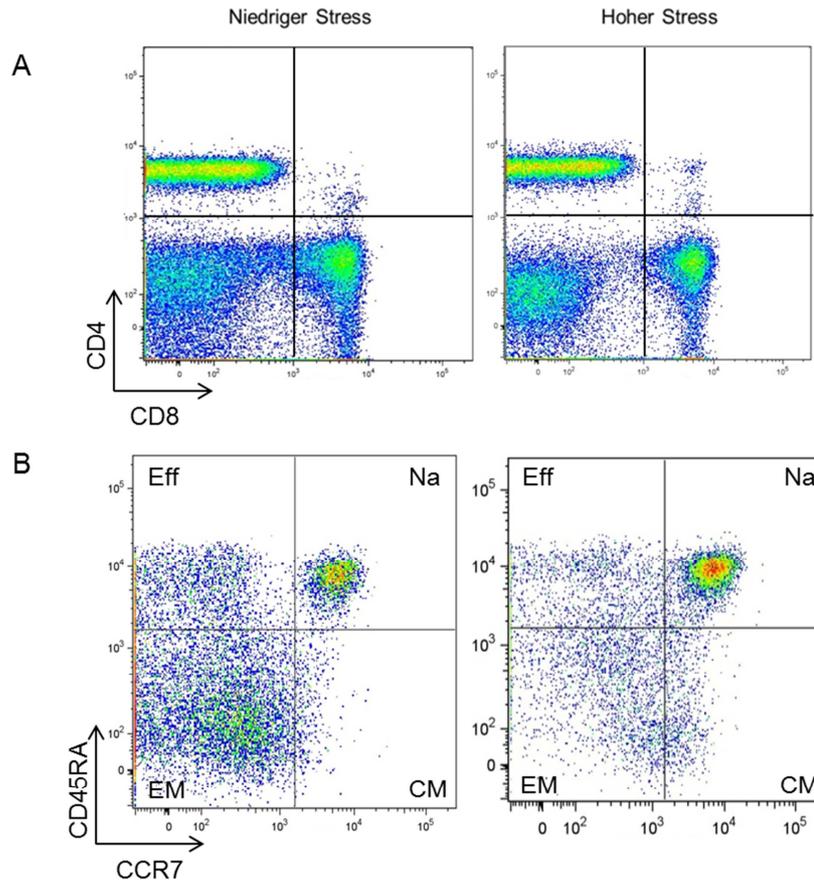


Abbildung 12: Darstellung der durchflusszytometrischen Analysen von CD8⁺ T-Zellen (A) und CD8⁺ Subpopulationen (B) von Frauen mit hohem und niedrigem Stress in der 14. Schwangerschaftswoche. Eff - Effektor Zellen, Na - Naive Zellen, EM- Effektor Memory, CM- Central Memory, CD - Cluster of differentiation.

Größere Varianz der Frequenzen regulatorischer T-Zellen in gestressten Probandinnen

Bei der statistischen Auswertung der durchflusszytometrischen Messergebnisse fiel eine wesentlich breitere, inhomogenere Streuung der Messwerte (Varianz) der regulatorischen T-Zellen innerhalb der gestressten Gruppe im Gegensatz zur ungestressten Gruppe auf. Dies wurde mit dem Levene-Test auf Varianzgleichheit getestet und die Werte ergaben zu allen drei Untersuchungszeitpunkten, 14. SSW ($p = 0,032$), 24. SSW ($p = 0,008$) und 36. SSW ($p = 0,013$), signifikante Unterschiede der Homogenität der Varianz. Bei allen weiteren gemessenen und ausgewerteten Zellpopulationen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden. CD4⁺-Lymphozyten und CD4⁺CD25⁺ sind dargestellt als Prozent der gemessenen Lymphozyten und Treg als Prozent der gemessenen CD4⁺-Lymphozyten. CD8⁺ Lymphozyten sind dargestellt als Prozent der gemessenen Lymphozyten, CD8⁺ Eff, Na, EM und CM als Prozent der gemessenen CD8⁺ Lymphozyten.

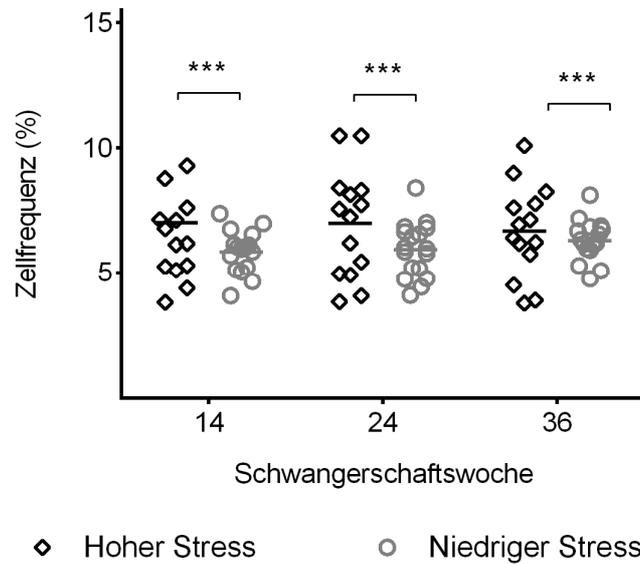


Abbildung 13: Homogenität der Varianz von Frequenzen regulatorischer T-Zellen im peripheren, maternalen Vollblut zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft bei Frauen mit hohem (n=14) und niedrigem (n=16) wahrgenommenem Stress, ***, $p < 0,001$, ^a36. Schwangerschaftswoche (SSW): n = 17.

Tabelle 6: Varianz der Frequenzen von CD4⁺ und CD8⁺ Lymphozyten und Subpopulationen aus peripherem Vollblut schwangerer Frauen mit niedrigem und hohem wahrgenommenen Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft

Untersuchungszeitpunkt	Zellpopulation Frequenz [%]	Gruppe mit niedrigem Stress	Gruppe mit hohem Stress	p-Wert
14. SSW		n = 16	n = 14	
	CD4 ⁺ -Lymphozyten ^a	127,10 (69,36–304,46)	43,26 (22,73–112,27)	,168
	CD4 ⁺ CD25 ⁺ -Lymphozyten ^a	20,70 (11,30–49,59)	31,29 (16,29–80,46)	,385
24. SSW		n = 17	n = 14	
	CD4 ⁺ -Lymphozyten ^a	76,53 (42,45–177,26)	76,58 (40,25–198,75)	,924
	CD4 ⁺ CD25 ⁺ -Lymphozyten ^a	18,71 (10,21–44,82) ^c	20,32 (10,63–52,51)	,797
36. SSW		n = 16	n = 14	
	CD4 ⁺ -Lymphozyten ^a	115,52 (63,04–276,71)	45,67 (24,00–118,54)	,082
	CD4 ⁺ CD25 ⁺ -Lymphozyten ^a	36,39 (19,51–90,51) ^d	22,28 (11,71–57,84)	,181
14. SSW		n = 16	n = 14	
	CD8 ⁺ Lymphozyten ^a	21,40 (11,68–51,26)	41,19 (21,65–106,90)	,469
	Effektor Zellen ^b	47,96 (26,17–114,89)	80,41 (42,26–208,69)	,597
	Naive Zellen ^b	273,56 (149,28–655,28)	146,97 (77,24–381,45)	,185
	Effektor Memory Zellen ^b	243,83 (133,05–584,05)	132,18 (69,47–343,06)	,218
	Central Memory Zellen ^b	3,31 (1,80–7,92)	3,49 (1,84–9,06)	,472

24. SSW	n = 17	n = 13	
CD8 ⁺ Lymphozyten ^a	36,22 (20,09–83,90)	56,51 (29,70–146,67)	,380
Effektor Zellen ^b	73,16 (40,58–169,45)	84,93 (44,63–220,42)	,870
Naive Zellen ^b	332,18 (184,25–769,41)	177,62 (93,02–459,40)	,145
Effektor Memory Zellen ^b	258,09 (143,16–597,80)	146,23 (76,85–379,54)	,132
Central Memory Zellen ^b	2,81 (1,56–6,50)	4,17 (2,19–10,83)	,152
36. SSW	n = 16	n = 14	
CD8 ⁺ Lymphozyten ^a	26,70 (14,57–63,95)	55,15 (28,98–143,13)	,530
Effektor Zellen ^b	56,63 (30,90–135,64)	106,72 (56,09–276,98)	,295
Naive Zellen ^b	193,95 (105,84–464,59)	190,66 (100,20–494,84)	,955
Effektor Memory Zellen ^b	199,13 (108,66–476,99)	189,78 (99,74–492,56)	,892
Central Memory Zellen ^b	3,18 (1,73–7,61)	6,20 (3,26–16,09)	,124

Die Daten sind präsentiert als Mittelwert (Unter- und Obergrenze des 95%-Konfidenzintervalls der Varianz), ^cn = 16, ^dn = 15, SSW – Schwangerschaftswoche.

Explorative Untersuchung

Unter der Annahme, dass die Proliferation der Treg womöglich verzögert einsetzt bzw. die Zeitspanne, in der eine reaktive Anpassung auf Stress erfolgt, unklar ist, könnte womöglich ein zeitlicher Zusammenhang zwischen Stress und Treg-Frequenz die inhomogene Streuung der Daten erklären. Zu diesem Zweck erfolgten explorative Analysen des korrelativen Zusammenhangs zwischen Werten von wahrgenommenem Stress und Treg-Frequenzen zum selben oder späteren Untersuchungszeitpunkt aller Frauen der Gesamtstichprobe.

Tabelle 7: Korrelativer Zusammenhang von wahrgenommenem Stress und der Frequenz regulatorischer T-Zellen im peripheren Vollblut bei schwangeren Frauen zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft

Untersuchungszeitpunkt	Wahrgenommener Stress	Regulatorische T-Zellen	n	Korrelationskoeffizient	p-Wert
	14. SSW	14. SSW	61	0,211	0,103
	14. SSW	24. SSW	62	0,310	0,014
	24. SSW	24. SSW	73	0,166	0,160
	24. SSW	36. SSW	71	0,135	0,261
	36. SSW	36. SSW	71	0,078	0,516

Signifikante Werte ($p < 0,05$) sind dick gedruckt gekennzeichnet, SSW - Schwangerschaftswoche.

Es zeigten sich eine positive Korrelation zwischen regulatorischen T-Zellen und Gesamtscores der Perceived Stress Scale. Das Signifikanzniveau wurde erreicht beim Zusammenhang von Stressscores in der 14. SSW und Treg-Frequenzen in der 24. SSW.

3.4 Analyse der T-Zell-Proliferationsassays

Für die Durchführung der T-Zell-Proliferations-Assays zur Bestimmung der Glucocorticoid-Sensitivität sollte erneut ein Vergleich in Stressgruppen stattfinden. Es erfolgte jedoch der Ausschluss einiger Probandinnen aufgrund bestimmter Erkrankungen und Medikationen wie beschrieben unter Material und Methoden. Außerdem waren nicht mehr von allen Probandinnen ausreichend kryokonservierte PBMC vorhanden. So wurden innerhalb der vorher gebildeten extremen Stresskohorten Untergruppen gebildet. Die Subgruppe des Quartils ‚Hoher Stress‘ umfasste nunmehr 6 Probandinnen, die Subgruppe des Quartils 7 Probandinnen. Um nachzuweisen, dass auch diese Konstellation der Untergruppen weiterhin eine Auswahl an Extremgruppen in Hinblick auf wahrgenommenen Stress darstellt, wurden erneut die Gesamtscores der Perceived Stress Scale (PSS) verglichen und zeigten weiterhin signifikante Unterschiede der Stressscores über alle Untersuchungszeitpunkte.

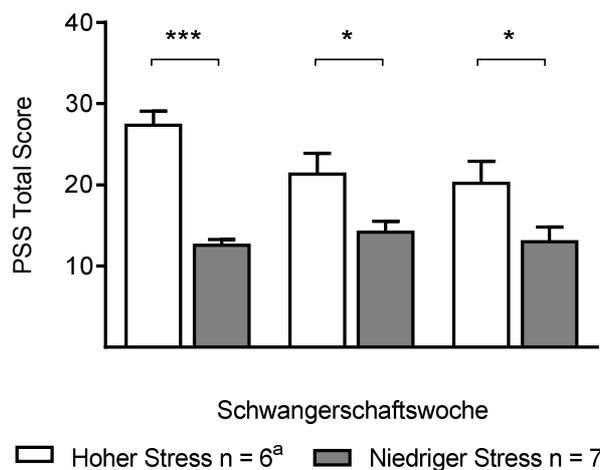


Abbildung 14: Wahrgenommener Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft in Untergruppen der Quartile ‚Hoher Stress‘ und ‚Niedriger Stress‘. *, $p < 0,05$; ***, $p < 0,001$.
^a36. SSW: $n = 5$, PSS–Perceived Stress Scale.

Die Gruppen ‚Hoher Stress‘ ($n = 6$) und ‚Niedriger Stress‘ ($n = 7$), ausgewählt aus dem höchsten und niedrigsten Quartil des anhand der PSS-Werte zum ersten Untersuchungszeitpunkt (14. SSW) eingeteilten Rankings, zeigen ein signifikant höheres Alter ($p = 0,010$) in der Gruppe mit niedrigem Stress. Sie unterschieden sich aber in keinen der anderen erhobenen soziodemographischen Daten wie BMI, Rauchen, Beziehungs-, Berufs- und Bildungsstatus und ethnischer Herkunft.

Auch die geburtshilfliche Anamnese zeigte keine signifikanten Unterschiede. Auch bei diesen Gruppen wurden als Confounder für den wahrgenommenen Stress Neurotizismus und Soziale Unterstützung untersucht. Auch dort zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei Werten des Neurotizismus ($p = 0,683$) und den zwei untersuchten Skalen der sozialen Unterstützung ‚Wahrgenommene soziale Unterstützung‘ ($p = 0,234$) und tatsächlich ‚Erhaltene soziale Unterstützung‘ ($p = 0,957$).

Tabelle 8: Vergleich der ausgewählten Untergruppen mit jeweils übergeordneten Quartilen eingeteilt nach hohem und niedrigem wahrgenommenem Stress

	Gruppe mit niedrigem Stress n = 7	Gruppe mit hohem Stress n = 6	p - Wert	Vergleich Gruppe ,Niedriger Stress' n = 17	Vergleich Gruppe ,Hoher Stress' n=14
<i>Soziodemographische und geburtshilfliche Daten</i>					
Mütterliches Alter bei Studieneintritt	34,5 [3,76]	29,0 [2,39]	,010 ^a	,241 ^a	,579 ^a
BMI bei Studieneintritt	22,7 [6,07]	25,2 [6,81]	,628 ^b	,260 ^b	,571 ^a
Rauchen vor Schwangerschaft	14,3% (1/7)	16,7% (1/7)	,906 ^c	,498 ^c	,891 ^c
Beziehungsstatus					
In Beziehung	100% (7/7)	83,3 (5/6)	,261 ^c	*	,515 ^c
Arbeitssituation					
Berufstätig	100% (7/7)	100% (6/6)	*	,512 ^c	,329 ^c
Bildungsstatus			,290 ^c	,289 ^c	,984 ^c
Hoch-/ Fachhochschul- abschluss	42,9% (3/7)	50,0% (3/6)			
Abitur	57,1% (4/7)	16,7% (1/6)			
Fachabitur	0% (0/7)	16,7% (1/6)			
Mittlere Reife	0% (0/7)	16,7% (1/6)			
Ethnizität Mutter			*	*	*
Mitteleuropäisch	100%(7/7)	100% (7/6)			
Ethnizität Vater			*	*	*
Mitteleuropäisch	100%(7/7)	100% (7/6)			
Erfolgreiche vorhergeh- ende Schwangerschaften	50,0% (1/2)	100% (2/2)	,248 ^c	,571 ^c	,290 ^c
<i>Erhobene psychometrische Daten</i>					
Neurotizismus	25,57 [10,326]	27,67 [2,860]	,683 ^a	,972 ^a	,275 ^a
Soziale Unterstützung					
Wahrgenommen	7,29 [0,76]	7,83 [0,41]	,234 ^b	,576 ^b	,659 ^b
Erhalten	53,86 [5,58]	54,0 [3,16]	,957 ^a	,849 ^a	,921 ^a

Die Daten sind präsentiert als Mittelwert mit [Standardabweichung] oder in % (n/n). Mit ^a gekennzeichnete Werte wurden mit dem T-Test, mit ^b gekennzeichnete aufgrund nicht vorhandener Normalverteilung mit dem Mann-Whitney-Test und mit ^c gekennzeichnete Werte mit dem Chi-Quadrat-Test berechnet. Mit * gekennzeichnete Werte waren nicht ermittelbar, da konstante Werte vorlagen. Das mütterliche Alter ist in Jahren, das Geburtsgewicht in Gramm und die Gestationslänge in Wochen angegeben.

Die Übersicht über die Ergebnisse des Vergleichs findet sich auf der linken Seite der abgebildeten Übersicht. Es erfolgte auch die Analyse der Gruppenunterschiede zwischen der jeweiligen Untergruppe und dem übergeordneten Quartil. So wurden auch soziodemographische, Schwangerschafts-assoziierte und erhobene psychometrische Daten des aus den PSS-Gesamtscores ermittelten Quartil ‚Hoher Stress‘ (n = 14) und der dazu-gehörigen Untergruppe ‚Hoher Stress‘ (n = 6) verglichen. Ebenso wurde das Quartil mit den niedrigsten PSS-Gesamtscores ‚Niedriger Stress‘ (n = 17) mit der dazugehörigen Untergruppe ‚Niedriger Stress‘ (n = 7) rechnerisch miteinander verglichen, um grobe Gruppenunterschiede auszuschließen. Die Ergebnisse dieser deskriptiven Analysen befinden sich auf der rechten Seite der abgebildeten Übersicht und es zeigten sich keine relevanten Unterschiede.

[³H]-Thymidin-Inkorporations-Assays wurden durchgeführt, um Aufschlüsse über die Proliferationsrate von mitogen stimulierten T-Zellen unter der Wirkung ansteigender Konzentrationen von Hydrocortison (10^{-15} bis 10^{-5} M) zu erhalten. Die Messung der radioaktiven Strahlung in counts per minute (cpm) kann als Maß für die Proliferation genutzt werden. Als Referenz für die Bestimmung relativer Proliferationsraten fungierte die bestimmte Thymidin-Inkorporation stimulierter Zellen ohne Zugabe des inhibierenden Liganden. Die Berechnung und Darstellung erfolgte im Gruppenvergleich zwischen den beiden ausgewählten Untergruppen jeweils aus dem Quartil ‚Hoher Stress‘ (n = 6) und ‚Niedriger Stress‘ (n = 5, SSW. 24: n = 6). Die Werte zweier Probandinnen mussten ganz bzw. teilweise ausgeschlossen werden, da der Stimulationsindex (SI) zu gering war und damit auf eine nicht ausreichende Stimulation der Zellen hinwies. Dargestellt sind die relativen Proliferationsraten der Zellen in Anwesenheit ansteigender Dosen von Hydrocortison zu allen drei Untersuchungszeitpunkten. Der Gruppenvergleich erfolgte in jedem Dosisbereich. Da von einer erhöhten Proliferationsrate in der Gruppe der gestressten Frauen ausgegangen wird, beziehen sich die Ergebnisse auf eine einseitige Signifikanz von $\alpha = 0,05$ (entspricht einem zweiseitigem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,1$).

Die Ergebnisse der Proliferationsassays zeigen eine Reduktion der [³H]-Thymidin-Inkorporation in Proben der gestressten Gruppen in Anwesenheit von niedrigen bis mittleren Konzentrationen Hydrocortison im Vergleich zu Proben der Gruppe mit wenig Stress bis zu einer Konzentration von 10^{-7} M. Der Unterschied

ist am deutlichsten zum ersten Untersuchungszeitpunkt (14. SSW) und vermindert sich über die nächsten zwei Untersuchungstermine (24. Und 36. SSW). Diese Beobachtung zeigt eine Erhöhung der Proliferationsrate in der 14. SSW innerhalb der gestressten Gruppe mit signifikantem Unterschied unter der Wirkung von 10^{-12} M Hydrocortison ($p = 0,042$) und Tendenzen in den Konzentrationsbereichen von 10^{-15} bis 10^{-13} M, bis sich die Werte im Hochdosisbereich immer mehr annähern. Einen ähnlichen Effekt konnte man diskret zum zweiten Untersuchungszeitpunkt in der 24. SSW beobachten, allerdings wurde das Signifikanzniveau nicht erreicht. Bei Proben des dritten Untersuchungszeitpunkts, der 36. SSW, konnte kein Unterschied im Proliferationsverhalten der beiden Gruppen mehr beobachtet werden. Dort zeigt sich sogar eine Änderung der Richtung, sodass die relative Proliferationsrate, die im Niedrigdosisbereich von Hydrocortison durchgängig höhere Werte in der gestressten Gruppe zeigte, nach einem Umschwung zwischen 10^{-8} und 10^{-7} M signifikant höhere Werte innerhalb der wenig gestressten Gruppe bei 10^{-6} M aufwies.

Auffallend ist, dass die Werte der relativen Proliferationsrate erst ab dem mittleren bzw. hohen Dosisbereich unter 1, entsprechend der ungehemmten Proliferationsrate, fallen. So geht man hierbei nicht von einer größeren Hemmung der Zellproliferation innerhalb der wenig gestressten Gruppe aus, sondern es wird eher eine verringerte Hemmung bei denselben Konzentrationen an Hydrocortison innerhalb der gestressten Gruppe gezeigt.

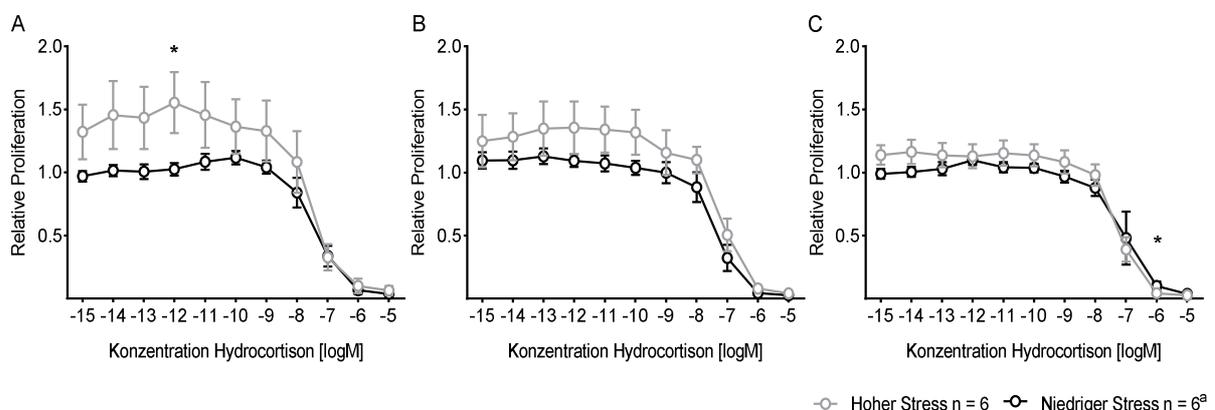


Abbildung 15: Relative Proliferationsrate stimulierter T-Zellen in Anwesenheit steigender Konzentrationen von Hydrocortison bei schwangeren Frauen in der 14. (A), 24. (B) und 36. (C) Schwangerschaftswoche (SSW) mit hohem und niedrigem wahrgenommenen Stress. Signifikante Werte sind mit * gekennzeichnet ($p < 0,05$), ^a14. und 36. SSW: $n = 5$.

Explorative Analysen

In korrelativen Untersuchungen konnten keine Zusammenhänge zwischen der gemessenen T-Zell-Proliferationsrate und einer bestimmte Subpopulation der durchflusszytometrisch erhobenen T-Zell-Frequenzen, CD4⁺CD25⁺ aktivierter T-Zellen, Treg, CD8⁺ und CD8⁺ Subpopulationen nachgewiesen werden.

3.5 Einfluss von pränatalem Stress auf das Schwangerschaftsergebnis

Zur Untersuchung des Einflusses von pränatalem Stress auf die Schwangerschaft wurde als Ergebnisparameter das Geburtsergebnis und die Gestationslänge betrachtet. Dieses wurde bewertet anhand des Geburtsgewichts des Neugeborenen (angegeben in Gramm), gemessen direkt nach der Geburt, und der Gestationsdauer (angegeben in Wochen), berechnet aus dem ersten Tag der letzten Periode, angegeben von der Probandin, und dem Zeitpunkt der Geburt. Des Weiteren wurden Gruppenunterschiede betrachtet in Bezug auf das Geschlecht der Neugeborenen, Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, den Geburtstyp (Spontangeburt/Sectio caesarea) und die Rate an Frühgeburten. Es zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen ‚Hoher Stress‘ und ‚Niedriger Stress‘ in Bezug auf das Geburtsgewicht ($p = 0,508$) und die Gestationslänge ($p = 0,282$).

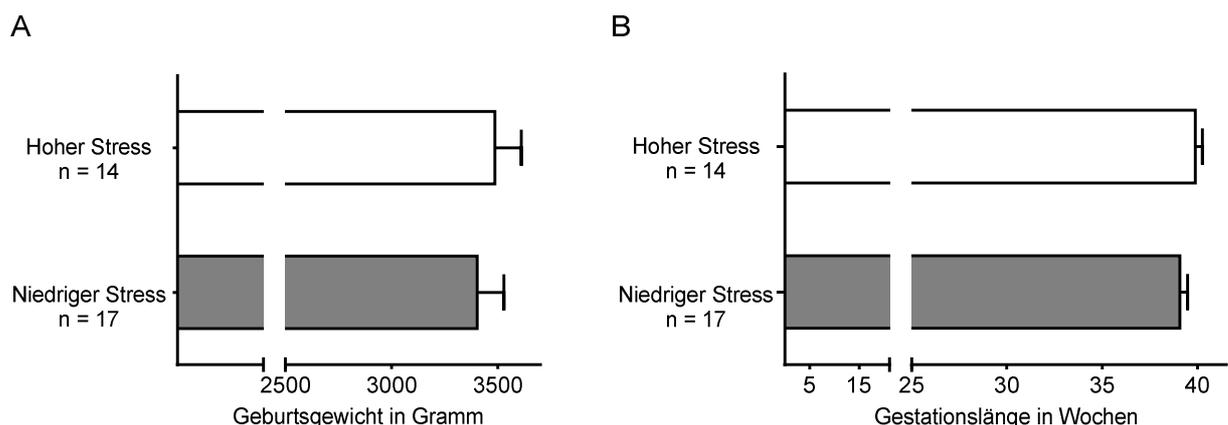


Abbildung 16: Geburtsgewicht (A) und Gestationslänge (B) im Vergleich von schwangeren Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenem Stress

Auch in den anderen Schwangerschafts-bezogenen Daten wie dem Geschlecht des Neugeborenen und dem Geburtstyp gab es keine Gruppenunterschiede, wobei bei der Angabe der Sectio caesarea nicht erfasst wurde, ob diese primär

(geplant) oder sekundär (als Folge einer Geburtskomplikation) durchgeführt wurde. Als Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen wurde in der Gruppe ‚Hoher Stress‘ vor allem Infektionen angegeben (3/3), wohingegen in der Gruppe ‚Niedriger Stress‘ nur einmal eine Infektion und bei zwei Probandinnen Schwangerschafts-bedingter Bluthochdruck sowie einmal vorzeitige Wehentätigkeit auftraten. In jeder Kohorte kam es zu einer Frühgeburt (Geburt des Neugeborenen < vollendete 37. SSW). Zum Auftreten von Fehlgeburten kam es in keiner der Kohorten.

Tabelle 9: Unterschiede des Schwangerschaftsergebnisses der beiden Geburtskohorten eingeteilt nach wahrgenommenem Stress

	Gruppe mit niedrigem Stress n = 17	Gruppe mit hohem Stress n = 14	p - Wert
Kindsgeschlecht			,171
Weiblich	52,9% (9/17)	28,6% (4/14)	
Männlich	47,1% (8/17)	71,4% (10/14)	
Geburtstyp			,316
natürlich	70,6% (12/17)	85,7% (12/14)	
Sectio caesarea	29,4% (5/17)	14,3% (2/14)	
Schwangerschafts-/Geburts- komplikationen	17,6% (3/17)	15,4% (2/13)	,869
Frühgeburten (<37. SSW)	5,9% (1/17)	7,1% (1/14)	,887

Die Daten sind präsentiert in Prozent der Gruppe (n/n) und wurden mit dem Chi-Quadrat-Test berechnet, SSW – Schwangerschaftswoche.

Auch in den ausgewählten Untergruppen für die Durchführung der funktionellen Assays erfolgte eine Betrachtung des Schwangerschaftsergebnisses abhängig von der Stressgruppe.

Es zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen ‚Hoher Stress‘ und ‚Niedriger Stress‘ in Bezug auf das Geburtsgewicht ($p = 0,965$) und die Gestationslänge ($p = 0,294$). Auch in den anderen Schwangerschafts-bezogenen Daten wie dem Kindsgeschlecht, Art der Geburt und Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen gab es keine signifikanten Gruppenunterschiede.

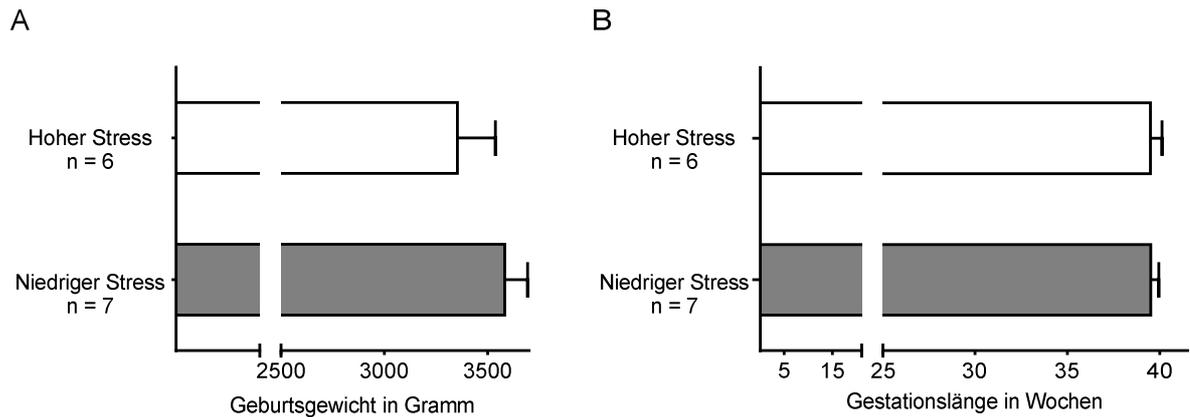


Abbildung 17: Geburtsgewicht (A) und Gestationslänge (B) im Vergleich von Untergruppen von schwangeren Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenem Stress

Tabelle 10: Unterschiede des Schwangerschaftsergebnisses von Untergruppen der beiden Geburtskohorten eingeteilt nach wahrgenommenem Stress

	Gruppe mit niedrigem Stress n = 7	Gruppe mit hohem Stress n = 6	p - Wert
Kindsgeschlecht			,391
Weiblich	57,1% (4/7)	33,3% (2/6)	
Männlich	42,9% (3/7)	66,6% (4/6)	
Geburtstyp			
natürlich	85,7% (6/7)	100% (6/6)	,335
Sectio caesarea	14,3% (1/7)	0% (0/6)	
Schwangerschafts-/Geburts- komplikationen	14,3% (1/7)	0% (0/6)	,335
Frühgeburten (<37. SSW)	0% (0/7)	16,7% (1/6)	,261

Die Daten sind präsentiert in Prozent der Gruppe (n/n) und wurden mit dem Chi-Quadrat-Test berechnet, SSW – Schwangerschaftswoche.

4 DISKUSSION

4.1 Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

Pränataler Stress stellt einen der Hauptrisikofaktoren für Schwangerschaftskomplikationen und langfristige negative Gesundheitskonsequenzen für den sich entwickelnden Fetus dar. Eine Assoziation zur Störung der fetomaternalen Toleranz durch Stress gilt als eine der Hauptursachen und eine Verbindung zum neuroendokrinen System wird vermutet. Bis zum heutigen Tag gibt es viele Studien, die sich entweder mit Stress, dem Immunsystem oder dem neuroendokrinen System während der Schwangerschaft und dem Einfluss von maternalen Stress auf den Schwangerschaftsverlauf beschäftigten. Im Rahmen der Prince-Studie führten wir eine Pilotstudie mit Betrachtung all dieser Netzwerke und deren Interaktionen in derselben Schwangerschaftskohorte im Rahmen einer longitudinalen, prospektiven Geburtskohortenstudie zur Erfassung von Risikofaktoren und Identifikation von Biomarkern durch.

4.1.1 Auswahl und Beschreibung der Studienpopulation und Vergleich zur Hamburger Bevölkerung

Die Studienpopulation zeigt sich sehr abweichend von der lokalen Bevölkerung. Zwar liegt das Durchschnittsalter in einem ähnlichen Bereich wie das von schwangeren Frauen in Hamburg, jedoch repräsentiert die PRINCE-Studienkohorte eine im Wesentlichen sehr ausgewählte Gruppe vor allem berufstätiger Frauen mit hohem Bildungsstand, die sich nahezu ausschließlich in einer festen Beziehung befinden, europäischer Abstammung sind und ein gutes soziales Netzwerk besitzen. Ein höherer Bildungsstatus geht auch nachgewiesenermaßen mit einem erhöhten Gesundheitsbewusstsein einher, was sich auch in den geringeren BMI-Werten sowie dem sehr geringen Anteil an Rauchen vor der Schwangerschaft widerspiegelt und auch die Teilnahme an einer solchen Studie wahrscheinlicher macht. Der BMI ist jedoch zu standardmäßig erhobenen Bundesland-spezifischen Daten nur schwer direkt zu vergleichen, da das Gewicht im Rahmen dieser Studie zum ersten Zeitpunkt bei Studieneintritt, also bereits in der 13. bis 15. Woche der Schwangerschaft, dokumentiert wurde. Die Studienpopulation stellt eine sehr ausgewählte, homogene, gut gestellte Gesellschaftsschicht dar, die grundsätzlich durch weniger existentielle Stressoren bedroht ist. Es ist bereits in zahlreichen Studien eine eindeutige Assoziation von

Schwangerschaftskomplikationen und einem niedrigen Bildungsniveau sowie fehlender sozialer Unterstützung belegt worden (Dunkel Schetter 2011; Feldman et al. 2000; Hobel et al. 2008; O'Hare & Creed 1995; Wadhwa et al. 1993; Wadhwa et al. 2001). Stressoren in Studienpopulationen mit sozioökonomisch schwachem und/oder Migrationshintergrund, die subjektiv ein erhöhtes Stressempfinden haben, stellen grundlegende Existenzängste wie Arbeitslosigkeit, finanzielle Probleme, Rassenkonflikte oder Gewalt dar (Dunkel Schetter 2011). Prinzipiell handelt es sich in dieser Kohorte also um eine Studienpopulation, die grundsätzlich weniger und auch anderen Stressoren ausgesetzt ist als ein Großteil der Bevölkerung. Eine breiter aufgestellte Rekrutierungsstrategie mit spezifischer Ansprache schwangerer Frauen aus sozial schwächeren Vierteln oder aber durch die Studierenerweiterung auf multizentrische Ebene durch Kooperationen könnte Heterogenität im Sinne soziodemographischer und -kultureller Faktoren sicherstellen. Auf der anderen Seite gestaltet sich ein direkter Vergleich zur prospektiven Ursachenforschung in einer heterogenen Studienpopulation deutlich schwieriger aufgrund einer größeren Streuung und einer höheren Anzahl von Einflussfaktoren. So scheint auch der Ansatz, das Stressempfinden arbeitstätiger Frauen und deren Konsequenzen zu untersuchen und zu benennen, von nicht unbedeutender Wichtigkeit zu sein, da Arbeitsstress und intensiveres Karrierestreben für Frauen vor allem aus Industrienationen im Verlauf der letzten Jahrzehnte ausgeprägter geworden sind und zu einer erhöhten Stressbelastung insbesondere auch während der Schwangerschaft führen können (Knackstedt et al. 2005). Diese bleibt auch trotz der sich stetig verbessernden medizinischen, ökologischen und sozioökonomischen Umstände weiter als Risikofaktor bestehen (Solano et al. 2011). Eine große Studienpopulation mit einem Mehrebenenansatz zur Datenerfassung von individuellen, soziokulturellen, sozioökonomischen und Umgebungsfaktoren ist nötig, um Gesundheitseinflüsse und -konsequenzen zu verstehen. Ein anderes mögliches Prozedere wäre die gezielte Untersuchung von Risikogruppen zur besseren Vergleichbarkeit mit prospektivem Ansatz zur Ursachenforschung.

4.1.2 Erfassung von wahrgenommenem Stress während der Schwangerschaft

Da die Stresserfassung einen zentralen Punkt dieser Arbeit darstellt, soll diese hier noch einmal gesondert betrachtet werden. Psychosozialer Stress während der Schwangerschaft, den die Frauen verspüren, wenn sie sich Ansprüchen und Herausforderungen nicht gewachsen fühlen, wird nicht standard- oder routinemäßig während der geburtshilflichen klinischen Schwangerschaftsbetreuung erhoben (Woods et al. 2010). Trotzdem hat sich Stress als deutlicher Risikofaktor für Schwangerschaftskomplikationen und langfristige negative Gesundheitsentwicklung des Fetus herausgestellt und Frühgeburtlichkeit ist weiterhin eine der führenden Ursachen für Mortalität und Morbidität bei Kindern, auch in modernen Gesellschaften mit hohen sozioökonomischen und medizinischen Standards. Präventive Ansätze, um die Inzidenz und Prävalenz zu verringern, hatten bisher wenig Erfolg (Christian 2012; Dunkel Schetter 2011; Knackstedt et al. 2005; Wadhwa 2005). Bisher haben Forschungsbemühungen in diesem Bereich nur wenige Empfehlungen für den klinischen Alltag geschaffen. Der Bedarf an Interventionsmaßnahmen ist jedoch enorm, vor allem für eventuelle Risikogruppen. Viele Arbeiten in dem Forschungsbereich zur Untersuchung von Stresseinfluss während der Schwangerschaft waren bisher gekennzeichnet durch Limitierungen bei der Konzeptualisierung und Operationalisierung, unzureichender Kontrolle von Kovariaten und Einflussfaktoren sowie häufigen Analysen mit retrospektivem Ansatz.

Als unabhängige Variable wurde in dieser Arbeit subjektiv empfundener akuter Stress, erhoben zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft, gewählt, um den Einfluss von maternalem Stress während der Schwangerschaft und seinen Einfluss auf T-Zell-Frequenzen und die GC-abhängige T-Zell-Proliferation im direkten Gruppenvergleich zu untersuchen. Der Einfluss auf das Schwangerschaftsergebnis wurde ebenso betrachtet. Die Gruppeneinteilung erfolgte anhand der erhobenen Stressscores in der 14. SSW. Mit der Perceived Stress Scale (PSS) wurde ein Self-Reported-Assessment-Fragebogen mit hoher Validität und Reliabilität angewendet (Cohen et al. 1983; Cohen & Williamson 1988), der schon seit vielen Jahren zur Evaluation des subjektiven Stressempfindens in klinischen Fragestellungen, gesondert auch in Studien mit geburtshilflichem Aspekt genutzt wurde (Lau & Yin 2011; Nelson et al. 2003). Self-assessment-Fragebögen

besitzen immer ein Risiko, dass Tagesstimmung und allgemeine Persönlichkeitsmerkmale oder auch fehlende Aufmerksamkeit beim Ausfüllen Einfluss auf die Beantwortung der Fragen haben. Den häufig diskutierten Einfluss von Persönlichkeitsvariablen konnten wir durch die Erhebung von Neurotizismus als Trait-Merkmal gut kontrollieren. Der PSS wird eine Vorhersagbarkeit von 4-8 Wochen zugeschrieben. Mit einer Dreifach-Erhebung über die Schwangerschaft erlaubte es somit eine Aussage über das akute Stressempfinden in der globalen Betrachtung über fast den gesamten Verlauf der Schwangerschaft. Die Stressgruppen ließen sich sehr gut einteilen, was nachgewiesen wurde durch eine klare eindeutige Gruppeneinteilung mit hoch signifikant unterschiedlichem Stressniveau, die auch Auswirkung über den restlichen Schwangerschaftsverlauf aufwies. Man muss allerdings anmerken, dass die ausgewählte Studienpopulation im Großen und Ganzen ein eher gemäßigtes Stresslevel aufwies. Von der Maximalanzahl des PSS-Score von 56 wurden in dieser Population maximal 35 angegeben, was für ein generell eher niedriges Stressniveau spricht, aber auch gut durch die oben genannten Punkte des sozioökonomischen Hintergrunds erklärt werden kann.

Diese Arbeit basiert auf der Einteilung nach einem Stress-Ranking zur Erfassung des subjektiv empfunden akuten Stresses in globaler Betrachtung über den Schwangerschaftsverlauf. Zur Entwicklung einer langfristigen Screening-Methode ist eine breitere Stresskonzeptualisierung nötig zur Erfassung von Qualität, Intensität und Quantität unterschiedlich auftretender und wahrgenommener Stressbelastung, die sowohl persönliche als auch kontextuelle Faktoren einschließt. Eine hohe Aussagekraft zur Beschreibung von subjektiv empfundenen Stress hat ebenso die Erfassung von chronischen Stressoren sowie zur Objektivierbarkeit die Dokumentation von auftretenden schwerwiegenden Lebensereignissen, welche schon häufig in klinischen, vor allem auch retrospektiven Studien angewandt wurde (Dunkel Schetter 2011; Hobel et al. 2008; O'Hare & Creed 1995; Wadhwa et al. 1993). Zur besseren Evaluation von Stress als Einflussfaktor während der Schwangerschaft sollte eine Kombination der Erhebung aller Stressformen in ein und derselben Studienpopulation erfolgen, um auch eventuell unterschiedliche Einflussstärken zu differenzieren. Ein entscheidender Einflussfaktor auf sowohl das subjektive Stressempfinden, als auch direkt auf den Schwangerschaftsausgang, ist die Schwangerschafts-assoziierte

Angst („pregnancy anxiety“), welche als hoch assoziiert mit erniedrigtem Geburtsgewicht und Änderungen der HHNA gilt (Dunkel Schetter 2011). Diese wurde in dieser Studie nicht erhoben, sollte aber bei zukünftigen Untersuchungen definitiv beachtet werden. Klinische Stresstestungen mit dem gleichen Stressor an unterschiedlichen Probanden unter ähnlichen Bedingungen, wie durchgeführt in Tierversuchen, würden natürlich den Einfluss von Umgebungsfaktoren verringern, sind aber in der Humanforschung aus ethischen und moralischen Gründen natürlich nicht vertretbar. Eine klare Kontrolle von Einflussfaktoren ist somit definitiver Bestandteil jeder Untersuchung im Bereich der Humanforschung.

4.1.3 Kontrolle soziodemographischer und psychometrischer Einflussfaktoren

Im Hinblick auf die Untergruppenbildung anhand der Stress-Scores zur Durchführung der durchflusszytometrischen bzw. T-Zell-Proliferationsassay-Analysen zeigten sich keine Gruppenunterschiede innerhalb der soziodemographischen Daten wie BMI, Ethnizität der Eltern der Mutter sowie Beziehungs-, Bildungs- und Berufsstatus. Ebenso zeigten sich im Gruppenvergleich keine Unterschiede im Verhältnis bereits erfolgreich beendeter Schwangerschaften, so dass es zu keiner versehentlichen Risikogruppenbildung kam. Einzig ein signifikanter Unterschied des mütterlichen Alters zeigte sich in den Subgruppen gebildet durch Stress-Extremwerte und abzüglich ausgeschlossener Probandinnen für die T-Zell-Proliferationsassays aufgrund von Vorerkrankungen und/oder Medikamenteneinnahme mit einem durchschnittlich höherem Alter bei Studieneintritt in der Gruppe mit niedrigem Stress. Man könnte vermuten, dass sich Frauen in etwas höherem Alter weniger gestresst fühlen durch gesammelte Lebenserfahrung. Andererseits könnten aber auch eher ältere Frauen durch das Ausschlusskriterium der Erkrankungen und Medikamenteneinnahme aus der Stressgruppe ausgeschieden sein. Des Weiteren konnten Gruppenunterschiede in Bezug auf Neurotizismus und Soziale Unterstützung ausgeschlossen werden, sodass ein Einfluss von Störfaktoren auf die empfundene Stressbelastung kontrolliert wurde.

Stress ist eine schwer objektivierbare und operationalisierbare Variable mit starken interindividuellen Unterschieden. Eine breitflächige Evaluierung von subjektivem und objektivierbarem Stressempfinden, sowie von akuten und chronischen Stressoren und die Betrachtung Schwangerschafts-spezifischer

psychosomatischer Besonderheiten sind notwendig. Standardisierte Instrumente sowie professionell durchgeführte Interviews als Screening-Methode zu mehreren Zeitpunkten der Schwangerschaft und postpartal sind nötig zur Erstellung eines komplexen maternalen psychosozialen Modells, welches verschiedene Formen von maternalem Stress, Sozialer Unterstützung, Persönlichkeitsvariablen und Haltungen gegenüber der Schwangerschaft beinhaltet. Dies in Zusammenhang mit maternalen Verhaltensmustern wie Ernährung, Rauchen, Substanzabusus und soziodemographischen Faktoren sowie Indikatoren des sozioökonomischen Status, erhoben in großen Studienkohorten, könnten mehr korrelative und kausale Analysen erlauben und sind notwendig zur Identifikation von Risikogruppen, Biomarkern und zur Entwicklung von gezielten therapeutischen Interventionen und präventiven Maßnahmen. Auch eine Objektivierung des Stressempfindens sollte in Betracht gezogen werden durch Testung der Aktivität der Stressachse, der HHNA, und anderer Stresshormone.

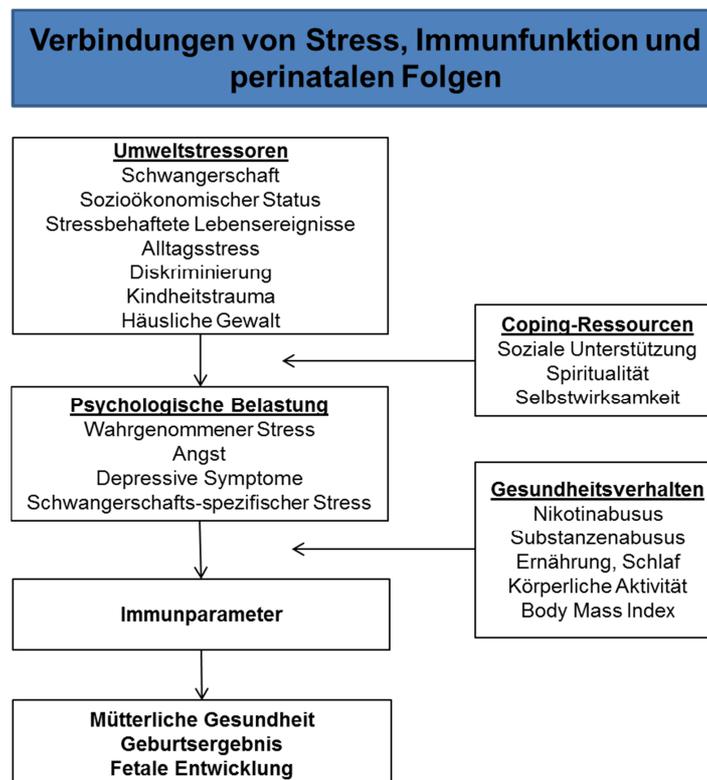


Abbildung 18: Verbindungen von Stress, Immunfunktion und perinatalen Folgen. Quelle: in Anlehnung an Christian 2012./ Neuroscience & Biobehavioral Reviews Vol. 36 (1), adaptiert und frei übersetzt (Christian 2012).

4.1.4 Kein Stress-assoziiertes Unterscheid der T-Zell-Frequenzen

Es wurden Frequenzen von CD4⁺ T-Zellen, aktivierten CD4⁺ T-Zellen und insbesondere CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg sowie CD8⁺ T-Zellen und Subpopulationen zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft bestimmt, um zu ermitteln, ob akut empfundener Stress zu einer Änderung der Proliferation und damit zu Verschiebungen der Immunanpassung an die Schwangerschaft führt. Es wird angenommen, dass Treg, die eine unabdingbare Rolle innerhalb der fetomaternalen Immuntoleranz zur Verhinderung einer Abstoßung des Fetus spielen, verminderte Proliferation bzw. Frequenzen bei Stressbelastung zeigen (Knackstedt et al. 2005; Kwak-Kim et al. 2014). Eine Verringerung der Kontrolle und Suppression aktivierter T-Zellen, vor allem von CD8⁺ T-Zellen, die eine Hauptrolle bei immunologischen Abstoßungsreaktionen spielen, kann die Folge sein. Es wird vermutet, dass akute pränatale Stressbelastung eine verringerte Immuntoleranz gegenüber dem Fetus zur Folge hat, einhergehend mit einer geringeren Treg-Zahl und einem daraus resultierenden Anstieg aktivierter CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen.

In den durchgeführten Untersuchungen innerhalb der ausgewählten Stressgruppen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen T-Zell-Frequenzen von Treg, CD4⁺CD25⁺ und CD8⁺ T-Zellen-Population in Gruppen mit hohem und niedrigem Stress nachgewiesen werden. Es wurde jedoch schon in zahlreichen klinischen Studien ein Zusammenhang von Stress und einer verringerten Treg-Zahl im Sinne einer insuffizienten Immunanpassung mit Spontanaborten und negativem Schwangerschaftsausgang nachgewiesen (Alijotas-Reig et al. 2014; Aluvihare et al. 2004; Teles et al. 2013; Toldi et al. 2012; Sasaki et al. 2004). Es wird vermutet, dass maternaler Stress zu einer Aufhebung bzw. zu einer insuffizienten Treg-Anpassung während der Gestationsphase führt, allerdings gibt es bisher keine Daten, die klare mögliche Mediatoren belegen (Aluvihare et al. 2004; Knackstedt et al. 2005). Des Weiteren wurden schon klare Zusammenhänge von steigenden Raten von CD8⁺ T-Zellen im peripheren Blut und in der Dezidua sowohl mit steigendem subjektiv empfundenen Stress (Arck 2001; Maes et al. 1999) als auch als entscheidender Faktor bei fetalen Abstoßungsreaktionen (Tilburgs & Strominger 2013) beschrieben. Jedoch konnten auch dahingehend keine Stress-assoziierten Veränderungen der Zellzahlen in Gruppen mit hohem

und niedrigem empfundenen Stress in der hier durchgeführten Studie nachgewiesen werden. Ursache dafür könnte definitiv eine zu kleine Stichprobengröße darstellen, die noch verstärkt wird durch eine geringe Anzahl der einzelnen untersuchten Gruppen zur Generierung der Stress-Extremgruppen. Sodass die statistische Power in diesem Zusammenhang gegebenenfalls nicht ausreicht, um Ergebnisse mit Signifikanzniveau zu erreichen. Dies sollte bei der Fortsetzung der Untersuchungen bedacht und durch eine deutliche Erhöhung der Probandenzahl ausgeglichen werden.

Bei der statistischen Auswertung der durchflusszytometrischen Messergebnisse fiel jedoch eine signifikant breitere, inhomogenere Streuung der Messwerte der regulatorischen T-Zellen innerhalb der gestressten Gruppe auf, welche sich über alle drei Untersuchungstermine deutlich zeigte. Bei allen weiteren gemessenen und ausgewerteten Zellpopulationen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden. Weitere explorative Analysen ergaben eine signifikant positive Korrelation zwischen Stressexposition zum ersten Erhebungszeitpunkt und der Treg-Frequenz zum darauffolgenden Termin. Große Varianzstreuungen der Treg-Subpopulation nur innerhalb der gestressten Untersuchungsgruppe könnten Ausdruck einer verzögert einsetzenden Treg-Proliferation als Folge der Stressexposition sein. Es gibt bisher keine Daten, in welchem zeitlichen Rahmen eine Anpassung der Proliferation von Immunzellen erfolgt. Weitere Untersuchungen und engmaschigere Kontrollen auch zeitlicher Zusammenhänge sind notwendig. Des Weiteren sollten spezifischere Untersuchungen nicht nur quantitativer sondern auch qualitativer Natur sein, z.B. durch Messung der Änderung der suppressiven Aktivität der Treg durch Erweiterung des durchflusszytometrischen Panels um den intrazellulären Transkriptionsfaktor FoxP3, der sich inzwischen als spezifischer Marker für die Suppressionsaktivität speziell von Treg etabliert hat (Sakaguchi et al. 2010; Somerset et al. 2004). In dieser Arbeit wurden nur die peripheren T-Zellen betrachtet. Interessant wäre auch eine Darstellung von T-Zellen an der fetomaternalen Kontaktstelle oder in anderen Immunorganen. Vor allem in der Dezidua sind sowohl Treg (Dimova et al. 2011; Sasaki et al. 2004) als auch CD8⁺ T-Zellen, insbesondere aktivierte differenzierte CD8⁺ EM-T-Zellen, als vorherrschende T-Zell-Population gegenüber den CD4⁺ T-Zellen in höherem Maße vorhanden (Tilburgs et al. 2006), sodass sie als fetomaternalen Kontaktstelle einen Ort der Immunabstoßung und damit ein Zentrum des Interesses darstellt.

Untersuchungen von Plazentagewebe und Immunorganen wie drainierende Lymphknoten oder Milz zu verschiedenen Gestationszeitpunkten werden schon seit langem in der Maus- und Rattenforschung umgesetzt, lassen sich jedoch aus offensichtlichen ethischen Gründen in der Humanforschung nicht realisieren. Jedoch könnte eine Gewinnung von Plazentagewebe postpartal mit Zustimmung der Probandin für weitere immunologische Untersuchungen in Betracht gezogen werden. Auch zeigt sich pränataler Stress mit veränderten Immunparametern des Fetus bzw. Neu-geborenen assoziiert (Hinz et al. 2010; Knackstedt et al. 2005), sodass auch die Gewinnung von Nabelschnurblut zur Evaluierung des fetalen Immunstatus von Bedeutung sein kann. Auch regulatorische Subpopulationen anderer T-Zell-Populationen wie regulatorische CD8⁺ T-Zellen (Rifa'i et al. 2004) stellen einen zentralen Punkt der zukünftigen Forschung dar. Des Weiteren sollte das durchflusszytometrische Panel in derselben Studienpopulation erweitert werden um andere wichtige Immunzellen in der Schwangerschaft wie NK-Zellen und APZ, die für die T-Zell-Aktivierung von entscheidender Bedeutung sind, um z.B. auch Verschiebungen innerhalb von Immunzellpopulationen zu erkennen. Die Rolle des angeborenen Immunsystems, sowohl in der Peripherie als auch in der Dezidua, wurde bisher nur wenig untersucht. Zukünftige Studien sollte auch dies in Betracht ziehen, da einige Schwangerschaftskomplikationen mit der Aktivierung des angeborenen Immunsystems assoziiert zu sein scheinen (Veenstra van Nieuwenhoven 2003). All dies wurde in der Fortführung der PRINCE-Studie durchgeführt.

Eindeutige Nachweise für Stress-assoziierte Veränderungen der Immunadaptation während der Schwangerschaft und Folgen für die Schwangerschaftserhaltung und fetale Entwicklung wurde bisher schon häufig beschrieben. Trotz fehlender eindeutiger Ergebnisse in dieser Arbeit, scheint es klar impliziert, dass Forschungen in großem Maße fortgeführt werden müssen zur Erlangung von wichtigen Erkenntnissen am Menschen. Das Verständnis des Immunsystems während der Schwangerschaft ist schon lange ein zentrales Forschungsthema in der Reproduktionsmedizin. Die fetomaternale Toleranz zu verstehen ist aber auch von entscheidender Bedeutung in anderen medizinischen Forschungsbereichen, z.B. zum Verständnis und zur Therapieentwicklung von Autoimmunerkrankungen, Tumorentstehung und innerhalb der Transplantationsmedizin.

4.1.5 Verminderte GC-Resistenz von T-Zellen unter pränatalem Stresseinfluss

Die Schwangerschaft stellt einen vorübergehenden Zustand des Hypercortisolismus dar, der mit erhöhten Spiegeln aller Hormone der HHNA (Wadhwa 2005; Arck 2001) und gleichzeitig gedämpfter HHNA-Reaktivität auf Stressexposition zum Schutz von Mutter und Fetus vor einem GC-Überschuss einhergehen (Brunton 2010; Christian 2012). Es wurde die Proliferationsrate mitogen stimulierter T-Zellen unter der Wirkung ansteigender GC-Konzentration bestimmt, um zu ermitteln, ob akut empfundener psychosozialer Stress Einfluss auf die Veränderung der GC-Sensitivität von T-Zellen hat, als möglicher Weg der Stressvermittlung auf Immunzellen. Ausgegangen wurde von einer erhöhten Proliferationsrate in der Gruppe gestresster Frauen, da eine Stress-assoziierte fehlende Suppression der T-Zell-Aktivierung angenommen wurde.

Frauen in der Gruppe mit hohem Stress zeigten höhere Werte der T-Zell-Proliferation vor allem in Anwesenheit von Hydrocortison im Niedrig- bis Mitteldosisbereich des Hydrocortisonliganden im Vergleich zu Frauen mit niedrigem Stress. Der Unterschied ist am stärksten ausgeprägt in der 14. SSW und vermindert sich über die nächsten zwei Untersuchungszeitpunkte, was zur Einteilung der Stressgruppen anhand der Stress-Scores in der 14. SSW als Stress-vulnerabelste Periode passt. In der 36. SSW sind im Niedrig- und Mitteldosisbereich keine Unterschiede mehr nachweisbar. Auffallend ist, dass die Werte der relativen Proliferationsrate innerhalb der gestressten Gruppe erst ab dem mittleren bzw. niedrigen Dosisbereich unter die relative Proliferationsrate fallen, die in diesem Falle der ungehemmten Proliferationsrate entspricht und als Referenz für die durch Hydrocortison gehemmte Proliferation gilt. Die Werte der ungestressten Gruppe entsprechen in etwa der ungehemmten Proliferationsrate. So würde man hierbei nicht von einer etwaigen größeren Hemmung der Zellproliferation durch GC innerhalb der gestressten Gruppe ausgehen, sondern könnte eher eine verringerte Hemmung innerhalb der ungestressten Gruppe vermuten. Angenommen werden könnte also, dass Stress nicht zu einer erhöhten GC-Sensitivität von T-Zellen und der damit zusammenhängenden niedrigeren T-Zell-Proliferationsrate führt. Die Ergebnisse lassen eher vermuten, dass T-Zellen eine GC-Resistenz aufweisen, die sich verringert beim

Auftreten von Stressbelastung und damit eine Steigerung der T-Zell-Proliferation zur Folge hat. Dies würde gut zu den beschriebenen Schutzmechanismen von Mutter und Fetus vor GC-Überschuss durch eine Verminderung der HHNA-Reaktivität und der damit eventuell verbundenen sinkenden GC-Sensitivität von Geweben passen (Brunton 2010; Christian 2012). Nichtsdestotrotz kann eine erhöhte Proliferation aktivierter T-Zellen in einer Gruppe von Frauen, die pränatalem Stress ausgesetzt waren, im Vergleich zu Frauen mit niedrigem Stresslevel in der Schwangerschaft, Anzeichen für eine insuffiziente Immunadaptation sein, welche durch eine Überaktivierung der T-Zell-Antworten am ehesten durch Hemmung von regulatorischen Zellen gekennzeichnet ist. Dies kann Ursache einer Abstoßungsreaktion sein, die zu Schwangerschaftskomplikationen wie frühzeitigem Gestationsende, niedrigem Geburtsgewicht oder auch zum Abort führen kann. Kausale Zusammenhänge konnten wir jedoch im Rahmen dieser Studie nicht nachweisen. Bei allen Ergebnissen ist hier erneut als Hauptkritikpunkt die sehr geringe Probandenzahl zu benennen, in welcher einzelne Ausreißer, trotz Kontrolle der Normalverteilung, Tendenzen vortäuschen können, welche sich in großen Populationen nicht reproduzieren lassen. Eine Wiederholung in größeren Studienkohorten ist definitiv empfohlen. Des Weiteren muss zu bedenken gegeben werden, dass die Proliferationsassays zwar T-Zell-spezifisch (CD3⁺) durchgeführt wurden, jedoch keine Differenzierung der funktionsanalytierten T-Zellen realisiert wurde. Weiterführende Analysen zur Untersuchung korrelativer Zusammenhänge zwischen den gemessenen Proliferationsraten und den erhobenen durchflusszytometrischen T-Zellfrequenzen ergaben leider keine richtungsgebenden Hinweise. So kann man im Rahmen dieser Untersuchung nicht eindeutig darauf zurück schließen, ob vor allem aktivierte CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen proliferieren, die eine Abstoßungsreaktion fördern, oder aber auch simultan oder in größerem Maße eine kompensatorische Treg-Proliferation zur Verhinderung einer solchen Abstoßungsreaktion stattfindet. Weiterführende qualitative Funktionsanalysen, die eine Isolierung spezifischer T-Zell-Populationen beinhalten, mit dem Fokus auf regulatorische T-Zellen, sollten angestrebt werden und könnten schon anhand der Daten in dieser sehr kleinen Studienpopulation vielversprechend sein. Die Wirkstärke von Hydrocortison als Ligand entspricht der von Cortisol. Die meisten Unterschiede traten im Dosisbereich von 10⁻¹³ bis 10⁻⁷ Mol auf, welche knapp niedriger sind als

Referenzwerte im Serum eines durchschnittlichen Erwachsenen, so dass bei nachfolgenden Untersuchungen ein besonderes Augenmerk auf diesen Dosisbereich gelegt werden sollte. Andererseits sind auch Bereiche der therapeutischen GC-Dosierungen, in welchem wir die meisten Unterschiede sahen, von Interesse, da es seit einigen Jahren zunehmend Annahmen gibt, dass eine GC-Therapie während der Schwangerschaft ebenso starken Einfluss auf die fetale Entwicklung haben kann (Michael & Papageorghiou 2008; Tegethoff et al. 2009). Auch die Betrachtung des GR als Endglied und Wirkungsmediator der HHNA scheint vielversprechend zu sein. Es können nicht nur Hormonspiegel, sondern auch Stress-assoziierte Änderungen der Gewebssensitivität eine Auswirkung auf die Proliferation bzw. Hemmung von Immunzellen haben. Seit kurzer Zeit wird auch eine beeinträchtigte GR-Signalweiterleitung als ursächlich für HHNA-Änderungen untersucht, vor allem im Zusammenhang mit psychiatrischen Grunderkrankungen wie Depression und chronischem Stress (de Kloet et al. 2007; Fischer et al. 2012; Heijnen 2007). Weiterführende Untersuchungen in größeren Studienpopulation mit Fokus auf GR und Steroidresistenz im Sinne einer Verminderung von Rezeptoren, Modifizierungen der Rezeptor-Subtypen, Stress-induzierte Änderung der Expression von Transkriptionsfaktoren oder eventuelle Prädispositionen sollten erwogen werden.

Zwar gehen wir von einer direkten Vermittlung von Stress über die Stressachse auf Immunzellen aus, jedoch wurden im Rahmen meiner Arbeit keine Daten zu Stresshormonen selbst erhoben. Zwar waren Serumproben von jedem Untersuchungszeitpunkt vorhanden, jedoch konnten diese aufgrund der zeitlich unterschiedlichen Blutentnahmen der Probandinnen und der zirkadianen Rhythmik der HHNA nicht verwertet werden. Schon mehrere Studien haben Assoziationen von erhöhten CRH-Spiegeln zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft mit Frühgeburten, Wachstumsrestriktion, erniedrigtem Geburtsgewicht und Fehlgeburten aufgezeigt (Arck et al. 2008; Hobel et al. 2008; Knackstedt et al. 2005; Wadhwa 2005). Sandman et al. zeigte, dass maternale Cortisolspiegel in SSW 15 den CRH-Anstieg im Gestationsverlauf voraussagten (Sandman et al. 2006) und negative Korrelationen mit dem fetalen Gewicht wurden von Kinsella und Monk sowie Field et al. beschrieben (Field et al. 2010; Kinsella & Monk 2009). So wird die Messung der Stresshormone der HHNA bei Weiterführung dieser Studie mit größerer Probandenzahl obligat werden. Diese können einfach im

Serum bestimmt werden, die Schwierigkeit stellt aber die zirkadiane Veränderung der Hormone dar, da sich Blutentnahmen im Rahmen einer klinischen Studie nicht täglich zur selben Zeit und im individuell unterschiedlichem Tagesablauf der Teilnehmerinnen schwierig gestalten können. Eine Möglichkeit wäre die Cortisolbestimmung im Morgenspeichel. Allerdings zeigten bisher Speichel- und Serumcortisol nur niedrige Korrelation zum Stresslevel (Obel et al. 2005). Die Einfachheit der Durchführung und neue Fehlerquellen durch die selbstständige Durchführung durch die Teilnehmerin müssten gegeneinander abgewogen werden. Ferner könnten neu aufkommende Techniken wie die Copeptid-Bestimmung als Beiprodukt der Vasopressin-Sezernierung aus der Hypophyse in Betracht gezogen werden, welche eine Aussage zur Gesamtaktivität der HHNA treffen, quantitativ im Plasma bestimmt werden kann und unabhängig vom zirkadianen Rhythmus ist. Aktuell haben verschiedene Forschungsgruppen die Copeptid-Bestimmung als guten sensitiven Marker für Stress im Rahmen von sowohl akuter Erkrankung als auch von neonatalem Stress (Benzing et al. 2011; Katan & Christ-Crain 2010; Morgenthaler et al. 2008) beschrieben. Auf der anderen Seite könnte der noch hohe Kostenfaktor ein entscheidendes Gegenargument darstellen. Zusätzlich könnte auch die Bestimmung der plazentaren 11 β -HSD2-Aktivität sowie der fetalen Cortisol-/Cortisonspiegel in Zusammenhang mit Stressexposition oder bei Risikogruppen interessant sein. Ein Zusammenhang mit Stress-assoziierten Änderungen sowie Schwangerschaftskomplikationen konnte bereits gezeigt werden (O'Donnell et al. 2012; Welberg et al. 2005). Auch hierfür wäre wieder die postpartale Gewinnung von Plazentagewebe und Nabelschnurblut notwendig.

Auf welchem Wege genau Stress und Glucocorticoide Schwangerschaftsmisserfolge vermitteln bleibt weiterhin unklar. Es scheint aber, dass dort, wo es nicht zu Schwangerschaftskomplikationen kommt, fetale Programmierung mit langfristigen Konsequenzen für die Gesundheitsentwicklung des heranwachsenden Kindes auftritt. Angenommene Mechanismen beinhalten den direkten Einfluss auf den Metabolismus der sich entwickelnden Plazenta und/oder eine direkte Wirkung auf das vulnerable Immunnetzwerk sowie Interaktionen mit maternalem und plazentarem CRH und Progesteron. Auch Interaktionen mit anderen Hormonachsen und speziell den Schwangerschaftshormonen sollten

tiefgehend untersucht werden. Für die Untersuchungen der Hormonachsen sind auch erneut soziodemographische und behaviorale Faktoren wie physische Aktivität, BMI und Rauchen als Einflussfaktoren wichtig (Segerstrom & Miller 2004). Auch wenn in dieser Arbeit leider nur marginal richtungsweisende Ergebnisse über eine Stress-induzierte Modulation der GC-Sensitivität von T-Zellen erlangt werden konnte, scheinen die Ergebnisse aus dieser kleinen Pilotstudie jedoch vielversprechend zu sein für weitere Untersuchungen und bieten gedanklichen Anstoß für breitere Untersuchungsmöglichkeiten des Stresssystems während der Schwangerschaft.

4.1.6 Stress zeigte keinen Einfluss auf das Schwangerschaftsergebnis

Zur Überprüfung, ob psychosozialer Stress in diesem Zusammenhang eine Auswirkung auf den Schwangerschaftserfolg hat, wurden die Daten des Geburtsgewichts des Kindes und die Länge der Gestationsdauer als abhängige Variablen analysiert. Angenommen wurde eine Verringerung des Geburtsgewichts und/oder der Gestationsdauer in Zusammenhang mit Stress. Untersucht wurden die neuroimmunologischen Parameter in Extremgruppen, eingeteilt durch Stresscores in der 14. SSW. In keiner der gebildeten Subpopulationen konnten signifikante Stress-assoziierte Unterschiede des Schwangerschaftsergebnisses nachgewiesen werden. Jedoch muss man auch hier wieder auf die extrem kleine Stichprobe, vor allem in den GC-Sensitivitäts-Untergruppen, hinweisen. Vor allem die Betrachtung der Gestationslänge stellte sich als extrem konstante und stabile Ergebnisvariable in allen Gruppen dar. Man könnte in Anbetracht dieser Ergebnisse davon ausgehen, dass sich diese Variable nur schlecht als Outcome-Parameter eignet. In anderen Geburtskohorten hat sich dies jedoch als guter Parameter erwiesen, vor allem in der Definition der Frühgeburt (Geburt vor der 37. SSW) (Dunkel Schetter 2011; Dunkel-Schetter & Glynn 2010; Lobel et al. 2008; Rich-Edwards & Grizzard 2005). Eine spezifische prospektive Betrachtung von Früh- und besonders auch Spätaborten, die im Rahmen einer Geburtenkohorte prozentual bei ausreichender Größe der Gesamtstichprobe auftreten werden, könnte ein geeignetes wohl aber aufwendiges Mittel zur Identifikation von Risikofaktoren darstellen. Das Geburtsgewicht zeigte sich eher variabel und wurde auch schon häufig als sensitiver Outcome-Parameter beschrieben (Dunkel-Schetter & Glynn 2010; Giscombé & Lobel 2005). Ein maximaler Unterschied zeigte sich im Gruppenvergleich der Untergruppen für die qualitativen T-Zell-Analysen. Hier

zeigte sich eine Gewichtsreduktion von ca. 230g in der Gruppe mit hohem Stress im Vergleich zur ungestressten Gruppen. Ein Gewichtsverlust von fast 7% kann durchaus von klinischer Relevanz sein, jedoch zeigten sich alle Durchschnittswerte im Bereich des Normalgewichts. Bisher gezeigte valide Daten zu erniedrigtem Geburtsgewicht und verkürzter Gestationslänge im Zusammenhang mit Stress (Borders et al. 2007; Dunkel Schetter 2011; Hobel et al. 2008), konnten hier wider Erwarten nicht reproduziert werden. Auch hier spielt erneut die sehr kleine Stichprobengröße eine Rolle, vor allem auch im Rahmen der Untergruppenbildung. Des Weiteren wurden in der Studie nur Daten der Frauen aus dem jeweils obersten und untersten Stress-Quartil für die Gruppenvergleiche betrachtet. In Betrachtung der Gesamtkohorte kam es jedoch, wenn auch nur in geringer Zahl, zum Auftreten von Komplikationen, wie z.B. dem Auftreten von Frühgeburten (3,75%) und IUGR (<1%). Jede 10. Schwangerschaft wurde durch eine Sectio caesarea beendet und 10% der Frauen brachten Neugeborene mit einem Gewicht < 3000g zur Welt. Auf genaue Ursachen für diese Abweichungen vom Verlauf der Normalschwangerschaft, abgesehen von der grundsätzlichen statistischen Auftretenswahrscheinlichkeit, konnte aufgrund des multiple-choice-Aufbaus der Geburtskarten zur Erhebung der Daten zum Schwangerschaftsergebnis nicht immer eindeutig geschlossen werden. Zwar wurden z.B. Infektionen oder vorzeitige Wehentätigkeit als Schwangerschaftskomplikationen angegeben, jedoch nicht, wann diese genau auftraten und ob diese zur frühzeitigen Beendigung der Schwangerschaft führten. Gezielte Datenaufnahmen auch mit kausalen Zusammenhängen sollten in Betracht gezogen werden. Zur sowohl retrospektiven als auch prospektiven Betrachtung von Risikokohorten bzw. Untergruppenbildung bei Auftreten von Komplikationen empfiehlt sich erneut die Vergrößerung der Gesamtkohorte, im besten Falle kombiniert mit einer Nachverfolgung des Kindes zur Evaluation der Entwicklung. Auch andere Outcome-Parameter wie Kopfumfang und Ponderal-Index ($PI = \text{Gewicht}/\text{Größe}^3$) des Kindes, die sich als gute Parameter erwiesen haben, um eine Aussage über den Entwicklungsstatus des Kindes zu treffen und sich gut für Verlaufskontrollen eignen (Nordman et al. 2015), sollten miteinbezogen werden. Klarere Konzeptualisierung und Operationalisierung von Outcome-Variablen und die fachmännische Dokumentation von Schwangerschaftskomplikationen sind notwendig, um auch Einzelgruppen betrachten zu können.

4.2 Stärken und Limitierungen des Studienaufbaus

Die Durchführung dieser Studie hat einige Stärken. Es erfolgte eine gute Umsetzung von theoretischen Stressmodellen, die mit Hilfe von validen Testungsmitteln wie der PSS durchgeführt wurden. Die Erhebung von sowohl soziodemographischen, psychometrischen Faktoren als auch Daten aus der geburtshilflichen Anamnese wurde in standardisierten Fragebögen durchgeführt und bei den statistischen Analysen kontrolliert. Es wurden nicht nur Querschnittsdaten oder Risikogruppen betrachtet, sondern eine empirische prospektive Längsschnittstudie durchgeführt, deren Potential mit steigender Menge an Probanden und Material noch weiter genutzt werden muss. Des Weiteren kann als sehr positiv betrachtet werden, dass es innerhalb dieser Studienkohorte eine sehr geringe Drop-out-Rate gab und fast alle Probandinnen alle Studientermine wahrnahmen inklusive der nachträglichen Weitergabe der Daten zur Geburt. Der Ausschluss von Daten zur statistischen Analyse erfolgte fast ausschließlich aufgrund des Auftretens von fehlerhaftem Ausfüllen von Fragebögen, statistischer Ausreißer und zu geringem bzw. nicht geeignetem Biomaterial. Auch wurde ein großes Interesse zur Fortführung der Studie zur Nachverfolgung des Kindes von fast allen Studienteilnehmerinnen bekundet.

Limitierungen des Studienaufbaus sind definitiv das Vorhandensein einer kleinen, sehr homogenen Studienpopulation, deren Anzahl sich bei der Erstellung der Stress-Extremgruppen zur Durchführung von Gruppenvergleichen gezwungenermaßen noch mehr verkleinerte. Bei fehlerhaft ausgefüllten Fragebögen oder fehlendem, zu geringem oder nicht funktionstüchtigem Biomaterial war keine Durchführung nachträglicher Untersuchungen oder Wiederholungen möglich, was eine normale Limitation bei Humanstudien darstellt, da eine Wiederherstellung von Setting, Umgebungs-/Einflussfaktoren und Individuum nicht möglich ist. Soziodemographische sowie geburtshilfliche Anamnese und Erfassung psychometrischer Daten wurden als Self-Reported-Assessment Fragebögen durchgeführt, welche durch die Probandinnen selbstständig ausgefüllt wurden, und nicht durch professionell durchgeführte Interviews von Fachpersonal, was die Fehlerrate und den Einfluss von Störfaktoren erhöht. Probleme einer Längsschnittstudie sind natürlich ebenso, dass bei Ausfällen von Einzelterminen über den verfolgten Zeitraum von neun

Monaten die Verwertung der restlichen erhobenen Daten der einzelnen Probandin schwierig wird.

Zusammenfassend kann man sagen, dass der Aufbau und die Planung dieser Studie auf einem guten, multivariaten Grundkonzept basiert, welches für die Datenerhebung von großen Probandenzahlen geeignet ist. Eine größere Studienpopulation schwangerer Frauen ist notwendig. Die Qualität ist noch ausbaufähig durch eine breitere Definition der unabhängigen Variablen bzw. Betrachtung und Untersuchung mehrerer definierender Variablen und durch Erweiterung und genaue Definition der Outcome-Parameter. Die Untersuchung der unabhängigen Variablen zur Erhebung psychometrischer, aber auch anamnestischer Daten, und die Nachverfolgung der Probandinnen sollte durch strukturierte Interviews und professionelle Untersuchungen erfolgen, um Störfaktoren zu vermeiden. Die Umsetzung der meisten dieser Punkte ist im Rahmen der Fortführung der PRINCE-Studie geschehen bzw. ist in aktueller Planung.

4.3 Ausblick

Die Schwangerschaft, in welcher entscheidende Faktoren für die Entwicklung und die Morbidität eines zukünftigen Menschen geprägt werden, stellt eine sehr vulnerable Phase dar und ist geprägt durch ein komplexes Netzwerk, unter anderem des immunologischen und endokrinen Systems, dessen Homöostasis leicht gestört werden kann durch psychosoziale Einflussfaktoren, allen voran Stress. Bis zum aktuellen Zeitpunkt konnten die Mechanismen, auf welchem Wege und über welche Mediatoren psychosozialer Stress zu Schwangerschaftsmisserfolgen und -komplikationen führt, nicht eindeutig identifiziert werden. Die zugrunde liegenden Mechanismen, wie Effekte von maternalem Stress auf das Immunsystem übertragen werden, bleiben weiterhin unklar und bedürfen weiterer intensiver Forschung. Frühgeburtlichkeit und erniedrigtes Geburtsgewicht sind immer noch einige der Hauptursachen für Mortalität und Morbidität bei Kindern auch in westlichen Gesellschaften mit hohen sozioökonomischen und medizinischen Standards, und präventive Ansätze, um die Inzidenz zu verringern, hatten bisher wenig Erfolg. Wenn auch in dieser Arbeit keine richtungsweisenden Ergebnisse erbracht wurden, konnten jedoch gute Ansätze vorgegeben werden zur weiterführenden Untersuchung innerhalb der Psychoneuroimmunologie der Schwangerschaft. Weitere prospektive klinische Langzeitstudien, die eine große

Studienpopulation schwangerer Frauen einschließen, sind nötig, um die Pathogenese zu verstehen bzw. Risikofaktoren für Schwangerschaftskomplikationen und mögliche Biomarker frühzeitig zu identifizieren. Auch eine langjährige Nachverfolgung der postnatalen Gesundheitsentwicklung der geborenen Kinder ist von bedeutender Wichtigkeit, so dass nicht nur die mütterliche Gesundheit, sondern auch die Gesundheitsentwicklung einer ganzen Gesellschaft von Erkenntnissen solcher Studien zur Entwicklung gezielter therapeutischer Interventionen und Schaffung präventiver Maßnahmen profitieren könnte. Die Anwendung psychoneuroimmunologischer Forschungsmodelle auf die prä- und perinatale Periode ist entscheidend für das Verständnis biologischer Übertragungs- und Vermittlungswege, durch welche Stress die maternale Gesundheit, den Schwangerschaftserfolg und die fetale Entwicklung beeinflusst. Die Konzeptualisierung theoretischer Modelle und die anschließende Umsetzung in empirischen Studien zur Analyse der Dynamik des Zusammenspiels von biologischen und Verhaltensprozessen stellt eine große Herausforderung dar, ist aber der richtige Weg, um dieses Verständnis in naher Zukunft zu erreichen.

5 ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY

Hypothese/Fragestellung: Eine Homöostasis der T-Zell-Antworten ist entscheidend für die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft, die eine einzigartige Herausforderung für das mütterliche Immunsystem darstellt, da es immunologische Toleranz gegenüber dem Fötus entwickeln muss, der als semi-allogen bezeichnet werden kann aufgrund der Expression von paternalen Antigenen. Hoher maternaler Stress kann diese stören, was durch Glucocorticoide (GC) vermittelt werden kann abhängig von der GC-Sensitivität von T-Zellen. Diese Arbeit untersucht den Zusammenhang zwischen maternalem wahrgenommenem Stress, Frequenzen verschiedener T-Zell-Phänotypen und der GC-Sensitivität von T-Zellen. Inwiefern dies Auswirkungen auf den Erfolg der Schwangerschaft hat, wurde ebenfalls eruiert.

Methodisches Vorgehen: Im Rahmen der PRINCE-Studie wurde mit Hilfe der Perceived Stress Scale (PSS) subjektiver, wahrgenommener Stress von 80 schwangere Frauen zu jeweils drei Zeitpunkten der Schwangerschaft erhoben. Zusätzlich erfolgte die durchflusszytometrische Bestimmung von Phänotypen und Frequenzen peripherer CD4⁺, insbesondere regulatorischer T-Zellen (Treg), und CD8⁺ T-Zellen sowie die Messung der GC-inhibierten T-Zell-Proliferation mit Hilfe von Thymidin-Inkorporations-Assays. Gestationslänge und das fetale Geburtsgewicht dienten zur Beurteilung des Schwangerschaftserfolgs.

Ergebnisse: Subjektiv empfundener Stress zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Frequenzen maternaler peripherer T-Zellen in dieser Arbeit. Jedoch konnte eine signifikant höhere Varianz der Treg innerhalb der gestressten Gruppe nachgewiesen werden korrelierend zu zuvor empfundenem Stress, möglicherweise hinweisend auf eine verzögerte T-Zell-Proliferation nach Stressexposition. Eine erhöhte T-Zell-Proliferation in Anwesenheit von GC innerhalb der gestressten Gruppe vor allem im Niedrigdosisbereich konnte gezeigt werden im Sinne einer verminderten GC-Resistenz unter Stresseinfluss. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Geburtsgewicht und Gestationsdauer beim Vergleich von schwangeren Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenem Stress in dieser Arbeit.

Ausblick: Die Mechanismen der Modulation der fetomaternalen Toleranz durch pränatalen Stress bleiben weiterhin unklar. Jedoch konnte in dieser Arbeit erneut

die Wichtigkeit der Fortführung prospektiver, klinischer Studien unter Einbeziehung einer großen Studienpopulation mit Fokus auf neuroimmunologische Vorgänge nachgewiesen werden zur weiteren Untersuchung des Einflusses von Stress auf den Verlauf der Schwangerschaft und die fetale Entwicklung zur Identifikation von Risikofaktoren und Biomarkern sowie zur Entwicklung präventiver und therapeutischer Maßnahmen.

Hypothesis: A tailored T cell response to pregnancy plays a key role in maintaining tolerance towards the fetus which can be compared to an allograft due to the expression of paternal antigens. High maternal stress perception can interfere with this T cell response which can be mediated by Glucocorticoids (GC). This mediation is dependent on GC sensitivity of T cells controlling T cell proliferation. Our objective was to examine if higher stress perception affects GC sensitivity in T cells and thereby altering T cell frequencies and pregnancy outcome.

Methods: Within the PRINCE study stress levels of 80 pregnant women were assessed employing the Perceived Stress Scale (PSS) at three timepoints during pregnancy. T cell phenotypes and frequencies of CD4⁺, regulatory T cells and CD8⁺ T cells were detected by flow cytometry and the GC-inhibited T cell proliferation was investigated by using thymidine incorporations assays. Fetal birth weight and pregnancy length served as parameter to evaluate pregnancy outcome.

Results: High levels of perceived stress had no significant influence on maternal T cell frequencies in this work. Interestingly, a significantly higher variance in Treg cells was observed in stressed women correlating with earlier high stress levels maybe indicating a deferred T cell proliferation after stress exposition. A significantly reduced GC resistance in low dose GC ranges resulted in higher T cell proliferation in stressed women. No significant differences in pregnancy outcome could be shown in this work.

Perspective: Mechanisms of Stress-related modulation of fetomaternal tolerance still remain not completely understood. Ongoing research in the field of neuroimmunology of pregnancy in prospective, clinical studies with a high number of participants is necessary for the identification of biomarkers and the implication of preventive as well as therapeutical interventions thereby improving maternal and fetal health.

6 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Adrenalin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
APZ	antigen-präsentierende Zelle
APC	Allophycocyanin
BSSS	Berliner Social Support Scale
BMI	Body-Mass-Index
CBP	CRH-bindendes Protein
CBG	Cortisol binding globulin
CD	Cluster of differentiation
CM	Central Memory Zellen
CRH	Corticotropin-releasing-Hormon
Cy	Cyanin
DC	Dendritischen Zellen
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure/ Ethylendiamintetraacetat
Eff	Effektor Zellen
EM	Effektor Memory Zellen
EVT	Extravillöse Trophoblastenzellen
FACS	fluorescence-activated cell sorter
FCS	Fetal calf serum
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FMO	fluorescence minus one
FSC	Forward Scatter
GC	Glucocorticoide
GR	Glucocorticoidrezeptor
HCG	Chorion-Gonadotropin (HCG)
HELLP-Syndrom	H emolysis/Hämolyse, E levated L iver enzymes/Erhöhung der Leberenzyme, L ow P latelet count/Thrombozytopenie
HHNA	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
HLA	human leucocyten antigen
IDO	Indolamin-2,3-Dioxygenase
IL	Interleukin

IUGR	Intrauterine growth restriction, intrauterine Wachstums-
IUI	Intrauterine Insemination
IVF	In-vitro-Fertilisation
MC	Mineralcorticoide
MHC	major histocompatibility complex, Haupthisto- kompabilitätskomplex
NA	Noradrenalin
Na	Naive Zellen
NEO-FFI	NEO-Fünf-Faktoren-Inventar
NK-Zellen	natural killer cells, natürliche Killerzellen
p.m.	post menstruationem
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells, periphere mononukleare Blutzellen
PBS	phosphate buffered saline, Phosphat-gepufferte Salz-lösung
PE	Phycoerythrin
PerCP	Peridinin Chlorophyll Protein
PHA	Phytohämagglutinin
PI	Ponderal-Index
pPVN	paraventriculärer Nucleus
PRINCE	Prenatal Identification of Children's Health
PROM	Premature Rupture of Membranes, vorzeitiger Blasensprung
PSS	Perceived Stress Scale
PTBS	posttraumatische Belastungsstörung
rpm	rounds per minute
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium, Zellkulturmedium
SEM	standard error of the mean, Standardfehler des Mittelwerts
SD	standard deviation, Standardabweichung
SGA	Small for gestational age
SIH	Schwangerschafts-induzierte Hypertonie
SSC	Side Scatter
SSW	Schwangerschaftswoche
TCR	T-Zell-Rezeptor
TGF	Transforming growth factor
Th	T-Helfer-Zelle
TNF	Tumornekrosefaktor

7 LITERATURVERZEICHNIS

- Aagaard-Tillery, K.M., Silver, R. & Dalton, J., 2006. Immunology of normal pregnancy. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, 11(5), pp.279–95.
- Abe, A. et al., 2011. Comparative analysis of steroid sensitivity of T helper cells in vitro and in vivo. *International archives of allergy and immunology*, 155 Suppl (suppl 1), pp.110–6.
- Alijotas-Reig, J., Llurba, E. & Gris, J.M., 2014. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta*, 35(4), pp.241–8.
- Aluvihare, V.R., Kallikourdis, M. & Betz, A.G., 2004. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nature immunology*, 5(3), pp.266–71.
- Aluvihare, V.R., Kallikourdis, M. & Betz, A.G., 2005. Tolerance, suppression and the fetal allograft. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 83(2), pp.88–96.
- Arck, P.C., 2001. Stress and pregnancy loss: role of immune mediators, hormones and neurotransmitters. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 46(2), pp.117–23.
- Arck, P.C. & Hecher, K., 2013. Fetomaternal immune cross-talk and its consequences for maternal and offspring's health. *Nature medicine*, 19(5), pp.548–56.
- Arck, P.C. et al., 2001. Stress and immune mediators in miscarriage. *Human reproduction (Oxford, England)*, 16(7), pp.1505–11.
- Arck, P.C. et al., 2008. Early risk factors for miscarriage: a prospective cohort study in pregnant women. *Reproductive BioMedicine Online*, 17(1), pp.101–113.
- Bamberger, C.M., Schulte, H.M. & Chrousos, G.P., 1996. Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocrine reviews*, 17(3), pp.245–61.
- Barker, D.J.P., 2006. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clinical obstetrics and gynecology*, 49(2), pp.270–83.
- Beagley, K.W. & Gockel, C.M., 2003. Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 38(1), pp.13–22.
- Benzing, J. et al., 2011. Plasma copeptin in preterm infants: A highly sensitive marker of fetal and neonatal stress. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(6), pp.E982–E985.
- Besedovsky, H.O. & del Rey, A., 2000. The cytokine-HPA axis feed-back circuit.

Zeitschrift für Rheumatologie, 59 Suppl 2, pp.II/26–30.

- Billington, W.D., 2003. The immunological problem of pregnancy: 50 years with the hope of progress. A tribute to Peter Medawar. *Journal of Reproductive Immunology*, 60(1), pp.1–11.
- Blois, S.M. et al., 2004. Depletion of CD8+ cells abolishes the pregnancy protective effect of progesterone substitution with dydrogesterone in mice by altering the Th1/Th2 cytokine profile. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 172(10), pp.5893–9.
- Borders, A.E.B. et al., 2007. Chronic stress and low birth weight neonates in a low-income population of women. *Obstetrics and gynecology*, 109(2 Pt 1), pp.331–8.
- Bronstein, M.D., Paraiba, D.B. & Jallad, R.S., 2011. Management of pituitary tumors in pregnancy. *Nature reviews. Endocrinology*, 7(5), pp.301–10.
- Brunton, P.J., 2010. Resetting the dynamic range of hypothalamic-pituitary-adrenal axis stress responses through pregnancy. *Journal of neuroendocrinology*, 22(11), pp.1198–213.
- Brunton, P.J. & Russell, A.J., 2008. Attenuated hypothalamo-pituitary-adrenal axis responses to immune challenge during pregnancy: the neurosteroid opioid connection. *The Journal of physiology*, 586(2), pp.369–75.
- Brunton, P.J. et al., 2008. Adaptive responses of the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal axis during pregnancy and lactation. *Journal of neuroendocrinology*, 20(6), pp.764–76.
- Challis, J.R. et al., 2001. The fetal placental hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, parturition and post natal health. *Molecular and cellular endocrinology*, 185(1-2), pp.135–44.
- Chaouat, G. et al., 1990. Control of fetal survival in CBA x DBA/2 mice by lymphokine therapy. *Journal of reproduction and fertility*, 89(2), pp.447–58.
- Checkley, S., 1996. The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *British medical bulletin*, 52(3), pp.597–617.
- Christian, L.M., 2012. Psychoneuroimmunology in pregnancy: Immune pathways linking stress with maternal health, adverse birth outcomes, and fetal development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(1), pp.350–361.
- Chrousos, G.P., 1992. Regulation and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. The corticotropin-releasing hormone perspective. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 21(4), pp.833–58.
- Chrousos, G.P., 2004. The glucocorticoid receptor gene, longevity, and the complex disorders of Western societies. *The American journal of medicine*,

117(3), pp.204–7.

- Chrousos, G.P., 2009. Stress and disorders of the stress system. *Nature reviews. Endocrinology*, 5(7), pp.374–81.
- Chrousos, G.P. & Gold, P.W., 1992. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 267(9), pp.1244–1252.
- Clark, D.A., 2008. Immunological factors in pregnancy wastage: fact or fiction. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 59(4), pp.277–300.
- Clark, D.A. et al., 2010. Tolerance mechanisms in pregnancy: a reappraisal of the role of class I paternal MHC antigens. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 63(2), pp.93–103.
- Cohen, S., Kamarck, T. & Mermelstein, R., 1983. A global measure of perceived stress. *Journal of health and social behavior*, 24(4), pp.385–96.
- Cohen, S. & Williamson, G., 1988. Perceived stress in a probability sample of the United States. *The Social Psychology of Health*, 13, pp.31–67.
- Cottrell, E.C. & Seckl, J.R., 2009. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of adult disease. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 3(September), p.19.
- Coussons-Read, M.E., Okun, M.L. & Nettles, C.D., 2007. Psychosocial stress increases inflammatory markers and alters cytokine production across pregnancy. *Brain, behavior, and immunity*, 21(3), pp.343–50.
- Coussons-Read, M.E. et al., 2012. The occurrence of preterm delivery is linked to pregnancy-specific distress and elevated inflammatory markers across gestation. *Brain, behavior, and immunity*, 26(4), pp.650–9.
- D'Elia, M. et al., 2010. T cells from burn-injured mice demonstrate a loss of sensitivity to glucocorticoids. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 299(2), pp.E299–307.
- Das, C. et al., 2002. Network of cytokines, integrins and hormones in human trophoblast cells. *Journal of Reproductive Immunology*, 53(1-2), pp.257–268.
- Dhabhar, F.S., 2009. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation*, 16(5), pp.300–17.
- Dhabhar, F.S. & McEwen, B.S., 1997. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain, behavior, and immunity*, 11(4), pp.286–306.
- Dimova, T. et al., 2011. Maternal Foxp3 expressing CD4+ CD25+ and CD4+

- CD25- regulatory T-cell populations are enriched in human early normal pregnancy decidua: a phenotypic study of paired decidual and peripheral blood samples. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 66 Suppl 1, pp.44–56.
- Dorshkind, K. & Horseman, N.D., 2001. Anterior pituitary hormones, stress, and immune system homeostasis. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 23(3), pp.288–94.
- Dunkel Schetter, C., 2011. Psychological science on pregnancy: stress processes, biopsychosocial models, and emerging research issues. *Annual review of psychology*, 62, pp.531–58.
- Duthie, L. & Reynolds, R.M., 2013. Changes in the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal axis in pregnancy and postpartum: Influences on maternal and fetal outcomes. *Neuroendocrinology*, 98(2), pp. 106-115.
- Feldman, P.J. et al., 2000. Maternal social support predicts birth weight and fetal growth in human pregnancy. *Psychosomatic medicine*, 62(5), pp.715–25.
- Fenster, L. et al., 1995. Psychologic stress in the workplace and spontaneous abortion. *American journal of epidemiology*, 142(11), pp.1176–83.
- Field, T., Diego, M. & Hernandez-Reif, M., 2010. Prenatal depression effects and interventions: a review. *Infant behavior & development*, 33(4), pp.409–18.
- Fischer, A. et al., 2012. Decreased hydrocortisone sensitivity of T cell function in multiple sclerosis-associated major depression. *Psychoneuroendocrinology*, 37(10), pp.1712–8.
- Galon, J. et al., 2002. Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16(1), pp.61–71.
- Gatti, G. et al., 1993. Interplay in vitro between ACTH, beta-endorphin, and glucocorticoids in the modulation of spontaneous and lymphokine-inducible human natural killer (NK) cell activity. *Brain, behavior, and immunity*, 7(1), pp.16–28.
- Giscombé, C.L. & Lobel, M., 2005. Explaining disproportionately high rates of adverse birth outcomes among African Americans: the impact of stress, racism, and related factors in pregnancy. *Psychological bulletin*, 131(5), pp.662–83.
- Glaser, R. & Kiecolt-Glaser, J.K., 2005. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nature reviews. Immunology*, 5(3), pp.243–51.
- Gluckman, P.D. et al., 2008. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *The New England journal of medicine*, 359(1), pp.61–73.

- Graca, L., Cobbold, S.P. & Waldmann, H., 2002. Identification of regulatory T cells in tolerated allografts. *The Journal of experimental medicine*, 195(12), pp.1641–6.
- Grammatopoulos, D.K., 2008. Placental corticotrophin-releasing hormone and its receptors in human pregnancy and labour : still a scientific enigma. *Journal of neuroendocrinology*, 20(4), pp.432–8.
- Guerin, L.R., Prins, J.R. & Robertson, S. a, 2009. Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Human reproduction update*, 15(5), pp.517–35.
- Gupta, S. et al., 2007. Inclusion of the glucocorticoid receptor in a hypothalamic pituitary adrenal axis model reveals bistability. *Theoretical biology & medical modelling*, 4, p.8.
- Habib, K.E., Gold, P.W. & Chrousos, G.P., 2001. Neuroendocrinology of stress. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 30(3), pp.695–728; vii–viii.
- Hamann, D. et al., 1997. Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. *The Journal of experimental medicine*, 186(9), pp.1407–1418.
- Heijnen, C.J., 2007. Receptor regulation in neuroendocrine-immune communication: current knowledge and future perspectives. *Brain, behavior, and immunity*, 21(1), pp.1–8.
- Heikkinen, J. et al., 2004. Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua. *Clinical and experimental immunology*, 136(2), pp.373–8.
- Herman, J.P. & Cullinan, W.E., 1997. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis. *Trends in Neurosciences*, 20(2), pp.78–84.
- Hinz, D. et al., 2010. Reduced maternal regulatory T cell numbers and increased T helper type 2 cytokine production are associated with elevated levels of immunoglobulin E in cord blood. *Clinical & Experimental Allergy*, 40(3), pp.419–426.
- Hobel, C.J., Goldstein, A. & Barrett, E.S., 2008. Psychosocial stress and pregnancy outcome. *Clinical obstetrics and gynecology*, 51(2), pp.333–48.
- Johnson, E.O. et al., 1992. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 16(2), pp.115–30.
- Kammerer, M. et al., 2002. Pregnant women become insensitive to cold stress. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2(1), p.8.

- Katan, M. & Christ-Crain, M., 2010. The stress hormone copeptin: a new prognostic biomarker in acute illness. *Swiss medical weekly : official journal of the Swiss Society of Infectious Diseases, the Swiss Society of Internal Medicine, the Swiss Society of Pneumology*, 140(September), pp.1–6.
- Kinney, D.K. et al., 2010. A unifying hypothesis of schizophrenia: abnormal immune system development may help explain roles of prenatal hazards, post-pubertal onset, stress, genes, climate, infections, and brain dysfunction. *Medical hypotheses*, 74(3), pp.555–63.
- Kinsella, M.T. & Monk, C., 2009. Impact of maternal stress, depression and anxiety on fetal neurobehavioral development. *Clinical obstetrics and gynecology*, 52(3), pp.425–40.
- de Kloet, C.S. et al., 2007. Leukocyte glucocorticoid receptor expression and immunoregulation in veterans with and without post-traumatic stress disorder. *Molecular psychiatry*, 12(5), pp.443–53.
- Knackstedt, M.K., Hamelmann, E. & Arck, P.C., 2005. Mothers in stress: consequences for the offspring. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 54(2), pp.63–9.
- Kruisbeek, A.M., Shevach, E. & Thornton, A.M., 2004. Proliferative assays for T cell function. *Current protocols in immunology*, Chapter 3(Suppl. 60), pp.3.12.1–3.12.20.
- Kwak-Kim, J. et al., 2014. Immunological modes of pregnancy loss: inflammation, immune effectors, and stress. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 72(2), pp.129–40.
- Lanzavecchia, A. & Sallusto, F., 2000. Dynamics of T lymphocyte responses: intermediates, effectors, and memory cells. *Science (New York, N.Y.)*, 290(5489), pp.92–7.
- Lau, Y. & Yin, L., 2011. Maternal, obstetric variables, perceived stress and health-related quality of life among pregnant women in Macao, China. *Midwifery*, 27(5), pp.668–73..
- Lazarus, R.S., 1993. From psychological stress to the emotions: a history of changing outlooks. *Annual review of psychology*, 44, pp.1–21.
- Liu, W. et al., 2006. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *The Journal of experimental medicine*, 203(7), pp.1701–11.
- Lobel, M. et al., 2008. Pregnancy-specific stress, prenatal health behaviors, and birth outcomes. *Health psychology : official journal of the Division of Health Psychology, American Psychological Association*, 27(5), pp.604–15.
- Maes, M. et al., 1999. The effects of psychological stress on leukocyte subset

- distribution in humans: evidence of immune activation. *Neuropsychobiology*, 39(1), pp.1–9.
- Makrigiannakis, A. et al., 2008. Fetomaternal immunotolerance. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 60(6), pp.482–96.
- Marcoux, S. et al., 1999. Job strain and pregnancy-induced hypertension. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 10(4), pp.376–82.
- Marques, A.H., Silverman, M.N. & Sternberg, E.M., 2009. Glucocorticoid dysregulations and their clinical correlates. From receptors to therapeutics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1179, pp.1–18.
- Mastorakos, G. & Ilias, I., 2003. Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 997(1), pp.136–149.
- Medawar, P.B., 1953. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symposium of the Society for Experimental Biology*, (7), pp.320–328.
- Michael, A.E. & Papageorghiou, A.T., 2008. Potential significance of physiological and pharmacological glucocorticoids in early pregnancy. *Human reproduction update*, 14(5), pp.497–517.
- Miller, a H. et al., 1998. Glucocorticoid receptors are differentially expressed in the cells and tissues of the immune system. *Cellular immunology*, 186(1), pp.45–54.
- Mjösberg, J. et al., 2010. FOXP3+ regulatory T cells and T helper 1, T helper 2, and T helper 17 cells in human early pregnancy decidua. *Biology of reproduction*, 82(4), pp.698–705.
- Morgenthaler, N.G. et al., 2008. Copeptin: clinical use of a new biomarker. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 19(2), pp.43–49.
- Mosmann, T.R. & Coffman, R.L., 1989. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annual review of immunology*, 7, pp.145–73.
- Mosmann, T.R. et al., 1986. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 136(7), pp.2348–57.
- Nakamura, H. et al., 2001. Involvement of central, but not placental corticotropin releasing hormone (CRH) in heat stress induced immunosuppression during pregnancy. *Brain, behavior, and immunity*, 15(1), pp.43–53.
- Nelson, D.B. et al., 2003. Does stress influence early pregnancy loss? *Annals of epidemiology*, 13(4), pp.223–9.

- Nepomnaschy, P.A. et al., 2006. Cortisol levels and very early pregnancy loss in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(10), pp.3938–42.
- Nordman, H. et al., 2015. Growth and Cardiovascular Risk Factors in Prepubertal Children Born Large or Small for Gestational Age. *Hormone research in paediatrics*.
- O'Donnell, K.J. et al., 2012. Maternal prenatal anxiety and downregulation of placental 11 β -HSD2. *Psychoneuroendocrinology*, 37(6), pp.818–26.
- O'Hare, T. & Creed, F., 1995. Life events and miscarriage. *The British Journal of Psychiatry*, 167(6), pp.799–805.
- Obel, C. et al., 2005. Stress and salivary cortisol during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*, 30(7), pp.647–56.
- Osmond, C. & Barker, D.J., 2000. Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. *Environmental health perspectives*, 108 Suppl , pp.545–53.
- Paarlberg, K.M.M. et al., 1995. Psychosocial factors and pregnancy outcome: a review with emphasis on methodological issues. *Journal of psychosomatic research*, 39(5), pp.563–95.
- Parker, V.J. & Douglas, A.J., 2010. Stress in early pregnancy: maternal neuro-endocrine-immune responses and effects. *Journal of reproductive immunology*, 85(1), pp.86–92.
- Pfeiffer, K.A. et al., 2000. Soluble HLA levels in early pregnancy after in vitro fertilization. *Human Immunology*, 61(6), pp.559–564.
- Piccinni, M.-P., 2010. T cell tolerance towards the fetal allograft. *Journal of reproductive immunology*, 85(1), pp.71–5.
- Pincus, M. et al., 2010. Fetal origin of atopic dermatitis. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 125(1), pp.273–5.e1–4.
- Potter, M.R. & Moore, M., 1975. PHA stimulation of separated human lymphocyte populations. *Clinical and experimental immunology*, 21(3), pp.456–467.
- Raghupathy, R. et al., 2000. Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Human reproduction (Oxford, England)*, 15(3), pp.713–8.
- Raison, C.L. & Miller, A.H., 2003. When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *The American journal of psychiatry*, 160(9), pp.1554–65.
- Rich-Edwards, J.W. & Grizzard, T.A., 2005. Psychosocial stress and neuroendocrine mechanisms in preterm delivery. *American journal of*

- obstetrics and gynecology*, 192(5 Suppl), pp.S30–5.
- Rifa'i, M. et al., 2004. Essential roles of CD8+CD122+ regulatory T cells in the maintenance of T cell homeostasis. *The Journal of experimental medicine*, 200(9), pp.1123–34.
- Romero, P. et al., 2007. Four functionally distinct populations of human effector-memory CD8+ T lymphocytes. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 178(7), pp.4112–9.
- Ruiz, R.J., Fullerton, J. & Dudley, D.J., 2003. The interrelationship of maternal stress, endocrine factors and inflammation on gestational length. *Obstetrical & gynecological survey*, 58(6), pp.415–28.
- Russell, J.A., Douglas, A.J. & Brunton, P.J., 2008. Reduced hypothalamo-pituitary-adrenal axis stress responses in late pregnancy: central opioid inhibition and noradrenergic mechanisms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1148, pp.428–38.
- Saito, S., Sasaki, Y. & Sakai, M., 2005. CD4(+)CD25high regulatory T cells in human pregnancy. *Journal of reproductive immunology*, 65(2), pp.111–20.
- Sakaguchi, S., Wing, K. & Yamaguchi, T., 2009. Dynamics of peripheral tolerance and immune regulation mediated by Treg. *European journal of immunology*, 39(9), pp.2331–6.
- Sakaguchi, S. et al., 2001. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunological reviews*, 182(7), pp.18–32.
- Sakaguchi, S. et al., 2010. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nature reviews. Immunology*, 10(7), pp.490–500.
- Sandman, C.A. et al., 2006. Elevated maternal cortisol early in pregnancy predicts third trimester levels of placental corticotropin releasing hormone (CRH): priming the placental clock. *Peptides*, 27(6), pp.1457–63.
- Sasaki, Y. et al., 2004. Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Molecular human reproduction*, 10(5), pp.347–53.
- Sausenthaler, S. et al., 2009. Stress-related maternal factors during pregnancy in relation to childhood eczema: results from the LISA Study. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*, 19(6), pp.481–7.
- Schulz, U. & Schwarzer, R., 2003. Soziale Unterstützung bei der Krankheitsbewältigung: Die Berliner Social Support Skalen (BSSS). *Diagnostica*, 49(2), pp.73–82.

- Schulz, U. & Schwarzer, R., 2004. Long-Term Effects of Spousal Support on Coping with Cancer After Surgery. *Journal of Social and Clinical Psychology*, 23(5), pp.716–732.
- Seckl, J.R., 2001. Glucocorticoid programming of the fetus; adult phenotypes and molecular mechanisms. *Molecular and cellular endocrinology*, 185(1-2), pp.61–71.
- Seckl, J.R. & Meaney, M.J., 2004. Glucocorticoid programming. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1032(44), pp.63–84.
- Seddiki, N. et al., 2006. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *The Journal of experimental medicine*, 203(7), pp.1693–700.
- Segerstrom, S.C. & Miller, G.E., 2004. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychological bulletin*, 130(4), pp.601–30.
- Selye, H., 1973. The evolution of the stress concept. *American scientist*, 61(6), pp.692–699.
- Silverman, M.N. & Sternberg, E.M., 2012. Glucocorticoid regulation of inflammation and its functional correlates: from HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1261, pp.55–63.
- Solano, M.E. et al., 2011. Highway to health; or How prenatal factors determine disease risks in the later life of the offspring. *Journal of reproductive immunology*, 90(1), pp.3–8.
- Somerset, D.A. et al., 2004. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology*, 112(1), pp.38–43.
- Steinborn, A. et al., 2012. Pregnancy-associated diseases are characterized by the composition of the systemic regulatory T cell (Treg) pool with distinct subsets of Tregs. *Clinical and experimental immunology*, 167(1), pp.84–98.
- Sterling, P., 2012. Allostasis: a model of predictive regulation. *Physiology & behavior*, 106(1), pp.5–15.
- Suda, T. et al., 2003. High-dose intravenous glucocorticoid therapy abrogates circulating dendritic cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112(6), pp.1237–1239.
- Tabiasco, J. et al., 2006. Human decidual NK cells: unique phenotype and functional properties -- a review. *Placenta*, 27 Suppl A, pp.S34–9.
- Tafari, A. et al., 1995. T cell awareness of paternal alloantigens during pregnancy.

Science (New York, N.Y.), 270(5236), pp.630–3.

- Tegethoff, M., Pryce, C. & Meinlschmidt, G., 2009. Effects of intrauterine exposure to synthetic glucocorticoids on fetal, newborn, and infant hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in humans: a systematic review. *Endocrine reviews*, 30(7), pp.753–89.
- Teles, A., Zenclussen, A.C. & Schumacher, A., 2013. Regulatory T cells are baby's best friends. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 69(4), pp.331–9.
- Tilburgs, T. & Strominger, J.L., 2013. CD8+ effector T cells at the fetal-maternal interface, balancing fetal tolerance and antiviral immunity. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 69(4), pp.395–407.
- Tilburgs, T. et al., 2006. Differential distribution of CD4(+)CD25(bright) and CD8(+)CD28(-) T-cells in decidua and maternal blood during human pregnancy. *Placenta*, 27 Suppl A, pp.S47–53.
- Tilburgs, T. et al., 2009. Fetal-maternal HLA-C mismatch is associated with decidual T cell activation and induction of functional T regulatory cells. *Journal of reproductive immunology*, 82(2), pp.148–57.
- Toldi, G. et al., 2012. The frequency of peripheral blood CD4+ CD25high FoxP3+ and CD4+ CD25- FoxP3+ regulatory T cells in normal pregnancy and pre-eclampsia. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 68(2), pp.175–80.
- Tomiyama, H., Matsuda, T. & Takiguchi, M., 2002. Differentiation of human CD8(+) T cells from a memory to memory/effector phenotype. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 168(11), pp.5538–50.
- Tomiyama, H. et al., 2004. Phenotypic classification of human CD8+ T cells reflecting their function: inverse correlation between quantitative expression of CD27 and cytotoxic effector function. *European journal of immunology*, 34(4), pp.999–1010.
- Tower, C. et al., 2011. SLE and pregnancy: the potential role for regulatory T cells. *Nature reviews. Rheumatology*, 7(2), pp.124–8.
- Triche, E.W. & Hossain, N., 2007. Environmental factors implicated in the causation of adverse pregnancy outcome. *Seminars in perinatology*, 31(4), pp.240–2.
- Trowsdale, J. & Betz, A.G., 2006. Mother's little helpers: mechanisms of maternal-fetal tolerance. *Nature immunology*, 7(3), pp.241–6.
- Tsigos, C. & Chrousos, G.P., 2002. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research*, 53(4), pp.865–71.

- Turpeinen, U. & Hämäläinen, E., 2013. Determination of cortisol in serum, saliva and urine. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 27(6), pp.795–801.
- Veenstra van Nieuwenhoven, A. L., 2003. The immunology of successful pregnancy. *Human Reproduction Update*, 9(4), pp.347–357.
- Wadhwa, P.D., 2005. Psychoneuroendocrine processes in human pregnancy influence fetal development and health. *Psychoneuroendocrinology*, 30(8), pp.724–43.
- Wadhwa, P.D. et al., 1993. The association between prenatal stress and infant birth weight and gestational age at birth: A prospective investigation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 169(4), pp.858–865.
- Wadhwa, P.D., Sandman, C.A. & Garite, T.J., 2001. The neurobiology of stress in human pregnancy: implications for prematurity and development of the fetal central nervous system. *Progress in brain research*, 133, pp.131–42.
- Wegmann, T.G. et al., 1993. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunology today*, 14(7), pp.353–6.
- Weinstock, M., 2005. The potential influence of maternal stress hormones on development and mental health of the offspring. *Brain, behavior, and immunity*, 19(4), pp.296–308.
- Welberg, L.A.M. & Seckl, J.R., 2001. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *Journal of neuroendocrinology*, 13(2), pp.113–28.
- Welberg, L.A.M., Thirivikraman, K. V & Plotsky, P.M., 2005. Chronic maternal stress inhibits the capacity to up-regulate placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity. *The Journal of endocrinology*, 186(3), pp.R7–R12.
- Wilczyński, J.R. et al., 2003. Lymphocyte subset distribution and cytokine secretion in third trimester decidua in normal pregnancy and preeclampsia. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 109(1), pp.8–15.
- Woods, S.M. et al., 2010. Psychosocial stress during pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 202(1), pp.61.e1–61.e7.
- Zenclussen, A.C. et al., 2007. Immunology of pregnancy: cellular mechanisms allowing fetal survival within the maternal uterus. *Expert reviews in molecular medicine*, 9(10), pp.1–14.
- Zhang, W. et al., 2000. Changes in cytokine (IL-8, IL-6 and TNF-alpha) levels in the amniotic fluid and maternal serum in patients with premature rupture of the membranes. *Zhonghua yi xue za zhi = Chinese medical journal; Free*

China ed, 63(4), pp.311–5.

Beitragswerke

- Borkenau, P. & Ostendorf, F., 1993. *NEO-Fünf-Faktoren-Inventar (NEO-FFI) nach Costa und McCrae. Handanweisung.*, Göttingen: Hogrefe.
- Costa, P.T. & McCrae, R.R., 1989. *The NEO PI/FFI manual supplement.*, Odessa: FL.: Psychological Assessment Resources.
- Eysenck, H.J., 1947. *Dimensions of Personality* L. Kegan Paul, Trench, Trubner & Co., ed., New Brunswick, New Jersey: Transaction Publishers.
- Karow, T. & Lang-Roth, R., 2011. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie.*, 19. Auflage, Pulheim: Karow, S. 664-677.
- Lazarus, R.S. & Folkman, S., 1984. *Stress, Appraisal and Coping.*, New York: Springer Publishing Company.
- Luttmann, W. et al., 2009. *Der Experimentator Immunologie* 3. Auflage., Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag Springer, S. 53-55, S. 77-103, S. 112-114.
- Nathanielsz, P.W., 1999. *Life in the Womb: The Origin of Health and Disease.*, 1. Auflage, Dallas: Prometheus Press.
- Pschyrembel, W., 2004. *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch.*, 260. Auflage, Berlin: De Gruyter, S. 1748.
- Selye, H., 1950. *STRESS - The Physiology and Pathology of Exposure to Stress.*, Montreal, Canada: Acta Endocrinologica.
- Tabachnick, B.G. & Fidell, L.S., 2005. *Using Multivariate Statistics.*, 5. Auflage., London: Pearson.
- Uhl, B., 2013. *Gynäkologie und Geburtshilfe compact.*, 5. Auflage., Stuttgart: Thieme Verlagsgruppe, S. 151-217, 250-274.

Beitragswerke - Kapitel

- Dunkel-Schetter, C. & Glynn, L., 2010. Stress in pregnancy: empirical evidence and theoretical issues to guide interdisciplinary researchers. In A. B. R Contrada, ed. *Handbook of Stress Science*. New York, pp. 321–343.
- Kino, T. & Chrousos, G., 2005. Glucocorticoid effects on gene expression; in Steckler T, Kalin NH, Reul JMHM (eds): *Handbook of Stress and the Brain*, Amsterdam, pp 295–311.
- Masho, S.W. & Cha, S., 2013. Preterm Birth and Stressful Life Events. In O. Erez, ed. *Preterm birth*, pp. 41-81.
- Selye, H., 1976. Stress without Distress. In G. Serban, ed. *Psychopathology of Human Adaptation*. Boston, MA: Springer US, pp. 137–146.

Hochschulschriften

Wolf, I.A., 1998. *Effekte von Stress, sozialer Unterstützung und Persönlichkeitsvariablen auf psychisches Befinden*. Dissertation, Philipps-Universität Marburg.

Berichte

Freie Hansestadt Hamburg, Behörde für Soziales, Familie, Gesundheit und Verbraucherschutz (BSG), 2010. *Rund um Schwangerschaft und Geburt - Berichte und Analysen zur Gesundheit*, Hamburg.

Hamburger Behörde für Arbeit, Soziales, Familie und Integration (2014). *Sozialbericht der Freien und Hansestadt Hamburg*.

Statistisches Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein, 2008. *Statistisches Jahrbuch Hamburg 2008/2009*, Hamburg.

Internetquellen

Statistisches Bundesamt, 2014. Durchschnittliches Alter der Mutter bei der Geburt des Kindes 2013 (biologische Geburtenfolge) nach Bundesländern. <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Bevoelkerung/Geburten/Tabellen/GeburtenMutterAlterBundeslaender.html>[Stand:01.01.2014, 13.30]

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Veränderungen der äußeren Einflussfaktoren in westlichen Gesellschaften, welchen Frauen im reproduktiven Alter über die letzten Jahrzehnte ausgesetzt waren und sind. Quelle: in Anlehnung an M. E. Solano et al./Journal of Reproductive Immunology 90 (2011) 3-8, adaptiert und frei übersetzt (Solano et al. 2011).	8
Abbildung 2: Stress und andere soziodemographische und psychometrische Einflussfaktoren während der Schwangerschaft. Quelle: in Anlehnung an Masho & Cha/ Preterm birth 2013, adaptiert und frei übersetzt (Masho & Cha 2013), modifiziert nach Dunkel Schetter (Dunkel Schetter 2011), HHNA – Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, CRH - Corticotropin-releasing-Hormon. ...	11
Abbildung 3: Fetomaternale Toleranz. Quelle: in Anlehnung an Tower et al./ Nature reviews. Rheumatology vol. 7 (2), adaptiert und frei übersetzt (Tower et al. 2011), CD–Cluster of Cluster of differentiation, HLA–human leucocyten antigen, TGF-Transforming growth factor, Treg–regulatorische T-Zelle.	18
Abbildung 4: Interaktionen der HHNA und des Immunsystems. Quelle: in Anlehnung an Silverman & Sternberg/ Annals of the New York Academy of Sciences vol. 1261, adaptiert und frei übersetzt (Silverman & Sternberg 2012), ACTH - Adrenocorticotropes Hormon, CRH - Corticotropin-releasing-Hormon, HHNA - Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, IL - Interleukin, pPVN - paraventriculärer Nucleus, TNF - Tumornekrosefaktor	21
Abbildung 5: Logo der PRINCE-Studie (Prenatal Identification of Children's Health), Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, ACTH - Adrenocorticotropes Hormon, CRH - Corticotropin-releasing-Hormon, HHNA - Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, IL - Interleukin, pPVN - paraventriculärer Nucleus, TNF - Tumornekrosefaktor.	27
Abbildung 6: Flussdiagramm des Studienablaufs, SSW-Schwangerschaftswoche.	29
Abbildung 7: Histogramm der PSS-Gesamtscore-Verteilung des wahrgenommenen Stress mit Kennzeichnung (rot) der ausgewählten Quartile: Hoher Stress (PSS-Wert 24-35, n=14); Niedriger Stress (PSS-Wert 6-15, n=17), PSS – Perceived Stress Scale.	31
Abbildung 8: Gating-Strategie zur durchflusszytometrischen Analyse von Phänotypen und Frequenzen maternaler T-Zell-Populationen aus peripherem Vollblut, CD - Cluster of differentiation	37

Abbildung 9: Wahrgenommener Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft im Gruppenvergleich zwischen höchstem und niedrigstem Quartil der Gesamtstichprobe zum ersten Untersuchungszeitpunkt. Die Daten sind präsentiert als Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts, ***, $p < 0,001$, PSS - Perceived Stress Scale.	47
Abbildung 10: Frequenzen von CD4 ⁺ -Lymphozyten und CD4 ⁺ -Subpopulationen im peripheren Vollblut schwangerer Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenen Stress in der 14. (A), 24. (B) und 36. (C) Schwangerschaftswoche (SSW). ^a 24. SSW: n = 17, CD4 ⁺ CD25 ⁺ : n = 16 (24. SSW) und n = 13 (36. SSW), CD - Cluster of differentiation..	50
Abbildung 11: Darstellung der durchflusszytometrischen Analysen von CD4 ⁺ (A) und regulatorischen CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻ T-Zellen (B) von Frauen mit hohem und niedrigem Stress in der 14. Schwangerschaftswoche, CD - Cluster of differentiation.....	50
Abbildung 12: Darstellung der durchflusszytometrischen Analysen von CD8 ⁺ T-Zellen (A) und CD8 ⁺ Subpopulationen (B) von Frauen mit hohem und niedrigem Stress in der 14. Schwangerschaftswoche. Eff - Effektor Zellen, Na - Naive Zellen, EM - Effektor Memory, CM - Central Memory, CD - Cluster of differentiation.	52
Abbildung 13: Homogenität der Varianz von Frequenzen regulatorischer T-Zellen im peripheren, maternalen Vollblut zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft bei Frauen mit hohem (n=14) und niedrigem (n=16) wahrgenommenem Stress, ***, $p < 0,001$, ^a 36. Schwangerschaftswoche (SSW): n = 17.....	53
Abbildung 14: Wahrgenommener Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft in Untergruppen der Quartile ‚Hoher Stress‘ und ‚Niedriger Stress‘. *, $p < 0,05$; ***, $p < 0,001$. ^a 36. SSW: n = 5, PSS–Perceived Stress Scale.....	55
Abbildung 15: Relative Proliferationsrate stimulierter T-Zellen in Anwesenheit steigender Konzentrationen von Hydrocortison bei schwangeren Frauen in der 14. (A), 24. (B) und 36. (C) Schwangerschaftswoche (SSW) mit hohem und niedrigem wahrgenommenen Stress. Signifikante Werte sind mit * gekennzeichnet ($p < 0,05$), ^a 14. und 36. SSW: n = 5.....	58
Abbildung 16: Geburtsgewicht (A) und Gestationslänge (B) im Vergleich von schwangeren Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenem Stress.....	59

Abbildung 17: Geburtsgewicht (A) und Gestationslänge (B) im Vergleich von Untergruppen von schwangeren Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenem Stress61

Abbildung 18: Verbindungen von Stress, Immunfunktion und perinatalen Folgen. Quelle: in Anlehnung an Christian 2012./ Neuroscience & Biobehavioral Reviews Vol. 36 (1), adaptiert und frei übersetzt (Christian 2012).....67

9 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Humane Antikörper verwendet für durchflusszytometrische Analysen von maternalen T-Zellen aus peripherem venösem Vollblut	35
Tabelle 2: Beschreibung der Gesamtstichprobe.....	44
Tabelle 3: Orientierende Vergleichsübersicht der Studienkohorte mit der Hamburger Bevölkerung	47
Tabelle 4: Vergleich der beiden ausgewählten Stressgruppen.....	48
Tabelle 5: Frequenzen von CD8 ⁺ Lymphozyten und CD8 ⁺ Subpopulationen im peripheren Vollblut schwangerer Frauen mit hohem und niedrigem wahrgenommenen Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft.....	51
Tabelle 6: Varianz der Frequenzen von CD4 ⁺ und CD8 ⁺ Lymphozyten und Subpopulationen aus peripherem Vollblut schwangerer Frauen mit niedrigem und hohem wahrgenommenen Stress zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft.....	53
Tabelle 7: Korrelativer Zusammenhang von wahrgenommenem Stress und der Frequenz regulatorischer T-Zellen im peripheren Vollblut bei schwangeren Frauen zu drei Zeitpunkten der Schwangerschaft	54
Tabelle 8: Vergleich der ausgewählten Untergruppen mit jeweils übergeordneten Quartilen eingeteilt nach hohen und niedrigen wahrgenommenem Stress	56
Tabelle 9: Unterschiede des Schwangerschaftsergebnisses der beiden Geburtskohorten eingeteilt nach wahrgenommenem Stress.....	60
Tabelle 10: Unterschiede des Schwangerschaftsergebnisses von Untergruppen der beiden Geburtskohorten eingeteilt nach wahrgenommenem Stress	61

10 PATIENTENAUFKLÄRUNG UND EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG

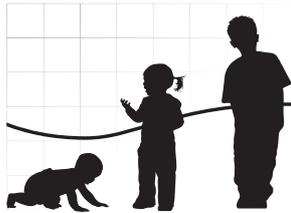


Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Experimentelle Feto-Maternale
Medizin

Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe
und Pränatalmedizin

Zentrum für Geburtshilfe-, Kinder-
und Jugendmedizin
Martinistraße 52
20246 Hamburg
Telefon: (040) 7410-22222
Telefax: (040) 7410-46767
prince@uke.de
www.uke.uni-hamburg.de



PRINCE

PRENATAL IDENTIFICATION
OF CHILDREN'S HEALTH

**Teilnahme an einer Studie zur Ermittlung von
Faktoren, die schon während der
Schwangerschaft die spätere Kindsgesundheit
prägen können**

Information für Schwangere - Zum Verbleib bei der Studienteilnehmerin

Verantwortliche:

Dr. med. Anke Diemert, Studienärztin

Prof. Dr. med. Petra Arck, Leiterin der Laboranalysen

Zentrum für Geburtshilfe, Kinder- und Jugendmedizin

Klinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin

Martinistr. 52

20246 Hamburg

Tel.: +49 (40) 7410 – 22222

Email: prince@uke.de

Liebe Schwangere!

Es ist unbestritten, dass Umwelteinflüsse und mütterliche Befindlichkeit die Entwicklung des Kindes im Mutterleib beeinflussen. In welchem Umfang dies geschieht und in wie weit beispielsweise Stress die Entstehung von zukünftigen Erkrankungen des Kindes auslösen kann, wird derzeit intensiv erforscht.

Mit diesem Schreiben wollen wir Sie für die Mitarbeit an unserer ‚Prince‘ Studie gewinnen. Ziel der Studie ist die Ermittlung von Faktoren, die schon während der Schwangerschaft die spätere Kindsgesundheit beeinflussen können. Diese Studie wird an der Klinik für Geburtshilfe des Universitätsklinikums Eppendorf in Hamburg unter der Leitung von Frau Dr. med. Anke Diemert und Frau Prof. Dr.med. Petra Arck durchgeführt. Studienkoordinatorin ist Frau Gudula Hansen.

Hintergrund und Zweck der Studie:

Die Häufigkeit von allergischen Erkrankungen stieg in den Industrienationen in den letzten 20 Jahren stetig an. Eine Ursache für das Auftreten von allergischen Erkrankungen ist zweifellos eine jeweilige erbliche Belastung. Dies erklärt aber noch nicht, warum Kinder von Müttern mit allergischen Erkrankungen häufiger Allergien entwickeln als die Kinder, deren Väter an Allergien erkrankt sind. Man nimmt an, dass das mütterliche Immunsystem einen großen Einfluss auf die Entwicklung des Immunsystems des Babys im Mutterleib hat und damit auch eine entscheidende Rolle bei der späteren Entstehung von Erkrankungen des Kindes spielt. So wird vermutet, dass stressbedingte Entgleisungen des mütterlichen Hormon- und Immunsystems zu Veränderungen der Funktion der Plazenta führen. Dies kann in Folge die Entwicklung des Kindes im Mutterleib beeinträchtigen und dadurch das Kind empfänglicher für das Auftreten von Allergien im späteren Leben machen.

Deshalb soll in dieser Studie der Zusammenhang zwischen Stress in der Schwangerschaft und dem Auftreten von allergischen Erkrankungen wie z.B. Asthma und Neurodermitis untersucht werden. Für die Zukunft wollen wir ein Konzept entwickeln, das der Programmierung allergischer Erkrankungen schon im Mutterleib entgegenwirkt.

Ablauf der Studientermine:

Ultraschalluntersuchung:

Sollten Sie sich dafür entscheiden, an unserer Studie teilzunehmen, stellen Sie sich zu Ultraschalluntersuchungen am UKE vor (zwischen der 13.-15., 23.-25., und 35.-37. SSW). Während dieser Ultraschalluntersuchungen wird das heranwachsende Kind vermessen, die Größe seiner Immunorgane (Thymus, Leber, Nebenniere) dokumentiert und die Durchblutung in den zum Mutterkuchen führenden Gefäßen gemessen. Zusätzlich würden wir ab dem 2. Drittel der Schwangerschaft die Durchblutung in bestimmten Gefäßen des heranwachsenden Kindes sowie von der Mutter zum Kind (d.h. der Nabelschnur und der Gebärmutterarterien) bestimmen.

Diese Ultraschalluntersuchungen dienen dem Studienzweck und stellen keine Untersuchung im Sinne des DEGUMS Konzeptes besonderer Fehlbildungsdiagnostik dar.

Sie ersetzen nicht die im Rahmen der Mutterschaftsrichtlinien vorgegebenen Untersuchungen bei Ihrem/ Ihrer betreuenden Frauenarzt/Frauenärztin. Sie entsprechen den international etablierten Leitlinien zur sicheren Durchführung des Ultraschalls in der Schwangerschaft (www.isuog.org/safetycommittee).

Blutabnahme:

Eine Ärztin oder eine Hebamme wird Ihnen an drei Studienterminen (in der 13.-15., 23.-25. und 35.-37. Schwangerschaftswoche) zwei große und 1 kleines Röhrchen Blut abnehmen. Bei der Blutabnahme kann es theoretisch zu Komplikationen kommen, wie z.B. einer Entzündung der Einstichstelle oder sehr selten auftretende Nervenschädigungen.

Ihre Blutproben werden laborchemisch auf immunologische und hormonelle Botenstoffe untersucht. Hierzu zählen z.B. der Nachweis des Progesteronspiegels

und die Ermittlung der Häufigkeit von bestimmten Untergruppen von weißen Blutkörperchen.

Unter Umständen werden wir weitere, z.Zt. noch nicht näher spezifizierbare Untersuchungen an den eingefrorenen Proben durchführen.

Fragebögen:

Wir werden Ihnen zu diesen drei Zeitpunkten (13.-15.SSW, 23.-25.SSW, 35.-37.SSW) einen Fragebogen vorlegen, der Auskunft über Ihre augenblickliche Stressbelastung gibt.

Nach der Geburt Ihres Kindes bitten wir Sie dann, uns eine kurze Rückantwort über den Verlauf Ihrer Schwangerschaft, der Geburt und der Gesundheit Ihres Kindes zu geben. Hierfür legen wir eine vorbereitete Rückantwortkarte in Ihren Mutterschaftspass.

Wenn Ihr Kind 7 Monate alt ist, werden wir Ihnen einen Fragebogen zukommen lassen, auf welchem Sie Angaben zur Ernährung Ihrer Kindes machen können, z.B. ob Sie gestillt haben, noch stillen, zufüttern und ob es Probleme bei der Ernährung Ihres Kindes gibt.

Während der darauf folgenden 10 Jahre werden wir Sie jeweils im Geburtsmonat ihres Kindes anschreiben und Ihnen einen Fragebogen zusenden, um zu erfahren, wie es Ihrem Kind geht. Hierbei geht es uns hauptsächlich darum, zu erfahren, ob Ihr Kinderarzt bei den routinemäßigen Untersuchungen eine allergische Erkrankung bei Ihrem Kind festgestellt hat.

Ernährung in der Schwangerschaft:

Außerdem befragen wir Sie an drei der Studientermine detailliert bezüglich Ihrer Ernährung am Vortag.

Datenschutz:

Die im Rahmen der Studie nach Ihrer Einverständniserklärung erhobenen Daten und Befunde unterliegen der Schweigepflicht und den datenschutzrechtlichen Bestimmungen. Sie werden in Papierform und auf Datenträgern in der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin und dem dieser Klinik angeschlossenen Labor für Experimentelle Feto-Maternale Medizin aufgezeichnet und verschlüsselt für die Dauer von 12 Jahren gespeichert. Bei der Verschlüsselung werden der Name und andere Identifikationsmerkmale (Teile des Geburtsdatums) durch z.B. eine mehrstellige Zahlenkombination ersetzt, um die Identifizierung des Studienteilnehmers durch unbeteiligte Dritte auszuschließen. Zugang zu dem Schlüssel, der eine persönliche Zuordnung der Daten des Studienteilnehmers ermöglicht, hat das Studienteam auf der Seite der Klinik unter der Leitung von Frau Dr. Anke Diemert als verantwortliche Studienärztin. Auswertung und Nutzung durch diese Personen erfolgt in verschlüsselter Form. Gleiches gilt für die Veröffentlichung der Studienergebnisse.

Die Studienteilnehmerinnen haben das Recht, über die von ihnen erhobenen personenbezogenen Daten Auskunft zu verlangen. Diese Studie ist durch die zuständige Ethikkommission beraten worden. Der zuständigen Landesbehörde kann ggf. Einsichtnahme in die Studienunterlagen gewährt werden. Sobald der

Forschungszweck es zulässt, wird der Schlüssel gelöscht und die erhobenen Daten damit anonymisiert. Im Falle des Widerrufs der Einverständniserklärung werden die bereits erhobenen Daten gelöscht.

Umstände die zum Abbruch der Studienteilnahme führen können:

- Widerruf der Teilnahme
- Auftreten einer schweren Begleiterkrankung
- Langfristige Medikamenteneinnahme

Was habe ich für Vorteile aus der Studie?

Die Studienbesuche erfolgen zusätzlich zu Ihrer normalen Vorsorge bei Ihrem / Ihrer betreuenden Frauenarzt / Frauenärztin. Sie bieten eine zusätzliche Kontrolle der Kindsentwicklung. Außerdem werden andere Themen z.B. die Ernährung in der Schwangerschaft erörtert.

Wir erwarten die vollständigen Ergebnisse aus dieser Studie erst in ca. 10 Jahren. Im Rahmen der Studienteilnahme erhalten Sie auch kein Honorar. Sollte sich bei Ihnen jedoch eine Schwangerschaftskomplikation abzeichnen, so könnte diese ggf. durch die engmaschige Kontrolle bei den Ultraschalluntersuchungen früher erkannt und therapiert werden.

An wen wende ich mich, wenn ich noch Fragen habe?

Bei Fragen steht Ihnen die Studienkoordinatorin Frau Gudula Hansen gerne zur Verfügung! Sie können sie telefonisch unter der Nummer (040) 7410-22222 oder per Mail an prince@uke.de erreichen.

Freiwilligkeit der Teilnahme:

Ihre Teilnahme ist absolut freiwillig. Sie haben das Recht, an der Studie ohne Angabe von Gründen nicht teilzunehmen. Hierdurch werden die bei Ihnen notwendigen medizinischen Maßnahmen nicht beeinträchtigt.

Vielen Dank für Ihre Unterstützung!

Ihr Studien-Team

Dr. med. Anke Diemert
(stellvertretend für die
Studienärztinnen)
Studienkoordination)

Prof. Dr. med. Petra Arck
(Leiterin der Laboranalysen)

Gudula Hansen
(Hebamme und

Einverständniserklärung - Zum Verbleib im Studienzentrum

Verantwortliche:

Dr. Anke Diemert, Studienärztin

Prof. Dr. med. Petra Arck, Leiterin der Laboranalysen

Zentrum für Geburtshilfe, Kinder- und Jugendmedizin

Klinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin

Martinistr. 52

20246 Hamburg

Tel.: +49 (40) 7410 – 22222

Email: prince@uke.de

Liebe Schwangere!

Es ist unbestritten, dass Umwelteinflüsse und mütterliche Befindlichkeit die Entwicklung des Kindes im Mutterleib beeinflussen. In welchem Umfang dies geschieht, und in wie weit beispielsweise Stress die Entstehung von zukünftigen Erkrankungen des Kindes auslösen kann, wird derzeit intensiv erforscht.

Mit diesem Schreiben wollen wir Sie für die Mitarbeit an unserer ‚Prince‘ Studie gewinnen. Ziel der Studie ist die Ermittlung von Faktoren während der Schwangerschaft, über die die spätere Kindergesundheit gesichert wird. Diese Studie wird an der Klinik für Geburtshilfe des Universitätsklinikums Eppendorf in Hamburg unter der Leitung von Frau Dr. Anke Diemert und Frau Prof. Dr.med. Petra Arck durchgeführt. Studienkoordinatorin ist Frau Gudula Hansen.

Zweck der Studie:

Die Häufigkeit von allergischen Erkrankungen stieg in den Industrienationen in den letzten 20 Jahren stetig an. Eine Ursache für das Auftreten von allergischen Erkrankungen ist zweifellos eine jeweilige erbliche Belastung. Dies erklärt aber noch nicht, warum Kinder von Müttern mit allergischen Erkrankungen häufiger Allergien entwickeln als die Kinder, deren Väter an Allergien erkrankt sind. Man nimmt an, dass das mütterliche Immunsystem einen großen Einfluss auf die Entwicklung des Immunsystems des Babys im Mutterleib hat und damit auch eine entscheidende Rolle bei der späteren Entstehung von Erkrankungen des Kindes spielt. So wird vermutet, dass stressbedingte Entgleisungen des mütterlichen Hormon- und Immunsystems zu Veränderungen der Funktion der Plazenta führen. Dies kann in Folge die Entwicklung des Kindes im Mutterleib beeinträchtigen und dadurch das Kind empfänglicher für das Auftreten von Allergien im späteren Leben machen.

Deshalb soll in dieser Studie der Zusammenhang zwischen Stress in der Schwangerschaft und dem Auftreten von allergischen Erkrankungen wie Asthma und Neurodermitis untersucht werden. Für die Zukunft wollen wir ein Konzept entwickeln, das der Programmierung allergischer Erkrankungen schon im Mutterleib entgegenwirkt.

Anzahl der Teilnehmerinnen

120 Frauen und ihre Kinder

Ablauf der Teilnahme:

Wenn Sie sich dafür entscheiden sollten, an unserer Studie teilzunehmen dann wird Ihnen Frau Dr. Diemert, bzw. die Hebamme Frau Hansen bei Ihren geplanten Ultraschalluntersuchungen in der 12.-14., 22.-24. und 34.-36. Schwangerschaftswochen zusätzlich ein großes und 2 kleine Röhrchen Blut abnehmen. Bei der Blutabnahme kann es zu Komplikationen kommen, wie z.B. einer Entzündung der Einstichstelle oder sehr selten auftretende Nervenschädigungen.

Weiterhin werden wir Ihnen zu diesen drei Zeitpunkten zur Ultraschalluntersuchung in unserer Klinik einen Fragebogen vorlegen, der uns Auskunft über Ihre augenblickliche Stressbelastung gibt.

Ihre Blutproben werden zunächst eingefroren, um später laborchemisch auf immunologische und hormonelle Botenstoffe untersucht zu werden. Hierzu zählt z.B. der Nachweis des Progesteronspiegels und die Ermittlung der Häufigkeit von bestimmten Untergruppen von weißen Blutkörperchen.

Unter Umständen werden wir weitere, z.Zt. noch nicht näher spezifizierbare Untersuchungen an den eingefrorenen Proben durchführen. Weiterhin wird an diesen Terminen mittels Ultraschalluntersuchung das Wachstum der Organe des Kindes gemessen. Auch dokumentieren wir bei dieser Ultraschalluntersuchung die Funktion der Plazenta, da diese Ihr Kind mit Nährstoffen versorgt.

Nach der Geburt Ihres Kindes bitten wir Sie dann, uns eine kurze Rückantwort über den Verlauf Ihrer Schwangerschaft, der Geburt und der Gesundheit Ihres Kindes zu geben. Hierfür legen wir eine vorbereitete Rückantwortkarte in Ihren Mutterschaftspass.

Wenn Ihr Kind 6 Monate alt ist, werden wir Ihnen einen Fragebogen zukommen lassen, auf welchem Sie Angaben zur Ernährung Ihrer Kindes machen können, z.B. ob Sie gestillt haben, noch stillen, zufüttern und ob es Problemen mit der Ernährung Ihres Kindes gibt.

Während der darauf folgenden 10 Jahre werden wir Sie jeweils im Geburtsmonat ihres Kindes anschreiben und Ihnen einen Fragebogen zusenden um zu erfahren, wie es Ihrem Kind geht. Hierbei geht es uns hauptsächlich darum, zu erfahren, ob Ihr Kinderarzt bei den routinemäßigen Untersuchungen eine allergische Erkrankung bei Ihrem Kind festgestellt hat.

Datenschutz:

Die im Rahmen der Studie nach Ihrer Einverständniserklärung erhobenen Daten und Befunde unterliegen der Schweigepflicht und den datenschutzrechtlichen Bestimmungen. Sie werden in Papierform und auf Datenträgern in der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Pränatalmedizin und dem dieser Klinik angeschlossenen Labor für Experimentelle Feto-Maternale Medizin aufgezeichnet und verschlüsselt für die Dauer von 12 Jahren gespeichert. Bei der Verschlüsselung werden der Name und andere Identifikationsmerkmale (Teile des Geburtsdatums) durch z.B. eine mehrstellige Zahlenkombination ersetzt, um die Identifizierung des Studienteilnehmers durch unbeteiligte Dritte auszuschließen. Zugang zu dem Schlüssel, der eine persönliche Zuordnung der Daten des

11 FRAGEBÖGEN

11.1 Soziodemographische und geburtshilfliche Informationen

1. Ihr Geburtsdatum (tt.mm.jjjj): . .
2. Größe: . m
3. Aktuelles Gewicht: . kg
4. Sie bekommen demnächst ein Kind mehrere Kinder
5. Erster Tag der letzten Menstruation (tt.mm.jjjj): . .
6. Jetzige Schwangerschaftswoche:
7. Vermutlicher Geburtstermin (tt.mm.jjjj): . .
8. Rauchen Sie derzeit oder haben Sie in den letzten 6 Monaten geraucht?
 Ja Nein
9. Leiden Sie an chronischen Erkrankungen? Ja Nein
Wenn Ja, welche?
- Bluthochdruck
 - Asthma / Emphysem
 - Hypo- / Hyperthyreose
 - Diabetes mellitus (insulinpflichtig)
 - Nierenerkrankungen
 - Morbus Crohn
 - Colitis Ulcerosa
 - Lupus erythematodes
 - Morbus Bechterew
 - Rheumatoide Arthritis
 - HIV / AIDS
 - Anämie
 - Hepatitis B oder C
 - andere

-
10. Die Schwangerschaft kam eher überraschend
 ist geplant gewesen
 ist Resultat einer
Kinderwunschbehandlung

- Wenn Kinderwunschbehandlung, welche?** Clomifen
 andere

.....

11. Waren Sie bereits zuvor schwanger? Ja Nein
Wenn Nein -> weiter bei Frage 12

Wenn Ja:

Wie viele Schwangerschaften hatten Sie vor dieser? Anzahl

Wie viele Kinder haben Sie bereits? Anzahl

Hat eines Ihrer Kinder eine geistige oder körperliche Behinderung?

Ja Nein

Hat eines Ihrer Kinder eine chronische Erkrankung (z. B. Asthma, Diabetes, Neurodermitis)?

Ja Nein

Wenn Ja, welche?

Ist in einer der vorausgegangenen Schwangerschaften eine Komplikation aufgetreten?

Ja Nein

Wenn Ja, welche?

Bluthochdruck

Schwangerschaftsvergiftung (Präeklampsie)

Störung der Blutplättchen (HELLP-Syndrom)

Schwangerschaftsdiabetes

Fehlgeburten

Anzahl Fehlgeburten

1. Fehlgeburt Woche

2. Fehlgeburt Woche

3. Fehlgeburt Woche

4. Fehlgeburt Woche

Fehlbildung des Kindes

Wachstumsstörung des Kindes

Frühgeburt vor der 37. Woche

12. Ist in dieser Schwangerschaft eine Komplikation aufgetreten?

Ja Nein

a. **Wenn Ja**, welche?

Bluthochdruck
 vaginale Blutungen
 Infektionen

13. Nehmen Sie Medikamente ein?

Ja Nein

Wenn Ja, welche?

Kortison-Präparate
 andere Immunsuppressiva
 andere

Nun möchten wir Ihnen einige Fragen zu Ihrer sozioökonomischen Situation stellen:

14. Leben Sie in einer festen Beziehung?

Ja Nein

15. Welcher ist Ihr höchster Bildungsgrad?

ohne Schulabschluss
 Volks- oder Hauptschule
 Mittlere Reife
 Fachabitur
 Abitur
 Hoch-/Fachhochschulabschluss

16. Sind Sie derzeit berufstätig?

nicht berufstätig
 berufstätig

17. Welche ethnische Herkunft haben Ihre leiblichen Eltern?

Ihre Mutter:

Mitteleuropäisch
 Eurasisch
 Arabisch
 Afrikanisch
 Asiatisch
 Südamerikanisch

Ihr Vater:

Mitteleuropäisch
 Eurasisch
 Arabisch
 Afrikanisch
 Asiatisch
 Südamerikanisch

11.2 Schwangerschaftsergebnis

Ausfülldatum: ____ . ____ . ____ Studiennummer: _____ Initialen: _____ Geburtsdatum: ____ . ____ . ____		Bitte senden Sie uns diese Karte <u>nach</u> Beendigung der Schwangerschaft ausgefüllt zurück. Bei Fragen zu Ihren Daten oder unserer Untersuchung rufen Sie uns bitte unter 040 / 7410 22222 an. Vielen Dank im Voraus Ihr PRINCE Team
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Schwangerschaftsverlauf:

Sind Komplikationen aufgetreten: ja nein

Wenn ja, welche? Schwangerschaftsbedingter Bluthochdruck
 Präeklampsie (Schwangerschaftsvergiftung)
 HELLP-Syndrom
 Schwangerschaftsdiabetes **Wenn ja**, insulinpflichtig ja nein
 Vorzeitige Wehentätigkeit
 Fehlgeburt in ___ SSW
 Frühgeburt in ___ SSW
 Infektion in der Schwangerschaft **Wenn ja**, welche _____
 Andere **Wenn ja**, welche _____

Wurden Sie während der Schwangerschaft stationär behandelt? ja nein
 Wenn ja: aus welchem Grund: _____

Bitte wenden

Geburt: Datum der Entbindung: _____ Schwangerschaftswoche: _____

Art der Entbindung: Kaiserschnitt: ja nein

Wenn ja, warum:
 Weiß nicht

Zeit zwischen Blasensprung und Entbindung ___ Stunden keine Angabe

Geschlecht Ihres Babys: männlich weiblich

Die folgenden Angaben zu Ihrem neugeborenen Kind entnehmen Sie bitte Ihrem Mutterpass: Apgar nach 5

Min:

Ph-Wert, arterielles Nabelschnurblut:

Gewicht: _____ g Größe: _____ cm Kopfumfang: _____ cm

Fehlbildung? ja nein

Verlegung Ihres Kindes auf die Intensivstation? ja nein

11.3 Perceived Stress Scale (14 items)

Die folgenden Fragen beschäftigen sich damit, wie häufig Sie sich während des letzten Monats durch Stress belastet fühlten.

	Nie	Fast nie	manchmal	Ziemlich oft	Sehr oft
1. Wie oft haben Sie sich im letzten Monat aufgeregt, weil etwas Unerwartetes passierte?	<input type="checkbox"/>				
2. Wie oft fühlten Sie sich im letzten Monat unfähig, die in Ihrem Leben wichtigen Dinge „in den Griff“ zu bekommen?	<input type="checkbox"/>				
3. Wie oft fühlten Sie sich im letzten Monat nervös und „gestresst“?	<input type="checkbox"/>				
4. Wie oft wurden Sie im letzten Monat mit widrigen Lebensumständen fertig?	<input type="checkbox"/>				
5. Wie oft hatten Sie im letzten Monat das Gefühl, dass Sie in der Lage waren, Veränderungen, die es in Ihrem Leben gab, zu bewältigen?	<input type="checkbox"/>				
6. Wie oft waren Sie im letzten Monat zuversichtlich, Ihre persönlichen Probleme lösen zu können?	<input type="checkbox"/>				
7. Wie oft hatten Sie im letzten Monat das Gefühl, dass sich alles in Ihrem Sinne entwickelte?	<input type="checkbox"/>				

	Nie	Fast nie	manchmal	Ziemlich oft	Sehr oft
8. Wie oft stellten Sie im letzten Monat fest, dass Sie nicht in der Lage waren, all das zu schaffen, das Sie eigentlich hätten erledigen müssen?	<input type="checkbox"/>				
9. Wie oft hatten Sie im letzten Monat das Gefühl, dass Sie mit lästigen Unannehmlichkeiten fertig geworden sind?	<input type="checkbox"/>				
10. Wie oft hatten Sie im letzten Monat das Gefühl, alles unter Kontrolle zu haben?	<input type="checkbox"/>				
11. Wie oft waren Sie im letzten Monat über Dinge verärgert, die Sie nicht ändern konnten?	<input type="checkbox"/>				
12. Wie oft dachten Sie im letzten Monat über Aufgaben nach, deren Erledigung noch bevorsteht?	<input type="checkbox"/>				
13. Wie oft konnten Sie im letzten Monat über Ihre Zeit selbst bestimmen?	<input type="checkbox"/>				
14. Wie oft hatten Sie im letzten Monat das Gefühl, dass die Probleme überhand nahmen?	<input type="checkbox"/>				

11.4 Berliner Social Support Scale

Die nächsten Fragen beschäftigen sich mit Ihrem sozialen Umfeld. Bitte kreuzen Sie an, wie Sie dieses generell wahrnehmen.

	Stimmt nicht	Stimmt eher nicht	Stimmt eher	Stimmt genau
1. Es gibt Menschen, die mich wirklich gern haben.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Wenn es mir schlecht geht, zeigen andere mir, dass sie mich mögen.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Wenn ich traurig bin, gibt es Menschen, die mich aufmuntern.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Wenn ich Trost und Zuspruch brauche, ist jemand für mich da.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Ich habe Menschen, auf die ich mich immer verlassen kann.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Wenn ich Sorgen habe, gibt es jemanden, der mir hilft.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Es gibt Menschen, die mir ihre Hilfe anbieten, wenn ich sie brauche.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Wenn mir alles zu viel wird, helfen mir andere.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Denken Sie nun bitte an Ihre engste **Bezugsperson** wie (Ehe-)Partner/in, Kind, Freund/in usw. Wie hat sie sich in der letzten Woche Ihnen gegenüber verhalten?

	Stimmt nicht	Stimmt eher nicht	Stimmt eher	Stimmt genau
1. Diese Bezugsperson hat mir gezeigt, dass sie mich mag und akzeptiert.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Diese Bezugsperson war für mich da, wenn ich sie gebraucht habe.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	Stimmt nicht	Stimmt eher nicht	Stimmt eher	Stimmt genau
3. Diese Bezugsperson hat mich getröstet, wenn es mir schlecht ging.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Diese Bezugsperson hat mich allein gelassen.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Diese Bezugsperson hat wenig Verständnis für mich gehabt.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Diese Bezugsperson hat etwas an mir auszusetzen gehabt.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Diese Bezugsperson hat viel für mich erledigt.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Diese Bezugsperson hat mir das Gefühl gegeben, wertvoll und wichtig zu sein.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Diese Bezugsperson hat ihre Sorge um mein Befinden ausgedrückt.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Diese Bezugsperson hat mir das Gefühl gegeben, dass ich mich auf sie verlassen kann.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Diese Bezugsperson half mir, meiner Situation etwas Positives abzugewinnen.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Diese Bezugsperson schlug mir eine Tätigkeit vor, die mich etwas ablenken könnte.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. Diese Bezugsperson machte mir Mut, mich nicht aufzugeben.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. Diese Bezugsperson kümmerte sich um meine Angelegenheiten, die ich nicht alleine erledigen konnte.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. Mit dem Verhalten dieser Bezugsperson bin ich insgesamt sehr zufrieden.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

11.5 Neurotizismus

Dieser Fragebogen umfasst 12 Aussagen, welche sich zur Beschreibung Ihrer Person eignen könnten. Lesen Sie bitte jede dieser Aussagen aufmerksam durch und überlegen Sie, ob diese Aussage auf Sie persönlich zutrifft oder nicht.

	Starke Ablehnung	Ablehnung	Neut- ral	Zustimm- ung	Starke Zustimm- ung
1. Ich bin nicht leicht beunruhigt.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Ich fühle mich anderen oft unterlegen.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Wenn ich unter starkem Stress stehe, fühle ich mich manchmal, als ob ich zusammenbräche.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Ich fühle mich selten einsam oder traurig	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Ich fühle mich oft angespannt und nervös	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Manchmal fühle ich mich völlig wertlos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Ich empfinde selten Furcht oder Angst.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Ich ärgere mich oft darüber, wie andere Leute mich behandeln.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Zu häufig bin ich entmutigt und will aufgeben wenn etwas schiefgeht.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Ich bin selten traurig oder deprimiert.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Ich fühle mich oft hilflos und wünsche mir eine Person, die meine Probleme löst.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Manchmal war mir etwas so peinlich, dass ich mich am liebsten versteckt hätte.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

12 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonderer Dank gilt an erster Stelle Frau Prof. Dr. med. Petra Clara Arck für die Überlassung des Themas für meine Dissertation und für die freundliche Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe. Zahlreiche fachlich anregende Gespräche führten mich in das Forschungsgebiet ein und ließen mein Interesse an diesem Thema nur wachsen. Auch für die anschließende Betreuung beim Verfassen dieser Arbeit möchte ich mich herzlich bedanken.

Des Weiteren gilt ein sehr großer Dank Frau Dr. Isabel Hartwig für ihre unglaublich kompetente und unterstützende Hilfe bei der Konzeptualisierung und statistischen Auswertung dieser Arbeit.

Vielen Dank auch an Herrn Dr. Stefan Gold und seine ganze Arbeitsgruppe des Zentrums für Molekulare Neurobiologie Hamburg, insbesondere Frau Dr. Anja Fischer und Herrn Dr. Kostas Patas, für den fachkundigen Austausch im Bereich der Neuroimmunologie und Hilfe und Unterstützung bei der Durchführung und Interpretation der funktionellen Assays.

Ebenfalls danke ich der gesamten Arbeitsgruppe der Experimentellen Feto-Maternalen Medizin hier noch einmal ausdrücklich für die nette Aufnahme in das Team und die kollegiale Unterstützung im Labor, allen voran Agnes Wieczorek und Thomas Anders. Ebenso gilt noch mein besonderer Dank Frau Gundula Hansen, die sich mit Herz und Seele um unsere schwangeren Probandinnen und die Studienkoordination kümmert und mir alle nötigen Materialien zur Verfügung stellte. Frau Franziska Jahn stand mir als seelischer Beistand nicht nur im Labor stets zur Seite. Aus einer Kollegin ist eine Freundin geworden.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meiner Mutter, ohne die ich heute nicht die wäre, die ich bin, und meinem Freund, der mich mit seinem unerschütterlichen Optimismus in allem unbeirrt unterstützt, sowie meinen Freunden für ihre stets positiven Aufmunterungen und eine gehörige Portion Geduld und Nachsicht.

13 LEBENSLAUF

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

14 EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Eidesstattliche Versicherung

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.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: