

DER EINFLUSS VON CHRONISCHEM STRESS
WÄHREND DER SCHWANGERSCHAFT
AUF DIE FUNKTIONELLE REIFUNG
DES FETALEN ZENTRALEN NERVENSYSTEMS

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von
FLORIAN RAKERS
geboren am 14.11.1979 in Lingen (Ems)

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Matthias Schwab / Jena
2. Prof. Dr. rer. nat. Herbert Witte / Jena
3. Prof. Dr. med. Geerd Mayer / Schwalmstadt

Tag der öffentlichen Verteidigung:

01.03.2011

*für meine Familie
für Vilmar*

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropin
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/ Hyperaktivitätsstörung
AVP	Arginin-Vasopressin
(p)CRH	(plazentares)Corticotropin-Releasing-Hormon
dGA	Gestationstag
CBF	zerebral-arterieller Blutfluss
ECoG	Elektrokortikogramm
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
GR	Glukokortikoidrezeptor
HHN-Achse	Hypothalamus–Hypophysen–Nebennieren–Achse
11 β -HSD2	11- β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Typ-2
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
I.U.	internationale Einheiten
MAP	Mikrotubulus-assoziierte Proteine
MR	Mineralkortikoidrezeptor
MW	Mittelwert
Ncl.	Nucleus
ng	Nanogramm
n	Anzahl der Tiere
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PVF	Punktvorhersagefehler
(N)-REM	(Non)-Rapid-Eye-Movement
SEM	Standardfehler des Mittelwerts
SSW	Schwangerschaftswoche
ZNS	zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	3
2.1	Pränataler Stress: klinische und neuropsychologische Bedeutung	4
2.1.1	Depressionen	5
2.1.2	Kognitive Störungen und Verhaltensauffälligkeiten	5
2.1.3	Schizophrenie	6
2.2	Physiologie des pränatalen Stress	7
2.2.1	Physiologie der Stressachse und neurologische Bedeutung	7
2.2.2	Maternal-fetale Übertragungswege von pränatalem Stress	9
2.2.2.1	Plazentarer Transfer von mütterlichem Kortisol	9
2.2.2.2	Effekte von mütterlichen Stresshormonen auf die Plazenta	10
2.2.2.3	Plazentare Produktion des Corticotropin-Releasing-Hormons	10
2.3	Stresshormone und Hirnentwicklung	10
2.3.1	Fetale Schlafstadien als bedeutender Marker der Hirnentwicklung	10
2.3.2	Neuronale Steuerung fetaler Schlafstadien	12
2.3.3	Zerebrale Effekte einer pränatalen Glukokortikoidtherapie	13
2.3.3.1	Akute zerebrale Effekte von synthetischen Stresshormonen auf die Hirnfunktion	13
2.3.3.2	Akute zerebrale Effekte von synthetischen Stresshormonen auf die Hirnstruktur	15
2.3.3.3	Chronische zerebrale Effekte von synthetischen Stresshor- monen	16
2.3.3.4	Programmierung der fetalen HHN-Achse	16
2.3.4	Zerebrale Effekte von pränatalem Stress und Einfluss unterschied- licher Expositionszeitpunkte	17
3	Ziele der Arbeit	19
4	Methodik	21
4.1	Experimentelles Protokoll	21
4.1.1	Überblick	21
4.1.2	Gruppeneinteilung	22
4.1.3	Versuchsablauf	23

4.1.3.1	Phase 1: chronische Stressung der Muttertiere und chirurgische Instrumentierung der Feten	23
4.1.3.2	Phase 2: Datenerhebung	25
4.2	Analyse des Elektrokortikogramms	26
4.2.1	Lineare Leistungsspektralanalyse des ECoGs	26
4.2.2	Nicht-lineare Analyse des ECoGs	27
4.2.3	Auswahl der ECoG-Abschnitte und Zuordnung zu den Schlafstadien	29
4.3	Statistische Analyse der Daten	30
5	Ergebnisse	31
5.1	Physiologische Parameter	31
5.2	Chronische Stressung der Muttertiere	32
5.3	Einfluss von pränatalem Stress auf die Entwicklung der Schlafstadien . . .	34
5.3.1	Definition der verwendeten Begriffe	34
5.3.2	Entwicklung des REM- und N-REM-ECoGs: lineare Analyse	34
5.3.2.1	Entwicklung des ECoGs	34
5.3.2.2	Kortikale Aktivierung und sich entwickelnder REM-Schlaf	36
5.3.2.3	Kortikale Deaktivierung und sich entwickelnder N-REM-Schlaf	36
5.3.3	Entwicklung des REM- und N-REM ECoGs: nicht-lineare Analyse .	38
5.3.3.1	Entwicklung des ECoGs	38
5.3.3.2	Kortikale Aktivierung und sich entwickelnder REM-Schlaf	40
5.3.3.3	Kortikale Deaktivierung und sich entwickelnder N-REM-Schlaf	40
5.4	Einfluss von pränatalem Stress auf die Schlafstadienlänge	41
6	Diskussion	45
6.1	Diskussion der Methode	45
6.1.1	Experimentelles Modell	45
6.1.2	Auswertung des ECoGs	46
6.1.3	Chronische Stressung der Muttertiere	47
6.2	Diskussion der Ergebnisse	48
6.2.1	Physiologische Parameter	48
6.2.2	Effekte von pränatalem Stress auf die Entwicklung der Schlafstadien	49
6.2.3	Effekte von pränatalem Stress auf die Schlafstadienlänge	52
7	Schlussfolgerungen	55

8	Literatur- und Quellenverzeichnis	57
	Anhang	73
	Ehrenwörtliche Erklärung	73
	Tabellarischer Lebenslauf	74
	Danksagung	75

1 Zusammenfassung

Es gibt Hinweise aus retrospektiven und ersten tierexperimentellen Studien, dass pränataler Stress zu Krankheiten im späteren Leben wie Depressionen, Schizophrenie, ADHS und kognitiven Einschränkungen führen kann. Dies kann theoretisch Folge einer gestörten Hirnreifung sein. Durch experimentelle Untersuchungen ist zwar bekannt, dass die pränatale Gabe von synthetischen Glukokortikoiden die Entwicklung des sich entwickelnden Gehirns stören kann - experimentelle Untersuchungen zur Auswirkung von pränatalem Stress auf die Hirnreifung fehlen aber.

In vorherigen Experimenten unserer Arbeitsgruppe führte die Gabe von synthetischen Glukokortikoiden beim Schaf zu Beginn des dritten Trimenons am 105. Gestationstag (0.7 Gestation) in klinischer Dosierung zu einer beschleunigten Reifung der fetalen Schlafstadien - insbesondere des REM-, nicht aber des N-REM-Schlafs - sowie zu einer Schlafstadienfragmentierung, welche ein charakteristisches Symptom von depressiven Patienten ist. Die fetalen Schlafstadien sind Marker der funktionellen Hirnreifung und spiegeln die Funktion eines komplexen und disseminierten neuronalen Netzwerkes wider.

Aus Versuchen an Ratten ist bekannt, dass die durch pränatalen Stress ausgelöste Schlafstadienfragmentierung bis ins spätere Leben persistieren kann und somit ein Hinweis auf eine durch pränatalen Stress verursachte Prädisposition für Depression im späteren Leben ist.

Die vorliegende Arbeit untersucht, ob auch pränataler Stress - vergleichbar mit der pränatalen Applikation von synthetischen Glukokortikoiden - die funktionelle Hirnreifung beeinflusst und infolge dessen zu einer beschleunigten Reifung der Schlafstadien und zu einer Schlafstadienfragmentierung als Marker einer Prädisposition für Depressionen im späteren Leben führt.

Als Tiermodell dient das chronisch instrumentierte fetale Schaf, welches eine dem Menschen vergleichbare Entwicklung der Schlafstadien aufweist und die intrauterine Ableitung des Elektrokortikogramms (ECoG) erlaubt. Es wurden insgesamt 14 trächtige Schafe analysiert, welche vom 30. - 100. Gestationstag (0.2-0.66 Gestation) durch eine jeweils 180-minütige Isolation an zwei Tagen der Woche chronisch gestresst wurden. Nach der anschließenden chronischen Instrumentierung ab dem 105. Gestationstag (0.7 Gestation) wurde das ECoG vom 110.-135. Gestationstag (0.73-0.86 Gestation) intrauterin abgeleitet und mittels linearer und nicht-linearer Verfahren analysiert.

Die chronische Stressung der Muttertiere führte zu einer signifikanten und reproduzier-

baren Stressantwort. Diese wurde durch die Messung der maternalen Kortisolspiegel validiert. Der chronische Stress führte zu einer fetalen Schlafstadienfragmentierung gleichen Ausmaßes und gleicher Qualität, wie sie auch durch die pränatale Gabe von synthetischen Glukokortikoiden am 105. Gestationstag (0.7 Gestation) ausgelöst wird. Die Schlafstadienfragmentierung war auch noch am letzten analysierten Gestationstag, 30 Tage nach der letzten Stressung, nachweisbar. Eine beschleunigte Reifung der Schlafstadien, wie sie durch die Gabe von synthetischen Glukokortikoiden am 105. Gestationstag ausgelöst wird, konnte nicht beobachtet werden.

Im Gegensatz zur früheren Reifung der Schlafstadien nach einer pränatalen Glukokortikoidgabe, spricht die ausbleibende Reifung der Schlafstadien in unserem Stressmodell entweder für die mangelnde Vulnerabilität des die Schlafstadien steuernden Neuronensystems vor dem 100. Gestationstag, für eine zu geringe Intensität unseres Stressmodells oder aber für die Unreife der Glukokortikoidrezeptoren während der Stressphase.

Mit dieser Arbeit ist es gelungen, die Empfindlichkeit des sich entwickelnden Gehirns für äußere Einflüsse und deren Konsequenzen für die Entstehung von Krankheiten im späteren Leben nachzuweisen. Unsere Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen epidemiologischer und tierexperimenteller Studien, die einen Zusammenhang zwischen pränatalem Stress und dem Auftreten von Depressionen im späteren Leben fanden. Dies ist vor dem gesundheitspolitischen Hintergrund der Entwicklung von wissenschaftlich fundierten, primärpräventiven Maßnahmen von besonderer Bedeutung.

2 Einleitung

Bereits in der Antike wurde vermutet, dass sich der emotionale Zustand einer Schwangeren auf die Entwicklung des Fetus auswirkt (Übersicht in Ferreira 1960). Es gelang jedoch erst in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts, eine Beziehung zwischen emotionalen Störungen während der Schwangerschaft und einem gestörten Verhalten des Säuglings nachzuweisen (Sontag 1952).

Heute sind die Untersuchungen zum Einfluss von pränatalem Stress auf die fetale Entwicklung und die Bedeutung für das spätere Leben ein viel diskutiertes, medizinisches Problem mit weitreichenden gesundheitspolitischen und arbeitsrechtlichen Konsequenzen (Schwab 2009).

Obwohl in den vergangenen 20 Jahren – ausgelöst durch die Forschungen von David J. Barker und der von ihm aufgestellten Hypothese zum pränatalen Ursprung von Erkrankungen des späteren Lebens (Barker et al. 1993) - viel Energie in die Erforschung zur Auswirkung von pränatalem Stress auf die Gesundheit der nachfolgenden Generationen investiert wurde, sind die Mechanismen und vulnerable Zeitfenster im Detail bisher weitestgehend ungeklärt. Dies liegt nicht zuletzt daran, dass Stress während der Schwangerschaft unter klinischen Bedingungen nur unzureichend objektivierbar ist. Untersuchungen der zugrunde liegenden Mechanismen unter standardisierten experimentellen Bedingungen stehen im Fokus des öffentlichen Gesundheitsinteresses und sind eine wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung primärpräventiver Maßnahmen.

Ungeachtet der Ergebnisse vieler epidemiologischer Studien, welche einen Zusammenhang zwischen pränatalem Stress und neuropsychologischen Defiziten der Nachkommen herstellen, fehlen strukturierte experimentelle Untersuchungen, welche die neuronalen Auswirkungen von pränatalem Stress direkt am fetalen Gehirn ergründen. Dabei ist es für die Primärprävention äußerst wichtig, die Ursachen, Mechanismen und Zeitfenster zu kennen, in denen pränataler Stress das menschliche Gehirn bereits im Mutterleib zeitlebens prägt.

2.1 Pränataler Stress: klinische und neuropsychologische Bedeutung

Pränataler Stress hat viele Gesichter und die Definition ist je nach Betrachtungswinkel unterschiedlich. Während die psychologische Definition die emotionale Komponente stärker betont, akzentuiert die Neurowissenschaft die bekannten biologischen Marker wie Kortisol oder Katecholamine. Fächerübergreifend kann pränataler Stress aber als ein multidimensionales Geschehen verstanden werden, das während der Schwangerschaft wirkt und aus einem unausgewogenen Verhältnis zwischen akuten oder chronischen Anforderungen der Umwelt an ein Individuum und seinen Ressourcen resultiert und psychische und/oder physische Reaktionen auslöst (Beydoun et al. 2008, Lazarus 1974).

Pränataler Stress wird nach dem aktuellen Stand der Wissenschaft mit einer Reihe von neuropsychiatrischen Störungen in Verbindung gebracht. Sowohl epidemiologische als auch tierexperimentelle Untersuchungen konnten eine enge Verbindung zwischen pränatalem Stress und motorischen bzw. kognitiven Entwicklungsstörungen, abnormen Verhaltensweisen sowie einer erhöhten Inzidenz von Depressionen und Schizophrenien nachweisen. Einzelne Autoren vertreten sogar die Meinung, dass pränataler Stress aufgrund der Vielzahl der beobachteten Störungen keine spezifische Psychopathologie begünstigt, sondern vielmehr eine generelle Anfälligkeit für neuropsychologische Störungen bewirkt (Huizink et al. 2004).

Die Erkenntnisse zu den Auswirkungen von pränatalem Stress auf die neuropsychologische Entwicklung des Individuums – auf die im Folgenden eingegangen werden soll - wurden mehrheitlich durch epidemiologische Untersuchungen gewonnen. Obwohl diese Untersuchungen einen wesentlichen Beitrag zur Identifikation der neuropsychologischen Folgen von pränatalem Stress leisten, sind diese mit der nötigen Vorsicht zu interpretieren, da sie vom individuellen Stresserleben des untersuchten Individuums abhängig und aufgrund ihres Designs anfällig für mögliche Störfaktoren sind. Tierexperimentellen Untersuchungen wird aus diesem Grund in der Stressforschung eine besondere Bedeutung beigemessen, da sie es erlauben, den Stress unter Kontrolle möglicher Störfaktoren zu objektivieren.

2.1.1 Depressionen

Bereits ein einzelnes belastendes Ereignis während der Schwangerschaft, z. B. das Erleben eines schweren Erdbebens, kann ausreichen, um die Inzidenz von schweren Depressionen bei der nachfolgenden Generation zu erhöhen (Watson et al. 1999). Dabei aktivieren akute Stresserfahrungen neuronale Schaltkreise im Vorderhirn und im limbischen System, um eine adäquate Stressantwort des Individuums zu erzeugen. Eine Störung dieser Neuronenkreise durch eine pränatale Fehlprogrammierung während der Schwangerschaft kann die individuelle Vulnerabilität im Bezug auf Depressionen erklären (Ehlert et al. 2001). In der Ätiologie der Depressionen spielt weiterhin eine Störung der Stressachse im Sinne einer Hyperaktivität eine wesentliche Rolle (Nestler et al. 2002). In der Tat ist pränataler Stress beim Menschen mit einer erhöhten und schnelleren Kortisolausschüttung in belastenden Situationen verbunden (Burke et al. 2005, Gutteling et al. 2004, Gutteling et al. 2005).

Ebenso konnte in Tierversuchen bei pränatal gestressten Ratten und Mäusen im sogenannten „forced-swim-test“ ein Zusammenhang zwischen pränatalem Stress und depressiven Symptomen hergestellt werden (Alonso et al. 1991, Alonso et al. 2000, Frye et al. 2003). Diese depressiven Symptome gehen – vergleichbar mit den Ergebnissen von Studien am Menschen - mit einer gestörten Stressachse einher (Morley-Fletcher et al. 2003). Wie bei depressiven Patienten zeigten pränatal gestresste Ratten einen gestörten zirkadianen Rhythmus der Kortisolsekretion sowie der Schlafstadien (Maccari et al. 2003). Die durch pränatalen Stress induzierten depressiven Symptome können interessanterweise erfolgreich mit Antidepressiva behandelt werden (Morley-Fletcher et al. 2004).

2.1.2 Kognitive Störungen und Verhaltensauffälligkeiten

Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang zwischen pränatalem Stress und verminderten kognitiven Störungen sowie Verhaltensauffälligkeiten herstellen.

Niederhofer und Reiter stellten fest, dass Kinder im Alter von sechs Jahren, deren Mütter während der Frühschwangerschaft subjektiv hohem Stress ausgesetzt waren, schlechtere Schulnoten bekamen, als vergleichbare Kinder von subjektiv nicht-gestressten Müttern (Niederhofer et al. 2004). Auch bei einer Objektivierung des Stressses, z. B. durch ein einzelnes Großschadensereignis während der Schwangerschaft, konnte eine kognitive Beeinträchtigung der Kleinkinder in Form von schlechteren Ergebnissen bei Intelligenz- und Sprachtests nachgewiesen werden (Laplante et al. 2004) als bei vergleichbaren Kleinkindern von nicht gestressten Müttern. Durch prospektive Studien gilt der Zusammenhang

von pränatalem Stress und verminderten kognitiven Leistungen bei Kindern als gesichert nachgewiesen (Gutteling et al. 2006).

Auch Verhaltensauffälligkeiten (z.B. ADHS) können durch pränatalen Stress begünstigt werden. So zeigt sich bei Kindern, deren Mütter während der Schwangerschaft einem hohen psychologischen Stress ausgesetzt waren, häufiger eine ADHS-Symptomatik als bei Kindern von nicht gestressten Müttern (Rodriguez et al. 2005a). Van den Bergh konnte anhand einer prospektiven Studie ebenfalls einen Zusammenhang zwischen pränatalem Stress und ADHS bei Schulkindern (Van den Bergh et al. 2004) und Jugendlichen (Van den Bergh et al. 2006) nachweisen. Zudem scheint die Dauer bzw. die Stärke des pränatalen Stressses positiv mit der ADHS-Symptomatik korreliert zu sein (Grizenko et al. 2008).

Bei pränatal durch Bewegungseinschränkung (Zagron et al. 2006, Lemaire et al. 2000) oder elektrischen Strom (Yang et al. 2006) gestressten Ratten und Mäusen konnte in Labyrinthversuchen, bei denen primär das räumliche Lernen als Hinweis auf kognitive Disparitäten untersucht wird, eine teils erheblich verminderte Leistung festgestellt werden. Eine physiologische Erklärung dieser Ergebnisse konnte durch die Untersuchung der neuronalen Funktion und Struktur des Hippocampus gefunden werden. Ausgeprägter pränataler Stress führt zu einer Unterdrückung der hippocampalen, neuronalen Langzeit-Potenzierung, welche unverzichtbar für die Speicherung neuer Informationen ist (Yang et al. 2006, Son et al. 2006).

2.1.3 Schizophrenie

Auch im Bezug auf die Schizophrenie können Zusammenhänge zwischen Belastungen während der Schwangerschaft und einer Erkrankung der Nachkommen gefunden werden. So führte z. B. die deutsche Invasion der Niederlande 1940 bei den Nachkommen von Frauen, die zu diesem Zeitpunkt schwanger waren, zu einem erhöhten Risiko an Schizophrenie zu erkranken (van Os et al. 1998). Diese Beobachtung ist auch bei anderen belastenden Ereignissen nachweisbar (Kinney et al. 1999). Auch in prospektiven Untersuchungen kann pränataler Stress mit dem Auftreten einer Schizophrenie bei den Nachkommen korreliert werden (Myhrman et al. 1996, Huttunen et al. 1978).

Bei pränatal chronisch gestressten Ratten konnten Verhaltensänderungen nachgewiesen werden, die den Verhaltensänderungen schizophrener Patienten ähneln (Koenig et al. 2005). Ferner löst pränataler Stress in verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen eine Erhöhung des präsynaptischen Dopaminmetabolismus aus, welcher auf Neurotransmitterebene ebenfalls charakteristisch für schizophrene Patienten ist (Meyer et al. 2010).

2.2 Physiologie des pränatalen Stresses

Das Verständnis der neuropsychologischen Auswirkungen von pränatalem Stress auf den Fetus und die daraus resultierenden Erkrankungen beim Adulten erfordern die Auseinandersetzung mit den physiologischen Mechanismen des Stresses und die Wirkung seiner Effektorhormone im ZNS. Nachdem im Folgenden auf die Stressphysiologie eingegangen wird, erfolgt die Beschreibung verschiedener Möglichkeiten der Übertragung von maternalem Stress auf den Fetus.

2.2.1 Physiologie der Stressachse und neurologische Bedeutung

Im Zentrum der Stressreaktion stehen zwei Systeme: das sympathoadrenerge Stresssystem und die Hypothalamo-Hypophysen-Nebennierenachse (HHN-Achse) (Übersichtsartikel: Miller et al. 2002, Wurtman 2002).

Einige, vor allem frühe Studien zu pränatalem Stress beschäftigen sich hauptsächlich mit dem sympathoadrenergen Stresssystem, welches unter bestimmten Bedingungen Mediator des pränatalen Stresses sein kann (Kaiser et al. 2005). Tatsächlich können durch die maternale Gabe von Katecholaminen in Tierversuchen vergleichbare Effekte, wie sie durch pränatalen Stress verursacht werden, nachgewiesen werden (Liebermann 1963).

Ein Großteil der verfügbaren Studien konzentriert sich aber auf den Einfluss der HHN-Achse und das Stresshormon Kortisol. Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe sowie die Ergebnisse einer Vielzahl von neueren Studien belegen, dass die Aktivitäten der HHN-Achse und des Kortisols den Hauptanteil an der Vermittlung des pränatalen Stresses tragen (Huizink et al. 2004).

Spezialisierte Neurone im Ncl. paraventricularis des Hypothalamus produzieren als Reaktion auf externe und interne Stimuli das Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) und Arginin-Vasopressin (AVP). CRH stimuliert im Hypophysenvorderlappen die Bildung und Freisetzung des Hormons Adrenocorticotropin (ACTH). Über den Blutkreislauf gelangt ACTH u. a. zur Nebennierenrinde, welche zur Bildung und Freisetzung von Glukokortikoiden sowie Mineralokortikoiden angeregt wird. Die Ausschüttung von Kortisol erfolgt zirkadian mit einem Spitzenwert in den frühen Morgenstunden (Übersicht in Miller et al. 2002).

Neben den bekannten katabolen Wirkungen des Kortisols besteht im ZNS eine weitreichende Wirkung auf neurofunktionale Systeme und Neurotransmitter. So besitzt Kortisol

eine modulierende Wirkung auf den Hippocampus, welcher als Teil des limbischen Systems Einfluss auf Kognition, Verhalten und das Gedächtnis hat (Belanoff et al. 2001, Lupien et al. 2005). Das limbische System spielt sowohl in der Ätiologie der Depressionen als auch in der Ätiologie der Schizophrenie eine wesentliche Rolle (Tsuno et al. 2005, Meyer et al. 2010). Ferner ist Kortisol an der Regulation verschiedener neuronaler Transmittersysteme beteiligt. Es besteht eine enge Verbindung zwischen der Stressachse und dem serotonergen und noradrenergen System. Eine Steigerung des Kortisolspiegels bewirkt eine Verminderung des Serotonin- und Noradrenalingehalts, was charakteristisch für die neuronale Dysbalance bei depressiven Erkrankungen ist (Slotkin et al. 1996, Muneoka et al. 1997). Des Weiteren führt ein erhöhter Kortisolspiegel zu einer Störung der dopaminergen Neurotransmission, wie sie unter anderem bei ADHS und der Pseudodemenz im Rahmen einer depressiven Erkrankung gefunden werden kann (Muneoka et al. 1997, McArthur et al. 2005). Kortisol ist ebenfalls in den Stoffwechsel von Acetylcholin und gamma-Aminobuttersäure eingebunden, deren Störung u. a. mit der Pathogenese der Schizophrenie assoziiert wird (Day et al. 1998, Stone et al. 2001).

Die Wirkung von Kortisol wird durch zwei Arten von intrazellulären Rezeptoren sowie durch schnell wirksame Membraneffekte vermittelt (Übersichtsartikel in Tasker et al. 2006). Die intrazellulären Rezeptoren, welche als Transkriptionsfaktor die Genexpression regulieren, existieren in zwei Subtypen. Typ I oder Mineralkortikoidrezeptoren (MR) sind hauptsächlich im septo-hippocampalen Hirnsystem zu finden. Diese Rezeptoren besitzen eine hohe Bindungsaffinität für Glukokortikoide und sind bei physiologischen Konzentrationen um 10 ng/ml zu 90 % besetzt. Typ II oder Glukokortikoidrezeptoren (GR) besitzen eine geringere Bindungsaffinität und sind vor allem bei gestressten Individuen sowie bei medikamentös induzierten Glukokortikoidspiegeln (50 - 60 ng/ml) vollständig besetzt. GR sind im gesamten Gehirn zu finden (Reul et al. 1985) und spielen somit bei der Wirkung von pränatalem Stress eine wichtige Rolle. Es wird angenommen, dass MR eine eher neuroprotektive Wirkung besitzen. GR lösen hingegen bei hohen Kortisolspiegeln Apoptose aus (Hassan et al. 1996).

Die Regulation der HHN-Achse erfolgt über einen direkten hormonellen negativen Feedbackmechanismus im Hypothalamus und in der Hypophyse. Daneben sind auch der Hippocampus und weitere Teile des limbischen Systems an der Regulation beteiligt. Dem Hippocampus werden hauptsächlich inhibitorische Funktionen zugeschrieben (Übersicht in Chrousos 1998).

Während der Schwangerschaft ist der Fetus nur sehr geringen Kortisolspiegeln ausgesetzt (Fowden 1995). Da während der Fetalperiode auch die Genexpression wichtiger Schlüs-

selenzyme der Kortisolbiosynthese, z. B. die 17-alpha-Hydroxylase, deaktiviert sind (Tangalakis et al. 1989), wird angenommen, dass das vorhandene Kortisol allein von der Mutter stammt (Hennessy et al. 1982). Die Reifung der HHN-Achse und somit die Eigenproduktion von Kortisol beginnt erst im letzten Drittel der Schwangerschaft - beim Schaf ab dem 125. Gestationstag (Challis 2001).

2.2.2 Maternal-fetale Übertragungswege von pränatalem Stress

Der Mechanismus der Stressübertragung von der Schwangeren auf den Fetus ist noch nicht vollständig verstanden. Es werden verschiedene Mechanismen diskutiert, welche wahrscheinlich gemeinsam wirken (Übersicht in: van den Bergh et al. 2005 und Huizink et al. 2004).

2.2.2.1 Plazentarer Transfer von mütterlichem Kortisol

Die Übertragung von mütterlichen Stresshormonen auf den Fetus ist ein gut untersuchter Mechanismus der Stressübertragung (Barbazanges et al. 1996). Während der Schwangerschaft steigt der physiologische Kortisolspiegel der Mutter um das zwei bis vierfache an, wobei ein Großteil des Anstiegs auf das letzte Drittel der Schwangerschaft entfällt (Sandman et al. 2006). Menschliches Kortisol und sein bei Nagern vorhandenes Äquivalent Kortikosteron besitzen lipophile Eigenschaften und können die Plazenta passieren (Zarrow et al. 1970). Tatsächlich korreliert der mütterliche Kortisolspiegel linear mit dem des Fetus. Die Konzentration des fetalen Kortisolspiegels liegt allerdings um den Faktor 10 unter dem mütterlichen Spiegel (Gitau et al. 2001), wobei hierfür das plazentare Enzym 11- β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase-Typ-2 (11 β -HSD2) ursächlich ist. 11 β -HSD2 konvertiert das aktive Kortisol zum inaktiven Metaboliten Kortison. Die Konvertierungsrate beträgt zwischen 50 % und 90 %. Synthetische Glukokortikoide werden von 11 β -HSD2 nicht metabolisiert (Benediktsson et al. 1997). Für Noradrenalin konnte keine Korrelation zwischen dem mütterlichen und dem fetalen Hormonspiegel gefunden werden. Noradrenalin ist nicht in der Lage, die Plazentaschranke zu passieren (Giannakoulopoulos et al. 1999).

2.2.2.2 Effekte von mütterlichen Stresshormonen auf die Plazenta

Eine weitere Möglichkeit der Übertragung von maternalem Stress auf den Fetus ist die direkte Beeinflussung der Plazenta durch maternale Stresshormone. Die Plazenta besitzt eine hohe Dichte an Katecholamin- und Glukokortikoidrezeptoren, deren Aktivierung eine Vasokonstriktion der plazentaren Gefäße bewirkt. Die maternale Infusion von Noradrenalin sorgt z. B. im Schafmodell für eine sofortige Konstriktion der plazentaren Gefäße und führt so zu einer verminderten fetalen Oxygenierung (Stevens et al. 1995). Die verminderte Oxygenierung führt über bisher nicht vollständig verstandene Mechanismen zu direktem Stress im fetalen Organismus (Challis et al. 1989). Beim Menschen lassen sich mittels Doppleruntersuchungen Mangeldurchblutungen der plazentaren Gefäße bei emotional instabilen Müttern feststellen (Sjostrom et al. 1997).

2.2.2.3 Plazentare Produktion des Corticotropin-Releasing-Hormons

Mütterlicher Stress kann ebenfalls durch ein plazentaeigenes Hormon, das plazentare Corticotropin-Releasing-Hormon (pCRH), übertragen werden. pCRH wird direkt von der Plazenta sowohl in den mütterlichen als auch in den fetalen Kreislauf abgegeben. Es ist weitestgehend mit dem mütterlichen CRH identisch, unterliegt aber im Gegensatz zu diesem keinem negativen Feedbackmechanismus. Es kommt im Gegenteil durch die Anwesenheit von Glukokortikoiden zu einer Steigerung des pCRH-Spiegels (Grammatopoulos 2008). Hohe Spiegel von pCRH aktivieren die maternale und die fetale HPA-Achse (Mastorakos et al. 2003). Maternales Kortisol, welches während Stressreaktionen in hohen Dosen ausgeschüttet wird, kann so durch diesen positiven Feedbackmechanismus den fetalen Kortisolspiegel erhöhen. pCRH wurde bisher nur bei Primaten nachgewiesen (Huizink et al. 2004).

2.3 Stresshormone und Hirnentwicklung

2.3.1 Fetale Schlafstadien als bedeutender Marker der Hirnentwicklung

Um zu untersuchen, ob pränataler Stress Entwicklungsstörungen des fetalen Gehirns verursacht, bedarf es einer geeigneten Methode, um diese Störungen sichtbar zu machen. Aufgrund der Notwendigkeit einer funktionierenden, komplexen und disseminierten neuronalen Steuerung sind das Vorhandensein und die Qualität der zerebralen Schlafstadien

geeignete Marker für die funktionelle Reifung des fetalen Gehirns (van den Bergh et al. 2005, Mirmiran 1995).

Da beim menschlichen Fetus die Möglichkeit zur invasiven Diagnostik der Reifung des ZNS nicht möglich ist, bedient man sich indirekter Untersuchungsmethoden. So können Reifungsstörungen des fetalen ZNS durch die Analyse der fetalen Verhaltensstadien mittels Ultraschalluntersuchungen und Kardiotokografie indirekt nachgewiesen werden. Die Verhaltensstadien können als Vorläufer von adulten Schlaf-Wachphasen bzw. Schlafstadien betrachtet werden (van den Bergh et al. 2005, McNerney et al. 1990).

Ab der 8. Schwangerschaftswoche (SSW) lassen sich per Ultraschalluntersuchung beim Menschen fetale Bewegungen nachweisen (de Vries et al. 1982). Ab der 26. SSW können diesen Bewegungen bestimmte Herzfrequenzmuster sowie im weiteren Verlauf bestimmte Augenbewegungen (Rapid-Eye-Movement/REM) zugeordnet werden. Es werden vier Schlafstadien unterschieden, wobei die Phase 1F dem N-REM- und die Phase 2F dem REM-Schlaf zuzuordnen sind (Mulder et al. 1987, Selton et al. 2000). Ab der 26.-28. SSW sind die Schlafstadien zunächst temporär und ab der 36. SSW stabil ausgebildet (Übersicht in Romanini et al. 1995). In der 38. SSW verbringt ein Fetus etwa 75 % in den Stadien 1F und 2F (Nijhuis et al. 1982).

Die beim menschlichen Fetus verwendeten Methoden zur Untersuchung der Verhaltensstadien sind methodisch mit einer großen Ungenauigkeit behaftet, da sie zum einen nur einen indirekten Nachweis des Verhaltens liefern und zum anderen zu wenige Parameter zur Beschreibung der Schlaf- bzw. Verhaltensstadien darstellen können. Um die zur genaueren Analyse der funktionellen ZNS-Entwicklung notwendigen Daten zu erheben, wird das Tiermodell des chronisch instrumentierten fetalen Schafs verwendet. Hierbei handelt es sich um ein seit den 1970er-Jahren bekanntes Tiermodell, bei welchem die Möglichkeit besteht, intrauterin mittels ECoG-Elektroden die neuronale Aktivität direkt am fetalen Gehirn zu bestimmen. Im Gegensatz zum beim Menschen verwendeten EEG, wird beim ECoG die elektrische Hirnaktivität direkt von der Hirnoberfläche durch in die Schädelkapsel implantierte Elektroden abgeleitet. Obwohl das Gehirn des Schafes bei der Geburt einen höheren Reifungsgrad als das menschliche Gehirn aufweist, ist die Entwicklung der Schlafstadien dabei mit der des Menschen vergleichbar (Dobbing et al. 1979, Astrom 1967).

Beim fetalen Schaf konnten in Voruntersuchungen ab dem 106. Gestationstag (0.73 der Gestation) phasenweise auftretende instabile zyklische Schwankungen im ECoG mithilfe nicht-linearer rechnergestützter Analyseverfahren nachgewiesen werden. Ab dem 112. Gestationstag (0.77 der Gestation) sind Schlafstadienwechsel in Form von erhöhter Del-

taaktivität im ECoG mittels linearer Verfahren nachweisbar (Groh 2009). Dies entspricht einem sich entwickelnden N-REM-Schlaf und der Phase 1F der humanen Verhaltensstadien. Ab dem 130. Tag (0.9 der Gestation) können dann stabile Schlafstadienwechsel in Form eines Anstiegs von Betaaktivität im ECoG beobachtet werden, welche einem sich entwickelndem REM-Schlaf und somit der Phase 2F der humanen Verhaltensstadien entsprechen (Groh 2009).

2.3.2 Neuronale Steuerung fetaler Schlafstadien

Aus der Reihenfolge der Entwicklung der einzelnen Schlaf- bzw. Verhaltensstadien, deren Länge, Fragmentierung und Qualität lassen sich Rückschlüsse auf die physiologische und pathophysiologische neuronale Entwicklung einzelner ZNS-Abschnitte ziehen.

Die Schlaf-Wachphasen unterliegen bereits im frühen Fetalalter einer komplexen Steuerung unterschiedlicher neuronaler Systeme (Pace-Schott 2002) So wird der REM-Schlaf durch die in der mesopontinen Kreuzung des Hirnstamms gelegenen cholinergen REM-ON-Neurone des Ncl. pedunculo pontinus und des Ncl. laterodorsalis tegmentalis, welche Teil der lateralen Formatio reticularis sind, initiiert. Diese Neurone synthetisieren Acetylcholin, welches als exzitatorischer Neurotransmitter auf die Projektionen im Kortex, Thalamus und posterioren Hypothalamus wirkt (Fibiger 1982). Die cholinergen Neurone und ihre Projektionen bzw. komplexen Verschaltungen sind für die Initiierung und Aufrechterhaltung des REM-Schlafes von zentraler Bedeutung (Blanco-Centurion et al. 2007, Deurveilher et al. 2001, Hobson et al. 1998).

Während dem REM-Schlaf hauptsächlich cholinerge Neurone zugrunde liegen, wird der N-REM-Schlaf durch das monoaminerge System unterhalten. Während des N-REM-Schlafs wird das den REM-Schlaf aktivierende cholinerge System durch verschiedene im Hirnstamm und Hypothalamus lokalisierte monoaminerge Neuronen inhibiert (Lu et al. 2006). Hierzu gehören der noradrenerge Locus coeruleus und der serotonerge Ncl. raphe dorsalis des Hirnstamms sowie die dopaminerge Area tegmentalis ventralis des Mesencephalons und der histaminerge Ncl. tuberomammillaris des Hypothalamus (Wada et al. 1991). Thalamische Schrittmachernuronen bestimmen in Interaktion mit kortikalen Neuronen den synchronen neuronalen Rhythmus, welcher sich als niederfrequentes und hochamplituges EEG während des REM-Schlafs darstellt (McCormick et al. 1997).

Die Umschaltung zwischen REM- und N-REM-Schlaf sowie die Schlafstadienlänge werden durch ein Zusammenspiel der cholinergen REM-ON-Zellen in der mesopontinen Kreuzung und den adrenergen bzw. serotonergen REM-OFF-Zellen, welche sich im Locus coeruleus

und in den dorsalen Raphekernen befinden, gesteuert. Diese interagieren als Gegentakt-Oszillator (Pace-Schott et al. 2002). Dabei hemmen die aminergen REM-OFF-Zellen die cholinergen REM-ON-Zellen, was zu einer Unterdrückung des REM-Schlafs und zum Auftreten von N-REM-Schlaf führt. Die Wirkung der REM-OFF-Zellen lässt durch Autoinhibition graduell nach. Positive Rückkopplungsmechanismen steigern die Aktivität der REM-ON-Zellen, welche den REM-Schlaf initiieren. Der ultardiane Gegentaktoszillator wird durch zirkadiane Oszillatoren im Ncl. suprachiasmaticus kontrolliert (Lu et al. 2000).

2.3.3 Zerebrale Effekte einer pränatalen Glukokortikoidtherapie

Glukokortikoide sind für die regelrechte Entwicklung des fetalen Gehirns notwendig (Meyer 1985, de Kloet et al. 1999, Welberg et al. 2001). Aus der Glukokortikoidtherapie zur Beschleunigung der fetalen Lungenreifung ist jedoch bekannt, dass die pränatale Verabreichung von Glukokortikoiden die neuronale Funktion und Struktur des fetalen Gehirns beeinflusst (Coe et al. 2005). Aus Art und Weise, wie synthetische Glukokortikoide auf das fetale Gehirn wirken, lassen sich Hypothesen für die Effekte von pränatalem Stress auf das fetale Gehirn ableiten.

2.3.3.1 Akute zerebrale Effekte von synthetischen Stresshormonen auf die Hirnfunktion

Pränatal verabreichte Glukokortikoide beschleunigen die funktionelle Reifung des ZNS beim Menschen (Groh 2009, Amiel-Tison et al. 2004). Unsere Arbeitsgruppe konnte in vorangegangenen Untersuchungen zeigen, dass pränatal verabreichte Glukokortikoide in der Dosierung und zu dem Zeitpunkt, wie sie klinisch zur fetalen Lungenreifung eingesetzt werden, beim Schaf innerhalb von vier Tagen nach Applikation zu einer um mehrere Wochen beschleunigten Reifung des REM-Schlaf-ECoGs, nicht aber des N-REM-ECoGs führten (Abb. 1 und 2). Zudem führte die pränatale Glukokortikoidbehandlung zu einer persistierenden Schlafstadienfragmentierung sowie zu einer Zerstörung der zirkadianen Schlafstadienrhythmik (Groh 2009). Sowohl die Schlafstadienfragmentierung als auch der Verlust der zirkadianen Rhythmik sind charakteristische ECoG-Veränderungen im Rahmen einer Depression (Tsuno et al. 2005).

Des Weiteren ist bekannt, dass die Gabe von Betamethason die neuronale Erregbarkeit des fetalen Gehirns beeinflusst. Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe mittels Magnetenzephalografie ergaben, dass pränatal appliziertes Betamethason unmittelbar die Latenzzeiten der kortikal akustisch evozierten Potenziale beim menschlichen Fetus verzögern

(Schleussner et al. 2004). Ferner konnte unsere Arbeitsgruppe am Schafmodell zeigen, dass die Komplexität des ECoG-Signals als Zeichen einer verringerten zerebralen Aktivität 24 h nach pränataler Bethamethasongabe abnimmt (Schwab et al. 2001).

Mulder et al. konnte nachweisen, dass die pränatale Gabe von synthetischen Glukokortikoiden beim Menschen Änderungen im fetalen Verhalten bewirkt, welche wahrscheinlich durch eine Störung der Hirnstammaktivität verursacht werden (Mulder et al. 1997, Mulder et al. 2004, Mulder et al. 2009). Ebenso lässt die Funktionsänderung des autonomen Nervensystems in diesem Zusammenhang auf eine Änderung der Hirnstammaktivität schließen (Multon et al. 1997, Frusca et al. 2001, Rotmensch et al. 2005).

Ferner haben Glukokortikoide akute Auswirkungen auf wesentliche Hirnstoffwechselaktivitäten. So hemmt z. B. Betamethason in klinischer Dosierung die Atmungskettenaktivität in den Mitochondrien (Schwab et al. 2006a).

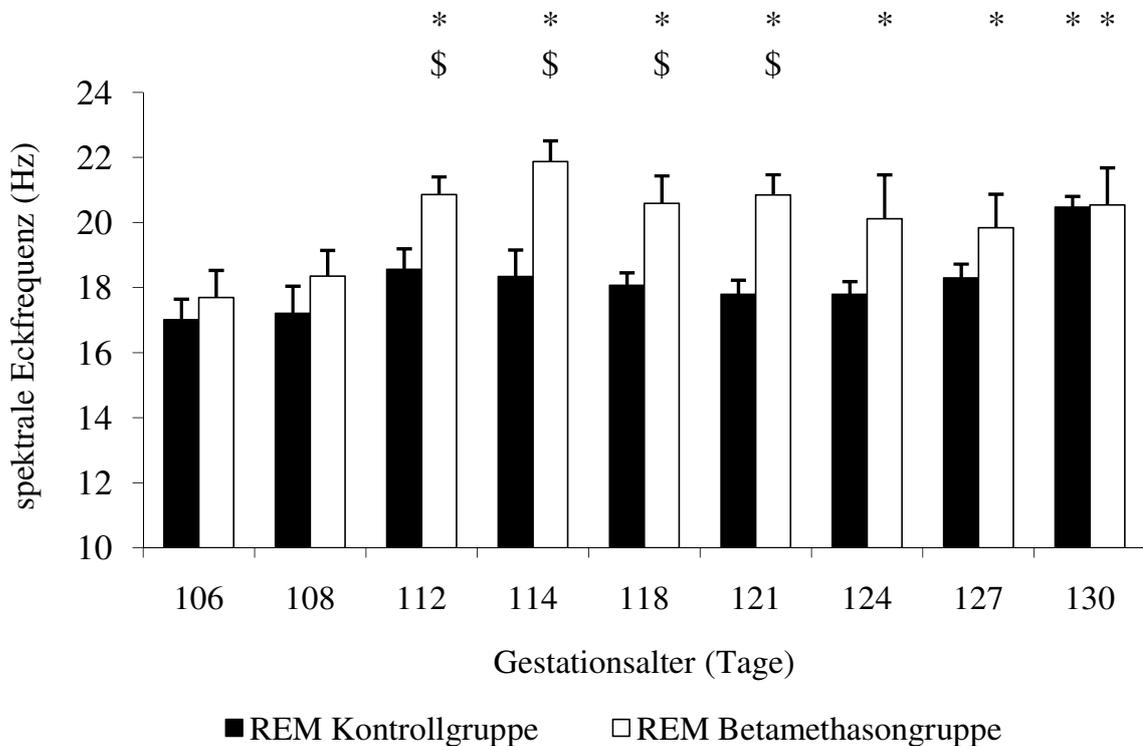


Abb. 1: Die Entwicklung der spektralen Eckfrequenz des ECoGs im REM-Schlaf-ECoG zwischen dem 106. und 130. Gestationstag in Abhängigkeit von einer Betamethasongabe am 107. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0,05$ im Vergleich zum 106. Gestationstag; \$ $p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe; $n = 7$

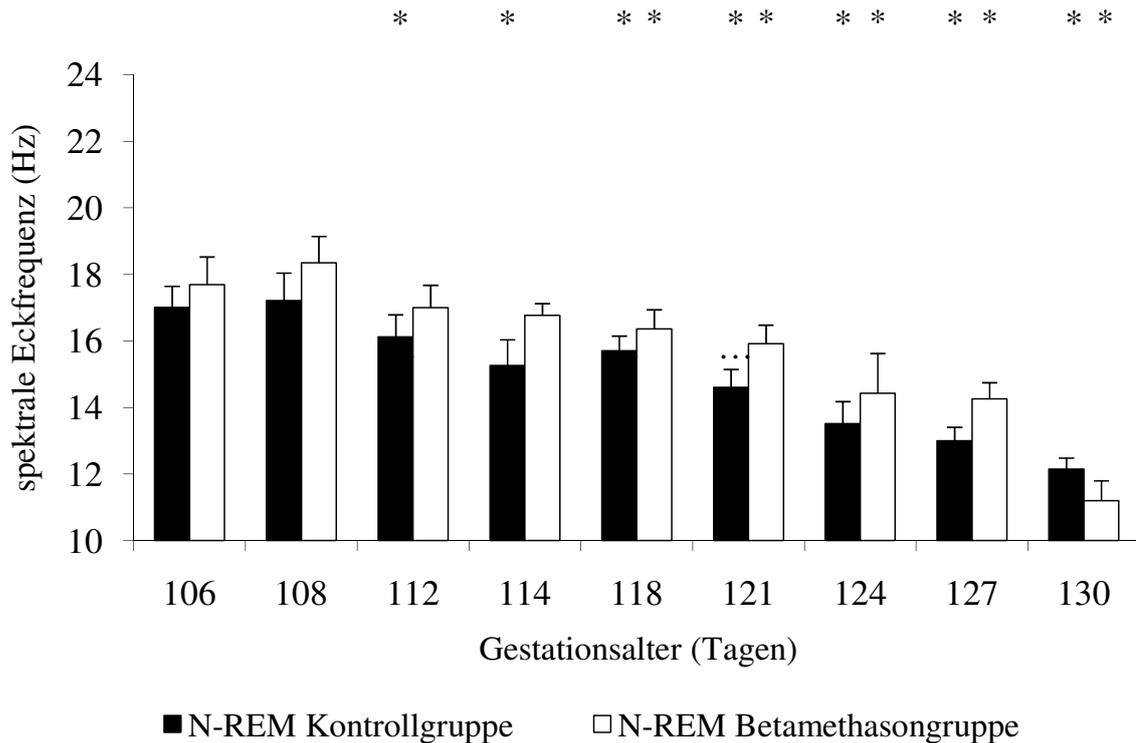


Abb. 2: Die Entwicklung der spektralen Eckfrequenz des ECoGs im N-REM-Schlaf-ECoG zwischen dem 106. und 130. Gestationstag in Abhängigkeit von einer Betamethasongabe am 107. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0,05$ im Vergleich zum 106. Gestationstag; $n = 7$

2.3.3.2 Akute zerebrale Effekte von synthetischen Stresshormonen auf die Hirnstruktur

Durch eine Vielzahl von klinischen und tierexperimentellen Studien ist gesichert, dass die antenatale Glukokortikoidgabe Einfluss auf die Struktur und Morphologie des fetalen Gehirns hat. Zwar reift das fetale Gehirn nach einer pränatalen Glukokortikoidtherapie schneller als bei vergleichbaren, nicht behandelten Feten (Amiel-Tison et al. 2004, Groh 2009) - dies geschieht jedoch auf Kosten einer verminderten neuronalen Proliferation. So ist bei z. B. bei pränatal mit Glukokortikoiden behandelten Feten das Geburtsgewicht vermindert und der Kopfumfang verringert (Huang et al. 1999, Aghajafari et al. 2002, French et al. 1999), ebenso ist das Hirnwachstum betroffen (Modi et al. 2001, Murphy et al. 2001).

Bereits die einmalige pränatale Gabe von Glukokortikoiden in klinischer Dosierung reicht aus, um die neuronale Dichte im Hippocampus bei nicht-menschlichen Primaten zu verringern (Uno et al. 1990). Die pränatale Applikation von Betamethason in klinisch ver-

wendeter Dosis im letzten Drittel der Schwangerschaft führt bei nicht-menschlichen Primaten zu einer Verringerung der Dichte von Mikrotubulus-assoziierten Proteinen (MAPs) (Antonow-Schlorke et al. 2003), welche wesentlich für die Synaptogenese und die Stabilisierung des neuronalen Netzwerkes sind (Übersicht in Halpain et al. 2006 und Dehmelt et al. 2005). Diese Veränderungen treten unabhängig vom Gestationsalter auf (Antonow-Schlorke et al. 2007).

2.3.3.3 Chronische zerebrale Effekte von synthetischen Stresshormonen

Bisher existieren nur wenige Studien, die die chronische Wirkung einer pränatalen Glukokortikoidtherapie untersuchen - mit zum Teil widersprüchlichen Ergebnissen. Die chronische Wirkung scheint aber im Wesentlichen von der Anzahl der pränatalen Glukokortikoidinjektion und vom Applikationszeitpunkt abhängig zu sein. Die einmalige Gabe von Betamethason beim Menschen zeigte in verschiedenen Nachbeobachtungsstudien, in welcher der längste Nachbeobachtungszeitraum bis ins Alter von 32 Jahren reicht, keine Einflüsse einer pränatalen Glukokortikoidtherapie auf das Wachstum, das Verhalten und/oder die psychische Kondition der Nachkommen (Collaborative Group on Antenatal Steroid Therapy, 1984, Dalziel et al. 2005, Dessens et al., 2000). Eine einzelne Studie an 139 Kindern konnte subtile kognitive Störungen im Alter von sechs Jahren nach pränataler Betamethasongabe nachweisen (MacArthur et al. 1982). Die mehrmalige pränatale Gabe von Betamethason führte hingegen in einer nicht-randomisierten Studie an 541 Kindern im Alter von drei bis sechs Jahren zu psychischen Verhaltensauffälligkeiten (French et al. 2004).

2.3.3.4 Programmierung der fetalen HHN-Achse

Die pränatale Glukokortikoidtherapie führt zu einer Änderung der Funktion der fetalen HHN-Achse. Die Regulation der HHN-Achse erfolgt über einen direkten negativen Feedbackmechanismus (Chrousos 1998). Werden die in diesen Mechanismus eingebundenen Glukokortikoidrezeptoren im letzten Trimenon, während des Zeitraums in dem die fetale HHN-Achse reift, erhöhten Glukokortikoidspiegeln ausgesetzt, so kommt es zu einer permanenten Desensitivierung dieser Rezeptoren im Sinne einer Sollwertverstellung. Diese Sollwertverstellung, welche durch eine Änderung der Genexpression der Glukokortikoidrezeptoren über DNS-Methylierung funktioniert (Meaney et al. 2007), führt im späteren Leben zu einer verminderten negativen Rückkopplung und somit zu einer permanenten Hyperaktivität der HHN-Achse. Dieser Effekt kann sowohl durch pränatalen Stress als

auch durch eine pränatale Glukokortikoidgabe bei verschiedenen Spezies ausgelöst werden (Welberg et al. 2001, McMillen et al. 2005, Huizink et al. 2004, Sloboda et al. 2005, Weinstock 2008). In der Ätiologie der Depression spielt eine fehlregulierte und hyperaktive Stressachse eine entscheidende Rolle (Antonijevic 2008).

2.3.4 Zerebrale Effekte von pränatalem Stress und Einfluss unterschiedlicher Expositionszeitpunkte

Im Gegensatz zu den Auswirkungen von pränatal verabreichten, synthetischen Glukokortikoiden auf das ZNS sind die Auswirkungen von pränatalem Stress auf das Gehirn wenig untersucht.

Gesichert ist, dass pränataler Stress zu einer Veränderung der fetalen Verhaltensstadien führt (van den Bergh et al. 2005). In vier Studien an insgesamt 204 Schwangeren konnte nachgewiesen werden, dass pränataler Stress zu Beginn der Schwangerschaft eine Hyperaktivität des Fetus im dritten Trimenon verursacht (Tenenbaum et al. 1985). Diese Hyperaktivität äußerte sich vor allem in einer gesteigerten Herzfrequenzvariabilität, einem Anstieg der Bewegungen während des REM-Schlafs und der aktiven Wachphase sowie einer Abnahme der Zeit, den der Fetus im 1F-Stadium verbrachte (van den Bergh et al. 1989, Sjostrom et al. 2002, Mulder et al. 2002). Weitere Studien konnten eine Hyperaktivität bereits ab der 24. SSW nachweisen (DiPietro et al. 1999, DiPietro et al. 2002). Akuter Stress während des frühen zweiten Trimenons hatte hingegen keinen akuten Effekt auf die fetalen Verhaltensstadien (Mulder et al. 2002, Bartha et al. 2003, Niederhofer et al. 2004).

Der Zeitpunkt der Stresserfahrung während der Schwangerschaft hat eine wesentliche Bedeutung für die Effekte von pränatalem Stress bzw. pränatalen Glukokortikoiden. Einige Effekte können nur nachgewiesen werden, wenn der Stress während einer bestimmten Zeitperiode appliziert wurde. So erhöht pränataler Stress z. B. das Risiko der Nachkommen an Schizophrenie zu erkranken nur, wenn der Stress während der Frühschwangerschaft erlebt wurde (Khashan et al. 2008, Malaspina et al. 2008). Ebenso scheint die Intensität der ADHS-Symptomatik bei Kindern am größten zu sein, wenn pränataler Stress während des ersten Trimenons gewirkt hat (Rodriguez et al. 2005b). Laplante et al. konnten einen Zusammenhang zwischen den intellektuellen Fähigkeiten von Zweijährigen und pränatalem Stress der Mütter nur nachweisen, wenn dieser Stress während der ersten sechs Monate der Schwangerschaft erfahren wurde (Laplante et al. 2004). Huizink et al. fanden hingegen einen Zusammenhang zwischen einem erhöhten maternalen Kortisolspiegel wäh-

rend des dritten Trimenons und einer verminderten kognitiven Leistung bei drei Monate alten Säuglingen und einer verminderten motorischen Leistung bei drei und acht Monate alten Säuglingen (Huizink et al. 2003).

Es gibt bisher nur wenige tierexperimentelle Studien, die Stress während der Frühschwangerschaft mit Stress während der Spätschwangerschaft vergleichen. Diesen Studien ist allerdings gemeinsam, dass sich die Auswirkungen desselben Stressors zu unterschiedlichen Zeitpunkten teils erheblich unterscheiden (Hauser et al. 2007, Kranendonk et al. 2006, Woods et al. 2005). Dabei verursachte Stress in der Frühschwangerschaft stärkere kognitive und verhaltensbezogene Probleme als Stress gegen Ende der Schwangerschaft (Mueller et al. 2008, Schneider et al. 1999), auch wenn einzelne Studien keine zeitlichen Effekte von pränatalem Stress nachweisen konnten (Coe et al. 2003). Ein moderater Glukokortikoidanstieg während der Endphase der Schwangerschaft bzw. in der frühen Postnatalperiode scheint zum Teil günstige Einflüsse auf die Entwicklung des ZNS zu haben (Davis et al. 2010, Catalani et al. 2002, Scaccianoce et al. 2001).

Obwohl gesichert ist, dass pränataler Stress mit einer umfangreichen Anzahl von neuropsychologischen Störungen beim Menschen assoziiert ist und die Ergebnisse aus der Erforschung der zerebralen Nebenwirkungen einer antenatalen Glukokortikoidtherapie in die gleiche Richtung zeigen, sind bisher nur wenige experimentelle Studien vorhanden, die die Auswirkungen von pränatalem Stress auf die fetale zerebrale Entwicklung untersuchen.

3 Ziele der Arbeit

Das Ziel der Untersuchungen der vorliegenden Arbeit war es, nachzuweisen, dass pränataler Stress analog zur pränatalen Glukokortikoidgabe erstens die fetale funktionelle Hirnreifung fördert, welche zweitens mit einer Fragmentierung der fetalen Schlafstadien vergesellschaftet ist, wie es bei depressiven Patienten beobachtet werden kann.

Es gibt Hinweise, dass sich pränataler Stress während unterschiedlichen Zeitfenstern auf die neuropsychologische Entwicklung des Fetus auswirkt. Diese Auswirkungen gipfeln in Erkrankungen wie Schizophrenie, Depressionen, ADHS sowie in einer verminderten kognitiven Leistung. Die derzeit verfügbaren Studien konzentrieren sich dabei hauptsächlich auf den epidemiologischen Nachweis des Zusammenhangs von pränatalem Stress und den eben erwähnten Störungen. Dabei wurde pränataler Stress größtenteils ohne Berücksichtigung der physiologischen Stressantwort durch subjektiv-individuelle Messverfahren bestimmt.

Tierexperimentelle Untersuchungen, welche die Auswirkungen von pränatalem Stress im Verlauf der Schwangerschaft direkt am fetalen Gehirn untersuchen, sind noch nicht durchgeführt worden. Dabei sind diese tierexperimentellen Untersuchungen Voraussetzung, um die Auswirkung und den Mechanismus des pränatalen Stresses zu verstehen und um darauf aufbauend wissenschaftlich fundierte, primärpräventive Maßnahmen zu entwickeln.

Wesentliche Erkenntnisse der Wirkung von Glukokortikoiden auf das fetale Gehirn konnten aus der Analyse der pränatalen Glukokortikoidtherapie zur fetalen Lungenreifung gewonnen werden. Unsere Arbeitsgruppe konnte in vorhergehenden Untersuchungen zeigen, dass die einmalige pränatale Gabe von synthetischen Glukokortikoiden in der zur fetalen Lungenreifung klinisch angewendeten Dosierung und zum klinisch relevanten Zeitpunkt, nämlich zu Beginn des dritten Trimenons, beim fetalen Schaf die funktionelle Hirnreifung beschleunigt. Die funktionelle Hirnreifung betraf vor allem das cholinerge Neuronensystem, welches dem REM-Schlaf zugrunde liegt (Groh 2009).

Wir konnten ebenfalls zeigen, dass diese beschleunigte Reifung mit einer funktionellen Änderung, nämlich einer Schlafstadienfragmentierung wie sie bei Depressionen gefunden wird, einhergeht (Groh 2009).

Unbekannt ist, ob auch pränataler Stress die Hirnreifung in der Form, wie wir sie nach einer pränatalen Glukokortikoidgabe beobachten konnten, beschleunigt und ob diese frühere Reifung analog zur pränatalen Glukokortikoidgabe ebenfalls zu einer Schlafstadienfragmentierung führt.

Wir überprüften daher durch unsere Untersuchungen folgende Hypothesen:

1. Pränataler Stress während des ersten und zweiten Trimenons führt – analog zur einmaligen pränatalen Glukokortikoidgabe im dritten Trimenon - zu einer beschleunigten funktionellen Hirnreifung, die anhand der Schlafstadienentwicklung zu beobachten ist.
2. Pränataler Stress während des ersten und zweiten Trimenons führt – analog zur einmaligen pränatalen Glukokortikoidgabe im dritten Trimenon - zu einer Störung der Hirnfunktion des fetalen Gehirns, die anhand einer Schlafstadienfragmentierung zu beobachten ist.

Für unsere Untersuchungen ist das Schaf besonders geeignet, da die Hirnreifung und im speziellen die Reifung der Schlafstadien des fetalen Schafes in großen Teilen mit der des Menschen vergleichbar ist. Zum anderen handelt es sich bei Schafen um eine soziale Spezies, welche durch Isolation unter standardisierten Bedingungen über einen langen Zeitraum der Schwangerschaft mit einer vertretbaren Adaptation gestresst werden kann. Die Größe und Robustheit der Tiere erlaubt zudem die intrauterine ECoG-Ableitung.

Da bereits bekannt ist, dass die den Schlafstadien zugrunde liegenden neuronalen Systeme zu Beginn des dritten Trimenons auf eine Behandlung mit Glukokortikoiden reagieren und noch unbekannt ist, ob auch andere vulnerable Zeitfenster während der Schwangerschaft existieren, wählten wir im Rahmen dieser Arbeit als Zeitspanne der Stressung das erste und zweite Trimenon.

4 Methodik

4.1 Experimentelles Protokoll

4.1.1 Überblick

Alle dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente wurden am Tiermodell des chronisch instrumentierten fetalen Schafes durchgeführt, nachdem die Genehmigungen der Tier-schutzkommission des Landes Thüringen und des Cornell University Animal Use and Care Committees vorlagen. Als Versuchstiere wurden Tiere der Schafrasse Merino-Schwarzkopf und Merino-Langhaar bzw. deren amerikanischer Entsprechung Rambouillet-Colombia verwendet. Die chronische Stressung der Schafe fand im Friedrich-Löffler-Institut in Jena sowie im Institut für Tierversuchskunde der Friedrich-Schiller-Universität in Jena statt. Die terminierte Verpaarung, Instrumentierung und Datengewinnung wurden hauptsächlich durch und im Institut für Tierversuchskunde der Friedrich-Schiller-Universität in Jena (Versuchs- und Kontrollgruppe) sowie zu einem geringeren Teil im Dept. of Biomedical Sciences, Laboratory for Pregnancy and Newborn Research, Cornell University, Ithaca, New York, USA (Kontrollgruppe) durchgeführt.

Unsere Arbeitsgruppe kann auf eine mehrjährige Erfahrung im Umgang mit diesem Modell, an dem bereits im Jahr 1972 die pränatale Glukokortikoidtherapie zur Förderung der fetalen Lungenreifung entwickelt wurde, zurückblicken.

Der Versuchsablauf gliedert sich in zwei Phasen. Während der ersten Phase wurde der Zyklus der nicht-trächtigen Mutterschafe durch eine hormonelle Behandlung synchronisiert und die synchronisierten Muttertiere anschließend terminiert verpaart. Die trächtigen Muttertiere wurden dann vom 30.–100. Gestationstag (0.2 - 0.66 Gestation) chronischem Stress durch soziale Isolation ausgesetzt und ab dem 105. Gestationstag chirurgisch instrumentiert. Die zweite Phase diente der Datengewinnung. Es wurde das fetale ECoG sowie weitere physiologische Parameter am nichtsedierten Fetus intrauterin abgeleitet und anschließend ausgewertet.

Der zeitliche Ablauf ist in der Abb. 3 im Überblick dargestellt.

Für die terminierte Verpaarung und die Stressphase wurden zwei Personen benötigt. Für die Instrumentierung standen zwei sterile Operateure sowie ein steriler und ein unsteriler Assistent zur Verfügung. Die anschließende Datenerhebung sowie die Durchführung weiterer Experimente (Ergebnisse nicht Teil dieser Arbeit) erforderte die Anwesenheit von

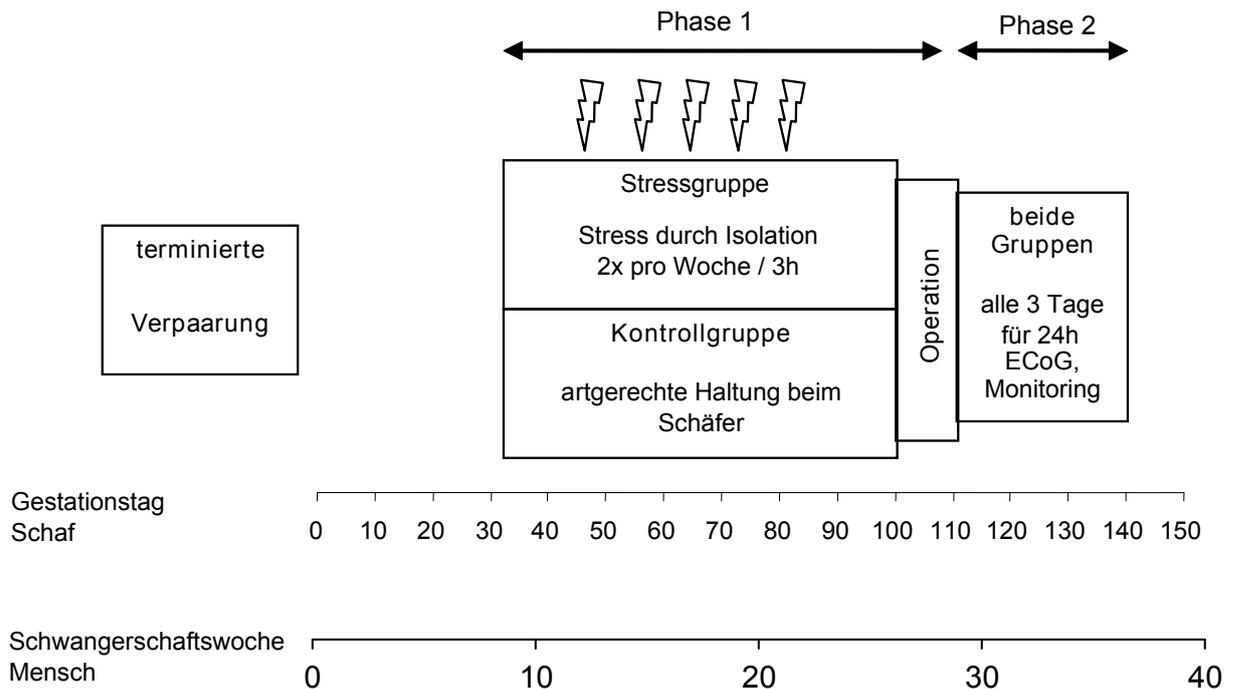


Abb. 3: Experimentelles Protokoll

zwei Personen. Für die Dauer der Experimente stand stets ein Tierarzt zur Überwachung und Versorgung der Tiere zur Verfügung.

Mir oblag in weiten Teilen die Verantwortung für die terminierte Verpaarung, die chronische Stressung, die Durchführung der Experimente sowie die Datenauswertung und Interpretation.

4.1.2 Gruppeneinteilung

Aufgrund der invasiven Maßnahmen am Fetus, der geplanten Dauer der Ableitungen und den zu erwartenden Ausfällen wurden zwei Versuchstiergruppen gebildet. Bei den Tieren der Gruppe 1 ($n = 7$) wurden vom 110.–119. Gestationstag und bei den Tieren der Gruppe 2 ($n = 7$) vom 119.–135. Gestationstag Daten mittels ECoG-Ableitung erhoben. Die Zuordnung zu den jeweiligen Gruppen erfolgte randomisiert. Es wurden insgesamt sieben Ableitungszeitpunkte definiert (110., 113., 119., 122., 128., 131., 135. Gestationstag) zu denen die Datenerhebung und Datenanalyse durchgeführt wurden. Aufgrund einer begrenzten Anzahl an Versuchsplätzen und der daraus resultierenden Rotation der Versuchstiere, sind die angegebenen Gestationszeitpunkte im weiteren Verlauf der Arbeit jeweils ± 1 Gestationstag genau.

4.1.3 Versuchsablauf

4.1.3.1 Phase 1: chronische Stressung der Muttertiere und chirurgische Instrumentierung der Feten

Die Versuchstiere wurden zur Gewährleistung eines exakt bekannten Gestationsalters terminiert verpaart. Hierzu wurden die nicht-trächtigen Mutterschafe hormonell vorbehandelt und anschließend durch unterschiedliche Böcke gedeckt. Durch Messung der Progesteronwerte am 18. Gestationstag wurde zwischen trächtigen und nicht-trächtigen Tieren unterschieden.

Die Versuchstiere wurden ab dem 25. Gestationstag vom Freiland in das Versuchslabor transportiert und unter standardisierten Bedingungen (12 h Licht, 12 h Dunkelheit, 20 °C Raumtemperatur) bei freiem Zugang zu Futter und Wasser gehalten. Jedes Tier wurde zwischen dem 30. und dem 100. Gestationstag pro Woche zweimal in standardisierten Laboren isoliert. Die Einzelisolation erfolgte außer Sicht- und Hörweite eines anderen Versuchstiers. Die verwendeten Labore waren hell beleuchtet, ca. 5 qm groß, temperiert (18 °C) und mit einem Wasserspender ausgestattet. Die Tiere hatten während der Stressung keinen Zugang zu Nahrung. Es wurden jeweils 20 Isolationen pro Tier durchgeführt. Die Isolationsdauer betrug drei Stunden. Durch die Rotation der Versuchszeit sowie der Versuchslabore wurde sichergestellt, dass sich kein Tier an eine bestimmte Stresszeit, einen bestimmten Stresstag oder an ein bestimmtes Labor adaptieren konnte.

Zur Erfolgskontrolle der Stressung wurden zu fünf verschiedenen Gestationstagen die maternalen Kortisolwerte (nmol/l) im Serum bestimmt. Weiterhin wurde ein sogenannter integrierter Kortisolspiegel (nmol*min/l) als Fläche unter den so entstandenen Kurven über die 180 Minuten Isolationsdauer pro untersuchtem Termin/Gestationstag berechnet.

Die Zeitspanne der Stressung entspricht beim Schaf 0.2 und 0.66 der Gestation bei einer Gestationsdauer von 146 Tagen. Beim Menschen entspricht dies einer Stressung zwischen der 8. SSW und 26. SSW bei einer Gestationsdauer von 267 Tagen.

Sämtliche Tiere wurden vor der Instrumentierung mindestens fünf Tage zur Akklimatisation bei Futter ad libitum und standardisiertem Hell-Dunkel-Rhythmus (10 h Licht von 8.00 -18.00 Uhr) in den Laborräumen eingestallt. Nach 24 h Nahrungskarenz wurden die Tiere mit 1 g Ketamin (Ketaflo, Abbott, USA bzw. Ketamin 10, Atarost, Deutschland) i.m. prämediziert. Die chirurgische Instrumentierung erfolgte grundsätzlich zwei Tage vor der Datenerhebung unter Intubationsnarkose mit 1,5 % Isofluran und 100 % Sauerstoff.

Zunächst wurde dem Muttertier zur Blutprobengewinnung und postoperativen Schmerz- und Infektionsprophylaxe die linke V. jugularis externa katheretisiert (Polyvenyl-Katheter, Tygon, Norton Performance Plastic, USA bzw. Rüscheleit, Rüsche, Deutschland). Zur Instrumentierung des Fetus wurde das maternale Abdomen medial eröffnet und ein Uterusschnitt durchgeführt. Der Fetus wurde schonend bis zu den oberen Extremitäten entwickelt. Zur arteriellen Blutdruckmessung sowie zur Blutprobenentnahme implantierten wir dem Fetus durch die linke A. carotis com. einen Polyvenylkatheter in der linken Aorta ascendens. Zur Medikamentenapplikation im Rahmen einer weiteren Studie wurden ferner über die linke V. jugularis externa ein weiterer Katheter in der V. cava anterior (entspricht der humanen V. cava superior) implantiert. Zur Korrektur des hydrostatischen Druckes im Rahmen der fetalen Blutdruckmessung sowie postoperativen Antibiotikaapplikation platzierten wir einen weiteren Katheter in der Amnionhöhle.

Zur kontinuierlichen ECoG-Ableitung implantierten wir insgesamt fünf Elektroden (Cooner Wire, Cathsworth, USA bzw. LIFY, Metrofunk Kabel-Union, Deutschland) in die fetale Kalotte - jeweils zwei Elektroden biparietal und zwei weitere bitemporal, ca. 10 mm in jeder Richtung vom Bregma entfernt. Eine weitere Elektrode wurde zentral in das Os frontale, ca. 2 mm vom Bregma entfernt implantiert. Die Elektroden wurden mittels Messingschraubchen sowie einem Kaltpolymerisat (Kallocryl, Laborchemie Glockenstadt Apolda, Deutschland) fixiert und isoliert (schematische Darstellung in Abb. 4).

Zur Aufzeichnung von Uteruskontraktionen wurden zwei Drahtelektroden in die Uterusmuskulatur eingenäht. Zur kontinuierlichen Ableitung des fetalen EKGs wurden drei Drahtelektroden in die Brustwandmuskulatur eingenäht. Zur Differenzierung der Schlafstadien wurden supra- und infraorbital jeweils eine Elektrode in das Os zygomaticum sowie das Os frontale eingebracht und mittels Messingschraubchen sowie dem o. g. Kaltpolymerisat fixiert und isoliert. Zur Ableitung des EMGs wurden zwei Elektroden in die tiefe Nackenmuskulatur eingenäht. Der Fetus wurde anschließend in den Uterus zurückgelegt und dieser verschlossen. Sämtliche Katheter und Elektroden wurden durch eine Inzision in der Flanke des Mutterschafes nach außen geführt (Abb. 4).

Postoperativ wurden alle Katheter direkt an eine Infusionspumpe angeschlossen und während der gesamten Versuchsdauer mit heparinierter Kochsalzlösung gespült (Infusionsrate 0,7 ml/h bei 15 IU pro ml, Heparin Natrium 25000, Ratiopharm, Deutschland). Des Weiteren erhielt jedes Muttertier zur Infektionsprophylaxe präoperativ 1 g Ampicillin (Ampicillin, Ratiopharm, Deutschland bzw. AMP-Equine; SmithKline Beecham, West Chester, PA, USA) i. m. und postoperativ für drei Tage zweimal täglich jeweils 0,5 g Ampicillin i. v. sowie in die Amnionhöhle. Zur Analgesie applizierten wir 2 x 1 g Phenylbutazon

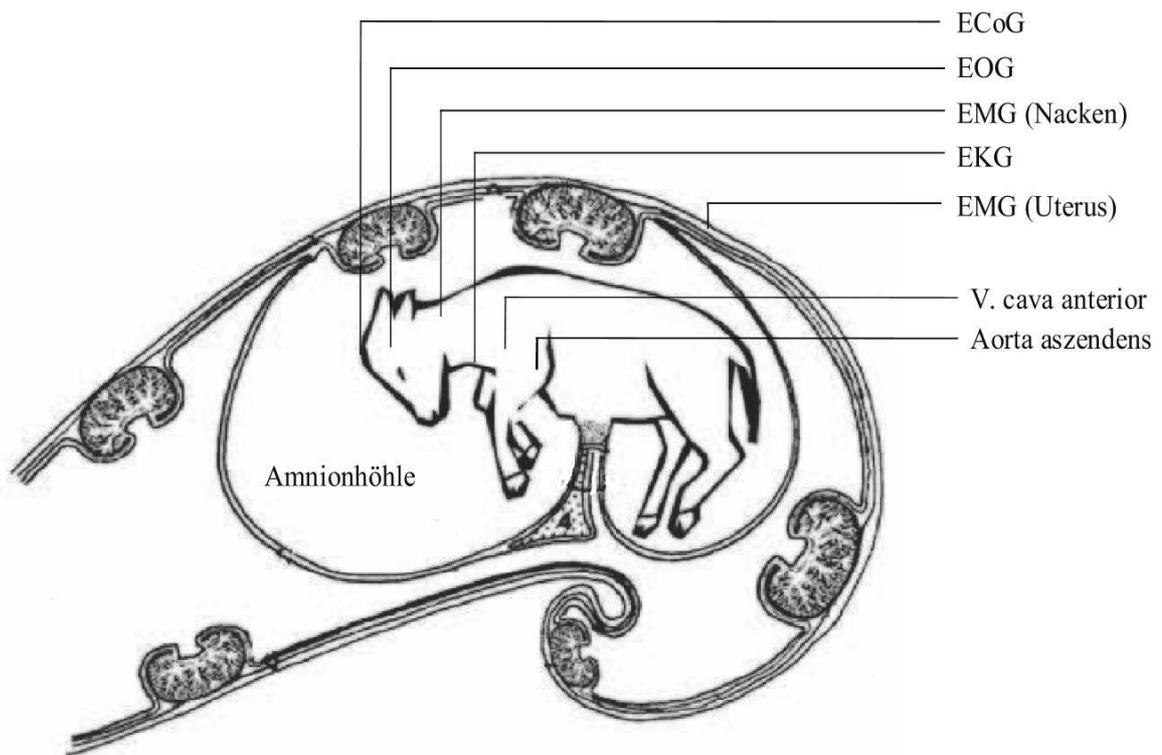


Abb. 4: Der instrumentierte Schaffetus in utero mit Kathetern in der Amnionhöhle, der V. cava anterior und der Aorta ascendens sowie ECoG-Elektroden in der Schädelkalotte, EOG-Elektroden supra-/infraorbital, EMG-Elektroden in der Uteruswand sowie im fetalen Nacken und EKG-Elektroden in der supraskapulären Muskulatur; modifiziert nach Rüsse und Sinowatz 1991

oral (Equiphene paste, Luitpold Pharmaceuticals, USA) bzw. 2 x 150mg Phenylbutazon (Phenylbutazon cp-pharma, Deutschland) i. m. über zwei Tage. Am Operationstag applizierten wir zusätzlich 2 x 2000 mg Metamizol (Arthropur, Atarost, Deutschland) i. v..

4.1.3.2 Phase 2: Datenerhebung

Nach der chronischen Instrumentierung der Schaffeten wurde am zweiten postoperativen Tag mit der Ableitung des fetalen ECoGs und der Aufzeichnung von Herzfrequenz, Blutdruck, Amniondruck, Nacken-EMG, ECoG und Uteruskontraktionen begonnen. Die Signale wurden verstärkt (Verstärker Modelle 5900 und 6600, Gould Instruments, Gould, USA), durch einen Hardwarefilter gefiltert (Bandbreiten für ECoG 0,3–100 Hz, EKG: 30–300 Hz) und anschließend über einen A/D-Wandler (DT2801F, Data Translation, USA, bzw. DI-400-PGH, DATAQ Instruments, USA) digitalisiert und mittels des Mess-

programms WINDAQ (DATAQ Instruments, Inc, USA) kontinuierlich auf einem Rechner aufgezeichnet. Aufgrund der begrenzten Anzahl von Messplätzen und der langen Aufzeichnungsdauer wurden die Tiere in einem Rotationsverfahren für 24 h an den Messplatz angeschlossen. Um den fetalen Gesundheitszustand zu kontrollieren, wurden alle Tiere während der gesamten Monitoringphase einer täglichen Blutgasuntersuchung unterzogen. Mittels eines Blutgasanalysators (ABL 600, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) wurden pO_2 , pCO_2 , O_2 -Sättigung und pH-Wert bestimmt. Alle Tiere wurden ausreichend mit Wasser und Nahrung versorgt. Ein natürlicher Hell-Dunkel-Rhythmus wurde durch ein automatisiertes Lichtsystem mit einer Lichtphase von 8 bis 18 Uhr und einer Dunkelphase von 18 bis 8 Uhr erreicht.

An allen Versuchstieren wurden im Abstand von fünf Tagen weitere Untersuchungen zur Messung der Reifung des autonomen Nervensystems mittels Phenylephrin zur Blutdruckerhöhung und Natriumnitroprussid zur Blutdrucksenkung durchgeführt. Die Ergebnisse sind nicht Gegenstand dieser Arbeit.

4.2 Analyse des Elektrokortikogramms

4.2.1 Lineare Leistungsspektralanalyse des ECoGs

Zur Spektralanalyse des ECoG-Signals wurde die Software ATISA für WINDOWS (Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Deutschland) verwendet. Die Spektralanalyse mittels Fast-Fourier-Transformation (FFT) ist die Standardmethode zur Qualifizierung der im ECoG-Signal hauptsächlich enthaltenden Frequenzen und dient der Beschreibung der hirnelektrischen Aktivität. Die zuvor mithilfe einer Voranalyse ausgewählten 10-minütigen ECoG-Abschnitte wurden automatisch in 150 sich nicht überlappende Abschnitte von 4 Sekunden Länge geteilt und mittels FFT analysiert. Dabei wurden die absolute und relative Bandleistung sowie die Bandedeckfrequenz für die Frequenzbänder der Gesamtleistung (1,5–30 Hz), des Deltabands (1,5–4 Hz), des Thetabands (4–8 Hz), des Alphabands (8–13 Hz) sowie des Betabands (13–30 Hz) bestimmt. Die Eckfrequenz gilt als sensitiver Parameter der Reifungsanalyse des fetalen ECoGs und wird als die Frequenz definiert, unterhalb der sich 95 % der spektralen Leistung befindet (Szeto 1990).

4.2.2 Nicht-lineare Analyse des ECoGs

Zur Beurteilung des ECoG-Signals kam neben der linearen Spektralanalyse ein innovatives nicht-lineares Analyseverfahren zum Einsatz, welches von Frau Dr. Schwab (Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation, Friedrich-Schiller-Universität Jena) entwickelt wurde (Schwab K. et al. 2009). Dieses Analyseverfahren schätzt über einen sogenannten Punktvorhersagefehler die theoretische Vorhersagbarkeit eines Signals und ist damit ein Maß für die nicht-lineare Stabilität des zu untersuchenden Prozesses. Dieses nicht-lineare Maß konnte z. B. erfolgreich zur Analyse des fetalen ECoGs während unbeeinflusster Schlafstadien bzw. während vibroakustischer Stimulationen (Schwab et al. 2001) aber auch zur Analyse von im Frühstadium auftretender unreifer REM-/N-REM-Schlafmuster im fetalen ECoG (Schwab et al. 2006b) eingesetzt werden und erwies sich dort als sensitiver als die lineare Spektralanalyse (Eckfrequenz).

Das menschliche ECoG ist ein hoch-komplexes und zumeist instationäres Signal. Lineare Methoden wie die Spektralanalyse werden zwar oft zur Quantifizierung des ECoGs herangezogen, sind jedoch nicht in der Lage, die häufig sehr komplexen Prozesse, die während neuronaler Aktivitäten im menschlichen Gehirn ablaufen, zu quantifizieren. Durch eine nicht-lineare ECoG-Analyse wird im Allgemeinen die hochkomplexe Informationsverarbeitung des Gehirns wesentlich besser widerspiegelt als durch eine reine lineare Analyse (Übersichtsartikel in Stam 2005 und Thakor et al. 2004). Die Quantifizierung der nichtlinearen Stabilität ist ein mögliches Maß zur Beschreibung von Signaländerungen im Zeitverlauf. Ein hoher Punktvorhersagefehler steht dabei für eine weniger stabile und damit komplexere, ein niedriger Punktvorhersagefehler für eine stabilere und damit weniger komplexe ECoG-Aktivität.

Die Basis des Algorithmus zur Schätzung des Punktvorhersagefehlers ist der Wolf-Algorithmus, welcher der Schätzung des führenden Lyapunov-Exponenten dient. Ausgangspunkt der Betrachtungen ist eine ein-dimensionale Zeitreihe der Länge N :

$$\{x(t_i)\}_{i=1,\dots,N} \quad (1)$$

Nach Takens (Takens et al. 1981) ist es möglich, eine solche Zeitreihe mithilfe eines Verzögerungsparameters τ in einen multidimensionalen Raum zu überführen:

$$V(t_i) = \{x(t_i), x(t_i + \tau), \dots, x(t_i + (D_\varepsilon - 1)\tau)\} \quad (2)$$

wobei $i = 1, \dots, N - (D_\varepsilon - 1)\tau$ gilt. Weiterhin bezeichnet τ die Zeitverzögerung, D_ε die Einbettungsdimension, $\{x(t_i)\}_{i=1,\dots,N}$ die gemessene Zeitreihe und $V(t_i) = \{x(t_i), x(t_i + \tau), \dots, x(t_i + (D_\varepsilon - 1)\tau)\}$ die Trajektorie im Phasenraum.

Beginnend mit einem beliebigen Punkt $V(t_i)$ auf einer Trajektorie V wird nach dem (im euklidischen Sinne) nächsten Nachbarn im Phasenraum gesucht. Die Entfernung dieses Punktes zum Ausgangspunkt sei $D(t_i)$. Nach einer spezifischen Entwicklungszeit k ist die Entfernung der untersuchten Punkte im Phasenraum $D'(t_i + k)$. Diese Prozedur wird für jeden beliebigen Punkt $V(t_i)$ im Phasenraum wiederholt. Die einzelnen Vorhersagefehler PVF_i für jeden Zeitpunkt i können entsprechend folgender Formel berechnet werden ($i = 1, \dots, N - (D_e - 1)\tau - k$):

$$PVF_i = \frac{f}{k} \log_2 \frac{D'(t_i+k)}{D(t_i)} \quad (3)$$

Dabei bezeichnet t_i den aktuellen Zeitpunkt, $D(t_i)$ den kleinsten euklidischen Abstand zum Zeitpunkt t_i , $D'(t_i + k)$ den entwickelten Abstand zum Zeitpunkt $t_i + k$, k die Entwicklungsschritte, f die Abtastrate und PVF_i die einzelnen geschätzten Vorhersagefehler. Die logarithmische Beziehung (3) drückt den Grad der Abhängigkeit des Verlaufes der untersuchten Punkte von den Initialbedingungen aus und ist ein Maß für die lokale exponentielle Divergenz bzw. Konvergenz benachbarter Trajektorien im Phasenraum. Die lokale exponentielle Divergenz bzw. Konvergenz definiert die theoretische Vorhersagbarkeit und damit die Kausalität der zu untersuchenden Zeitreihe. $D'(t_i + k) > D(t_i)$ ist äquivalent zu einer Divergenz der untersuchten Punkte im Phasenraum. Es resultiert $PVF_i > 0$. Kleine Änderungen der Initialbedingungen begründen damit große Veränderungen über die Zeit. Ein hoher positiver Wert des Vorhersagefehlers bedeutet eine sehr niedrige Vorhersagbarkeit oder Kausalität, $PVF_i \leq 0$ repräsentieren einen periodischen bzw. quasiperiodischen Prozess oder eine Konvergenz in Richtung eines Gleichgewichtszustandes.

Der Punktvorhersagefehler wurde für jeden vorhandenen Datenpunkt berechnet. Die resultierende Zeitreihe der Punktvorhersagefehler wurde anschließend mit einem Rechteckfenster geglättet (Fensterlänge 256 Datenpunkte bzw. 4 sec). Zusätzlich wurden die einzelnen Punktvorhersagefehler für definierte ECoG-Abschnitte gemittelt, um neben dem zeitlichen Verlauf auch einen mittleren Vorhersagefehler für die jeweils zu untersuchenden ECoG-Abschnitte zu erhalten.

Wie bei allen nicht-linearen Verfahren hängen die absoluten Werte der PVF_i von einer ausreichend großen Zahl an Datenpunkten und verschiedenen speziellen Parametern wie der Einbettungsdimension D_e , der Zeitverzögerung τ sowie der Entwicklungszeit k ab. Nach sorgfältiger Testung aller Parameter wurde eine Einbettungsdimension von 16 ms, eine Verzögerungszeit von 150 ms und eine Entwicklungszeit von 75 ms gewählt. Die 10 gewählten 10-minütigen ECoG-Abschnitte (das entspricht bei der gewählten Abtast-

frequenz von 64 Hz 38400 Datenpunkten) erwiesen sich als ausreichend für die Berechnung des Punktvorhersagefehlers.

4.2.3 Auswahl der ECoG-Abschnitte und Zuordnung zu den Schlafstadien

Das fetale ECoG wurde pro Tier und Ableitungszeitpunkt mittels der in die Kalotte implantierten Elektroden für mindestens 24 h kontinuierlich aufgezeichnet. Die lineare und nicht-lineare ECoG-Analyse erfolgte anhand von repräsentativen, artefaktfreien ECoG-Stücken von 10-minütiger Dauer. Die kontinuierliche Aufzeichnung erfolgte biparietal und bifrontal, wobei nur das biparietale ECoG ausgewertet wurde. Soweit aufgrund von Störartefakten möglich, wurde nur das nächtliche ECoG (22:00 bis 8:00 Uhr) untersucht, um eine mögliche Beeinflussung der Ergebnisse aufgrund von tierpflegerischen Tätigkeiten, maternalen und fetalen Bewegungsartefakten, Uteruskontraktionen sowie den o. g. weiteren Experimenten, weitestgehend auszuschließen. Die Auswahl der ECoG-Abschnitte erfolgte repräsentativ aus einer Voranalyse von mindestens 180 Minuten kontinuierlicher ECoG-Aufzeichnung.

Am 110. Gestationstag war mithilfe der linearen Analyse noch keine zyklische Aktivität im analysierten ECoG zu beobachten. Eine Zuordnung von ECoG-Abschnitten zu Schlafstadien erfolgte zu diesem Zeitpunkt mithilfe der Berechnung und grafischen Darstellung des Punktvorhersagefehlers. Hiermit wurden deutliche zyklische Aktivitäten innerhalb der analysierten ECoG-Abschnitte sichtbar. Bereiche mit einer Mindestdauer von zwei Minuten, deren Vorhersagefehler mindestens 5 % über dem Mittelwert des 180-minütigen ECoG-Abschnitts lagen, wurden dem Stadium der kortikalen Aktivierung zugeordnet. Lagen die Bereiche mehr als 10 % unter dem Mittelwert des 180-minütigen ECoG-Abschnitts, wurde dieser Abschnitt dem Stadium der kortikalen Deaktivierung zugeordnet. Abschnitte, die weder dem Stadium der kortikalen Aktivierung, noch dem Stadium der kortikalen Deaktivierung zuzuordnen waren, wurden als nicht-klassifizierbar bezeichnet.

Ab dem 113. Gestationstag wurde zur Voranalyse das lineare Analyseverfahren verwendet. Es wurden dieselben Grenzwerte wie beim Punktvorhersagefehler angewandt. Ab diesem Zeitpunkt war auch mithilfe des linearen Analyseverfahrens, zu deren Berechnung weniger leistungsstarke Rechner eingesetzt werden konnten, eine sichere Zuordnung der ECoG-Abschnitte zu den jeweiligen Schlafstadien möglich. Es wurden am 113. Gestationstag überwiegend und ab dem 119. Zeitpunkt ausschließlich zehnminütige ECoG-Abschnitte zugeordnet.

Ab dem 119. Gestationstag konnte zusätzlich im nativen ECoG die kortikale Aktivierung

an einem niedrigamplitudigen, hochfrequenten ECoG-Muster und den sich entwickelnden N-REM-Schlaf an einem hoch amplitudigen, niedrigfrequenten ECoG-Muster erkannt werden. Die visuelle Auswertung wurde unterstützend zur oben beschriebenen Voranalyse verwendet.

4.3 Statistische Analyse der Daten

Zur statistischen Untersuchung auf Signifikanz kamen nichtparametrische Tests zur Anwendung, da die Spektralwerte im ECoG keiner Normalverteilung folgen.

Der Vergleich auf Mittelwertsunterschiede zwischen den Tiergruppen für die Spektralparameter, die Schlafstadienlänge und die Vorhersagefehler des ECoGs wurde mit dem U-Test von Mann & Whitney durchgeführt. Zur Prüfung auf Veränderung in der zentralen Tendenz innerhalb der Versuchsgruppen für die genannten Parameter fand der Vorzeichen-Test Verwendung. Die Ergebnisse sind, wenn nicht anders angegeben, als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (MW \pm SEM) dargestellt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.05$ wurde als signifikant betrachtet.

Die statistische Betrachtung der untersuchten Parameter über einen Zeitverlauf führte zu mehrfachen Tests zwischen den Tiergruppen bzw. innerhalb einer Versuchsgruppe. Um das multiple Signifikanzniveau $\alpha = 0.05$ einzuhalten, wurde das Korrekturverfahren von Holm verwendet (Kang et al. 2009) Zur Diskussion des multiplen Signifikanzniveaus und über die Fehlerhäufigkeit bei der ECoG-Auswertung siehe Hemmelmann et al. 2005.

5 Ergebnisse

5.1 Physiologische Parameter

Während des gesamten Versuchsablaufs waren alle Muttertiere in einem guten Allgemeinzustand. Es wurden sowohl klinisch als auch elektromyografisch keine Anzeichen einer beginnenden Geburt beobachtet.

Die arteriellen Blutgase $p\text{CO}_2$ und $p\text{O}_2$ sowie der pH-Wert und die O_2 -Sättigung der Stress- und Kontrolltiere waren während des Beobachtungszeitraums vom 109. bis 130. Gestationstag konstant. Es fand keine Entwicklung der genannten Parameter innerhalb der jeweiligen Gruppe in diesem Zeitraum statt (Abb. 5).

Der $p\text{CO}_2$ der Stressgruppe am 109. und 130. Gestationstag war im direkten Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt (Abb. 5).

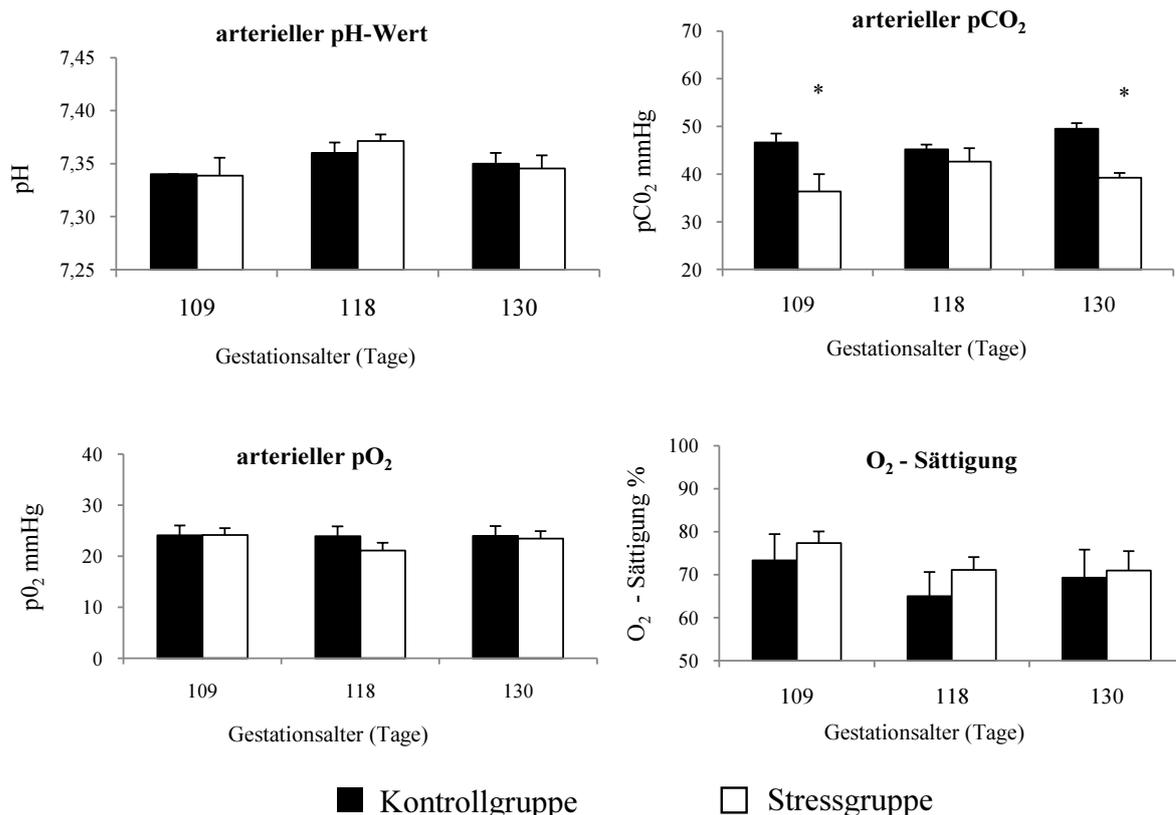


Abb. 5: Entwicklung der fetalen Blutgase sowie deren direkter Vergleich zwischen Kontroll- und Stressgruppe zwischen dem 109. und 130. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe; $n = 7$

5.2 Chronische Stressung der Muttertiere

Die Isolation der Tiere erfolgte vom 30. bis zum 100. Gestationstag für eine Dauer von 180 Minuten zweimal pro Woche. Die Messung der Plasmakortisolkonzentration zur Kontrolle der individuellen Stressantwort der Muttertiere erfolgte am 30., 44., 59., 72., und 88. Gestationstag. Es wurden jeweils 15 Minuten vor jeder Isolation (Basiswert) sowie 15, 60, 120 und 180 Minuten nach Beginn der Isolation venöses Blut aus der maternalen V. jugularis entnommen.

Die wiederholte Isolation der Muttertiere führte im Vergleich mit dem Basiswert (15 Minuten vor der Stressung) zu allen gemessenen Gestationstagen zu einem Anstieg der Plasmakortisolkonzentration (Abb. 6 und 7). Die individuelle minimale und maximale Gesamtkortisolausschüttung der Muttertiere unterlag während der Stressung einer großen Spannbreite (Abb. 7).

Der über die Dauer der Stressung von drei Stunden integrierte maternale Kortisolspiegel fiel im Verlauf der Stressphase vom 30.–89. Gestationstag und betrug am 89. Gestationstag 49 % im Vergleich zum integrierten Kortisolspiegel des 44. Gestationstags. Am 30. Gestationstag betrug der Gesamtkortisolspiegel bedingt durch die unbekannte Prozedur der Blutabnahme 129 % im Vergleich zum 44. Gestationstag (Abb. 7 und Tab. 1).

Gesamtkortisolspiegel während der Stressung

Gestationsalter in Tagen	integrierter Gesamtkortisolspiegel
30	129 %
44	100 %
59	83 %
72	45 %
88	49 %

Tab. 1: Integrierter Gesamtkortisolspiegels während der dreistündigen Stressphase vom 30.–88. Gestationstag, normiert auf den 44. Gestationstag; n = 20

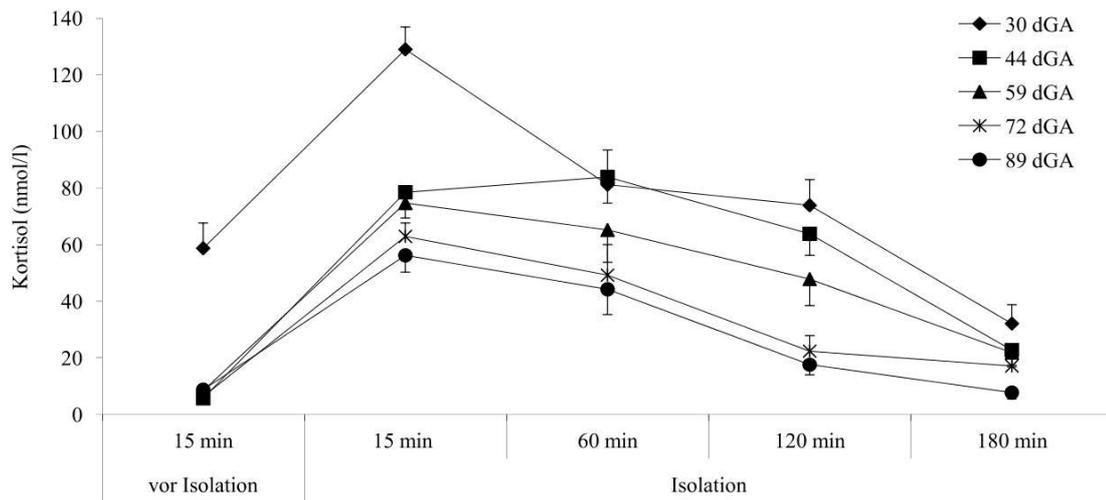


Abb. 6: Profile der Plasmakortisolkonzentration der trächtigen Schafe im zeitlichen Verlauf von 15 Minuten vor bis zum Ende der Isolation vom 30.-89. Gestationstag. MW \pm SEM; n = 20; dGA = Gestationstag

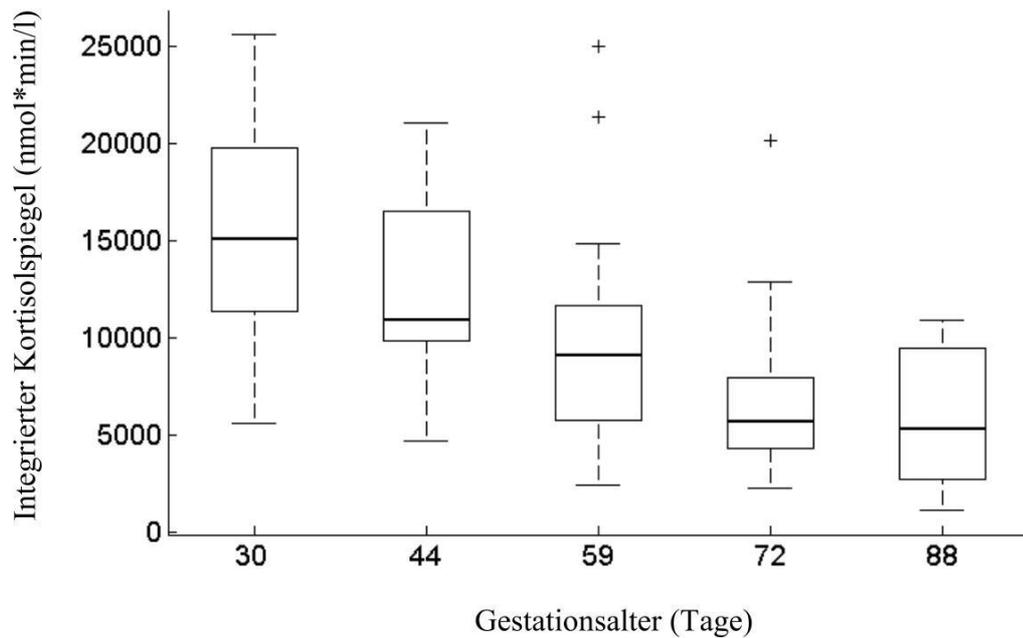


Abb. 7: Boxplots (Median, Interquartilsabstand, Maximum, Minimum und Ausreißer) des über die Isolationsdauer von drei Stunden integrierten Kortisolspiegels der trächtigen Schafe vom 30. – 88. Gestationstag; n = 20

5.3 Einfluss von pränatalem Stress auf die Entwicklung der Schlafstadien

5.3.1 Definition der verwendeten Begriffe

Im weiteren Verlauf der Arbeit werden folgende Begriffe zur Beschreibung der analysierten Schlafstadien verwendet:

Unter Stadien der kortikaler Aktivierung bzw. Deaktivierung werden im Folgenden zyklische Schwankungen des Punktvorhersagefehlers bzw. der spektralen Eckfrequenz von ECoG-Abschnitten eines untersuchten Gestationstages verstanden, die mindestens 5 % über dem Mittelwert des Punktvorhersagefehlers bzw. der spektralen Eckfrequenz eines repräsentativen 180-minütigen ECoG-Abschnitts aus der Voranalyse des selben Gestationstags (kortikale Aktivierung) bzw. mehr als 10 % unter diesem Mittelwert (kortikale Deaktivierung) liegen und noch keinen Unterschied zum Mittelwert des 110. Gestationstags aufweisen.

Sich entwickelnder REM- bzw. N-REM-Schlaf wird durch ECoG-Abschnitte wiedergespiegelt, die dieselben Qualitäten der kortikalen Aktivierung und Deaktivierung besitzen, sich zusätzlich aber im Ausmaß ihrer Schwankungen vom Mittelwert des 110. Gestationstags (Basiswert) unterscheiden.

5.3.2 Entwicklung des REM- und N-REM-ECoGs: lineare Analyse

5.3.2.1 *Entwicklung des ECoGs*

Im Folgenden werden nur die Ergebnisse der linearen Analyse im Bezug auf die Frequenzbänder der Gesamtleistung (1,5–30 Hz) gezeigt. Aufgrund der Ergebnisse der Analyse des Gesamtbandes erübrigte sich die Analyse weiterer Frequenzbänder.

Im Rahmen der linearen Analyse wird ein Anstieg der spektralen Eckfrequenz mit einer kortikalen Aktivierung bzw. mit einem sich entwickelnden REM-Schlaf assoziiert. Ein Abfall der spektralen Eckfrequenz wird hingegen mit einer kortikalen Deaktivierung bzw. mit einem sich entwickelnden N-REM-Schlaf in Verbindung gebracht.

Am 110. Gestationstag konnten mithilfe der linearen Analyse keine zyklischen Schwankungen im ECoG der Stress- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Abb. 8 und 9).

Ab dem 113. Gestationstag ließ sich innerhalb der analysierten ECoG-Abschnitte der Stress- und Kontrollgruppe zwischen Phasen kortikaler Aktivierung und Deaktivierung unterscheiden. Ein Unterschied zu den Mittelwerten des 110. Gestationstags und somit ein sich entwickelnder REM- oder N-REM-Schlaf war zu diesem Zeitpunkt weder in der Stress- noch in der Kontrollgruppe feststellbar (Abb. 8 und 9).

Ab dem 122. Gestationstag ließen sich im ECoG der Stress- und Kontrollgruppe zyklische Schwankungen der spektralen Eckfrequenz nachweisen, welche einem sich entwickelnden N-REM-Schlaf entsprachen (Abb 8 und 9).

Ein Anstieg der spektralen Eckfrequenz, welcher einer beginnenden Reifung des REM-Schlafs zuzuordnen ist, war in der Stressgruppe am 135. Gestationstag zu finden (Abb. 9). In der Kontrollgruppe fand sich diese Änderung bereits am 131. Gestationstag (Abb. 8).

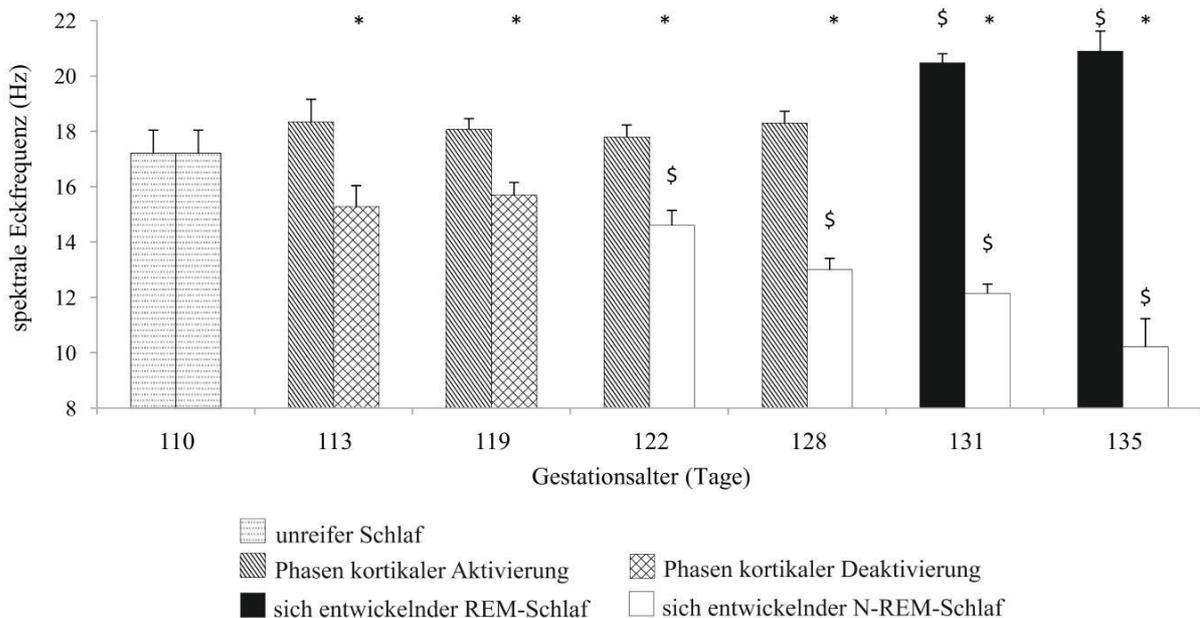


Abb. 8: Entwicklung der spektralen Eckfrequenz der Gesamtleistung des ECoGs der Kontrollgruppe und Zuordnung zu den unterschiedlichen Schlafstadien zwischen dem 110. und 135. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zum selben Gestationstag; \$ $p < 0.05$ im Vergleich zum 110. Gestationstag; $n = 7$

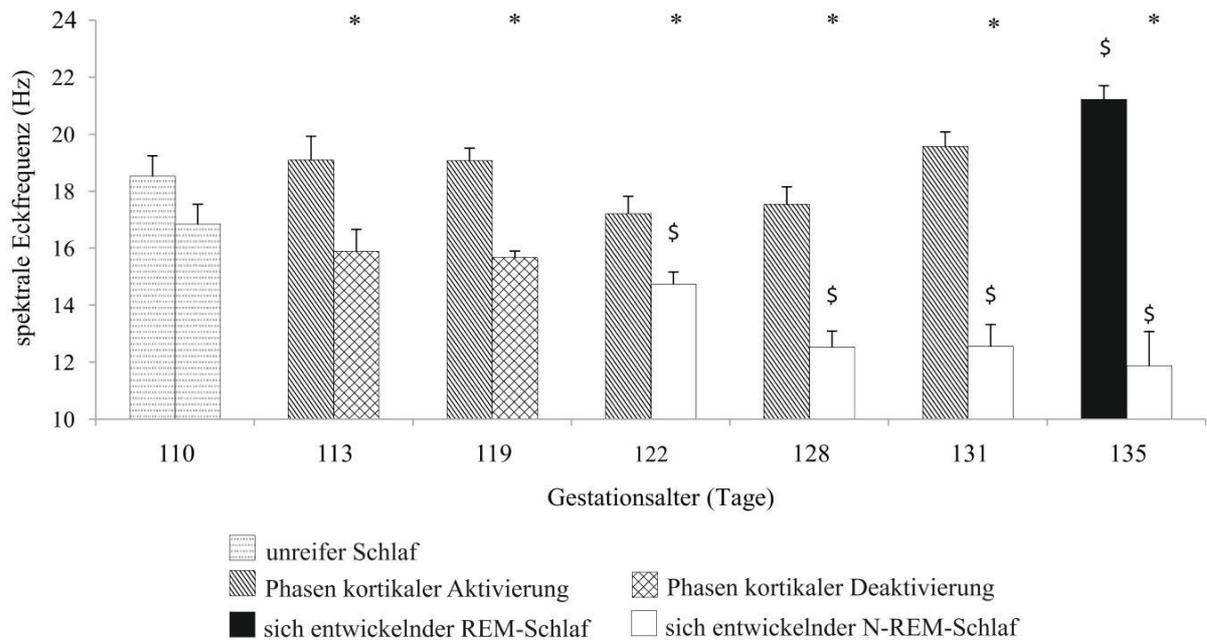


Abb. 9: Entwicklung der spektralen Eckfrequenz der Gesamtleistung des ECoGs der Stressgruppe und Zuordnung zu den unterschiedlichen Schlafstadien zwischen dem 110. und 135. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zum selben Gestationstag; \$ $p < 0.05$ im Vergleich zum 110. Gestationstag; $n = 7$

5.3.2.2 Kortikale Aktivierung und sich entwickelnder REM-Schlaf

Die Mittelwerte der spektralen Eckfrequenz der der kortikalen Aktivierung bzw. dem sich entwickelndem REM-Schlaf zugeordneten ECoG-Abschnitte unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt von den Mittelwerten der spektralen Eckfrequenz der Kontrollgruppe desselben Gestationstags (Abb. 10).

5.3.2.3 Kortikale Deaktivierung und sich entwickelnder N-REM-Schlaf

Die Mittelwerte der spektralen Eckfrequenzen der der kortikalen Deaktivierung bzw. dem sich entwickelndem N-REM-Schlaf zugeordneten ECoG-Abschnitte unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt von den Mittelwerten der spektralen Eckfrequenz der Kontrollgruppe desselben Gestationstags (Abb. 11).

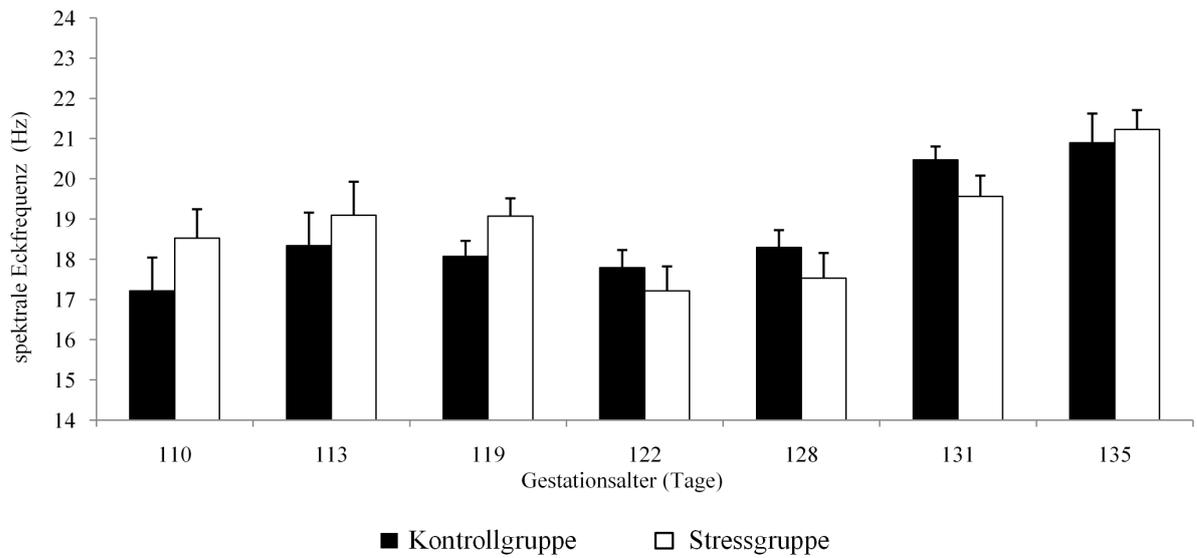


Abb. 10: Vergleich der spektralen Eckfrequenz (Gesamtleistung) des dem REM-Schlaf bzw. der kortikalen Aktivierung zugeordneten ECoG der Stress- und Kontrollgruppe zwischen dem 110. und 135. Gestationstag; MW + SEM; n = 7

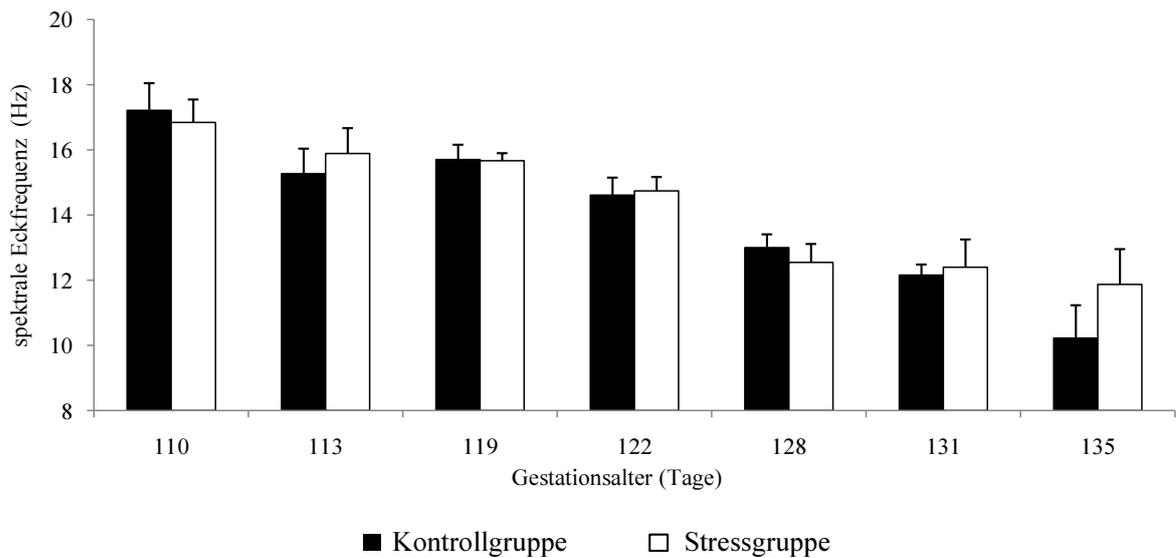


Abb. 11: Vergleich der spektralen Eckfrequenz (Gesamtleistung) des dem N-REM-Schlaf bzw. der kortikalen Deaktivierung zugeordneten ECoG der Stress- und Kontrollgruppe zwischen dem 110. und 135. Gestationstag; MW + SEM; n = 7

5.3.3 Entwicklung des REM- und N-REM ECoGs: nicht-lineare Analyse

5.3.3.1 *Entwicklung des ECoGs*

Im Rahmen der nicht-linearen Analyse wird ein Anstieg des Vorhersagefehlers mit einer kortikalen Aktivierung bzw. mit einem sich entwickelnden REM-Schlaf assoziiert. Ein Abfall des Vorhersagefehlers wird hingegen mit einer kortikalen Deaktivierung bzw. mit einem sich entwickelnden N-REM-Schlaf in Verbindung gebracht.

Mithilfe der nicht-linearen Analyse des Vorhersagefehlers ist in der Stress- und Kontrollgruppe bereits am 110. Gestationstag eine zyklische Aktivität im untersuchten ECoG zu erfassen und ermöglicht somit eine Unterscheidung zwischen kortikaler Aktivierung und Deaktivierung (Abb. 12 und 13).

Ab dem 122. Gestationstag sinkt in der Stress- und Kontrollgruppe der Vorhersagefehler unter das Niveau des Basiswertes des 110. Gestationstags und reflektiert somit einen sich entwickelnden N-REM-Schlaf (Abb. 12 und 13).

Ein Anstieg des Vorhersagefehlers über das Niveau des 110. Gestationstags, welcher einer beginnenden Reifung des REM-Schlafs zuzuordnen ist, war in der Stressgruppe am 131. Gestationstag zu finden (Abb. 13). In der Kontrollgruppe fand sich dieser Anstieg bereits am 128. Gestationstag (Abb. 12).

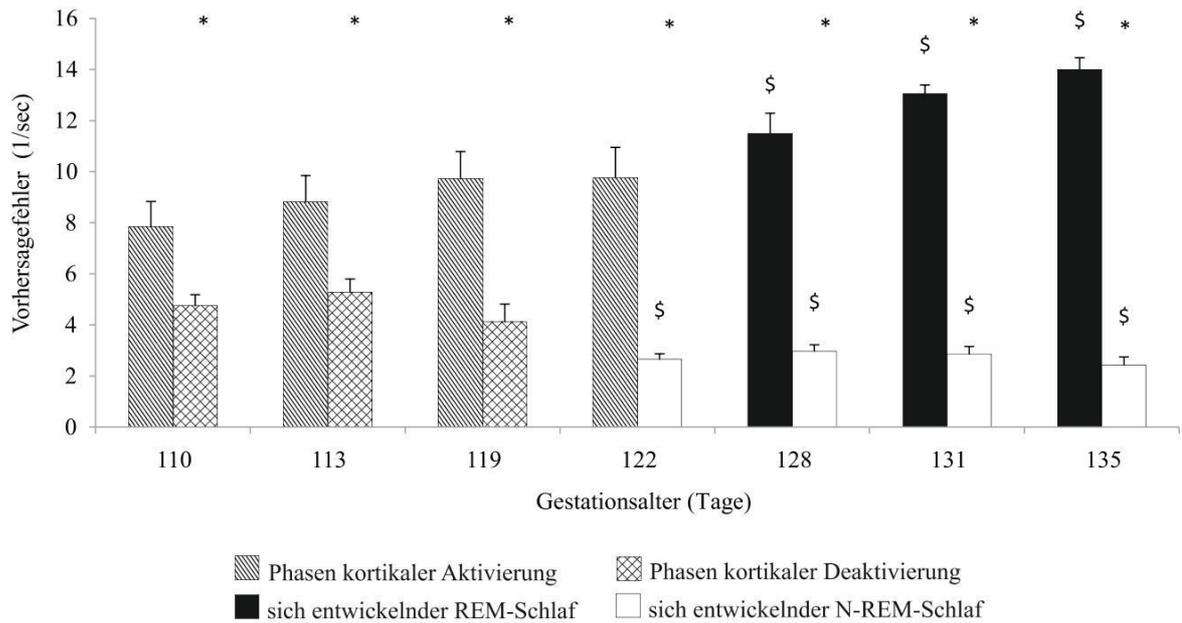


Abb. 12: Entwicklung des Vorhersagefehlers des ECoGs der Kontrollgruppe und Zuordnung zu den unterschiedlichen Schlafstadien zwischen dem 110. und 135. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zum selben Gestationstag; \$ $p < 0.05$ im Vergleich zum 110. Gestationstag; $n = 7$

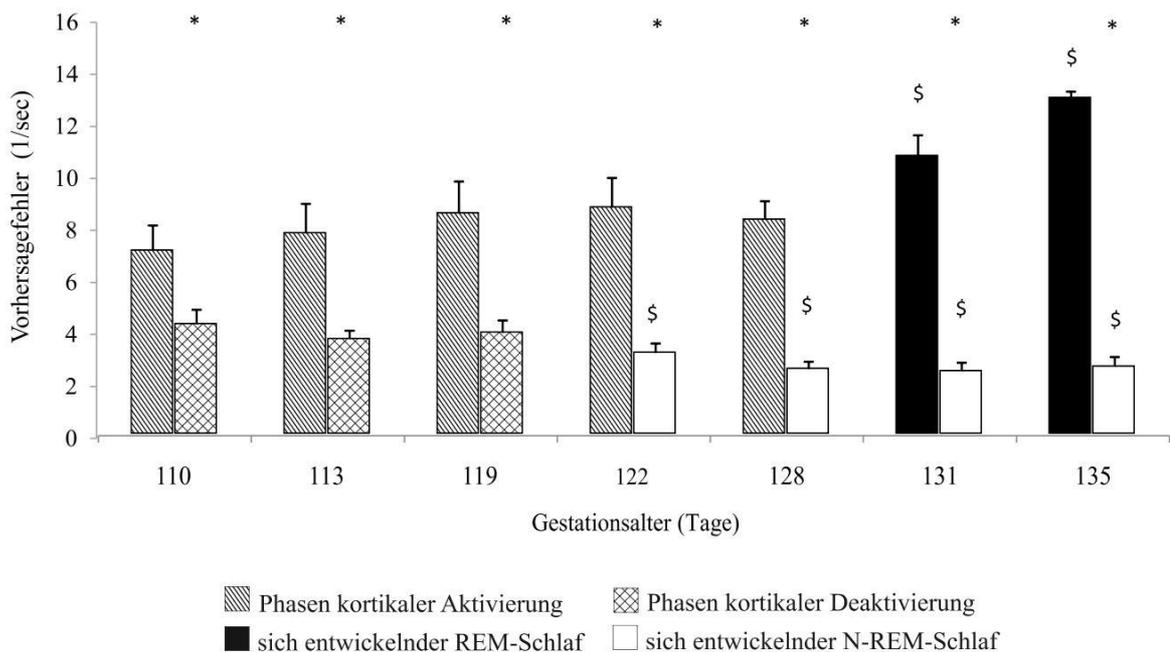


Abb. 13: Entwicklung des Vorhersagefehlers des ECoGs der Stressgruppe und Zuordnung zu den unterschiedlichen Schlafstadien zwischen dem 110. und 135. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zum selben Gestationstag; \$ $p < 0.05$ im Vergleich zum 110. Gestationstag; $n = 7$

5.3.3.2 Kortikale Aktivierung und sich entwickelnder REM-Schlaf

Bis zum 128. Gestationstag lassen sich keine Unterschiede zwischen dem Vorhersagefehler der der kortikalen Aktivierung bzw. dem sich entwickelnden REM-Schlaf zugeordneten ECoG-Abschnitte der Stress- und der Kontrollgruppe finden (Abb. 14).

Am 128. Gestationstag ist der Vorhersagefehler des Kontrollgruppen-ECoGs höher als der Vorhersagefehler der vergleichbaren Abschnitte der Stressgruppe (Abb. 14).

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen ist am 131. und 135 Gestationstag der eben beschriebene Unterschied nicht mehr nachweisbar (Abb. 14).

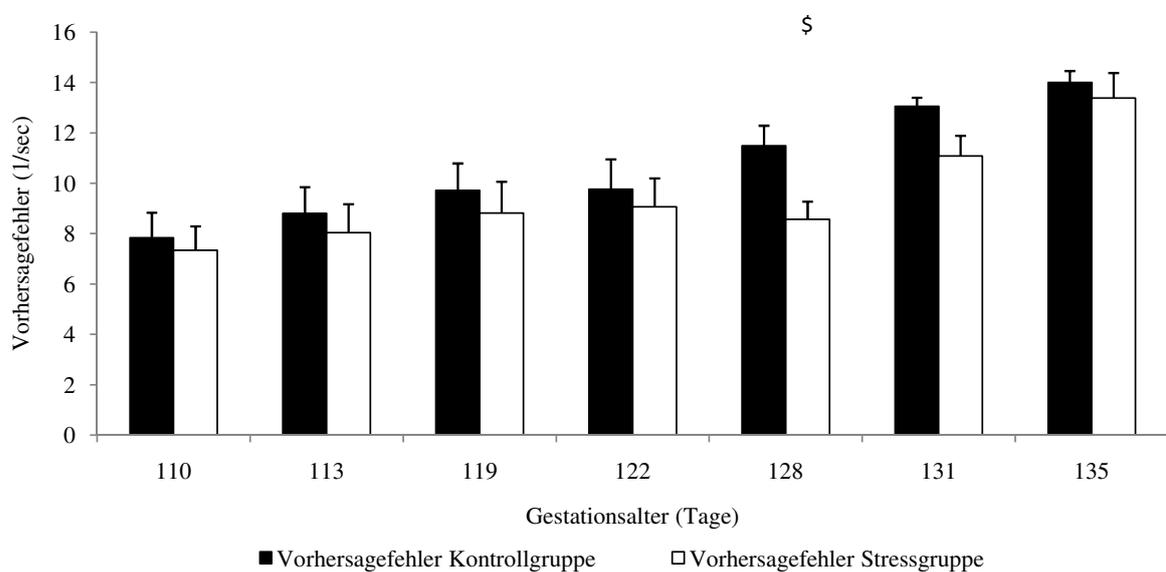


Abb. 14: Vergleich des Vorhersagefehlers des dem REM-Schlaf bzw. der kortikalen Aktivierung zugeordneten ECoGs der Stress- und Kontrollgruppe zwischen dem 110. und 135. Gestationstag. MW + SEM; \$ $p < 0.05$ im Vergleich zum selben Gestationstag; $n = 7$

5.3.3.3 Kortikale Deaktivierung und sich entwickelnder N-REM-Schlaf

Es lassen sich zu keinem Zeitpunkt Unterschiede zwischen dem Vorhersagefehler der der kortikalen Deaktivierung bzw. dem sich entwickelnden N-REM-Schlaf zugeordneten ECoG-Abschnitte der Stress- und der Kontrollgruppe nachweisen (Abb. 15).

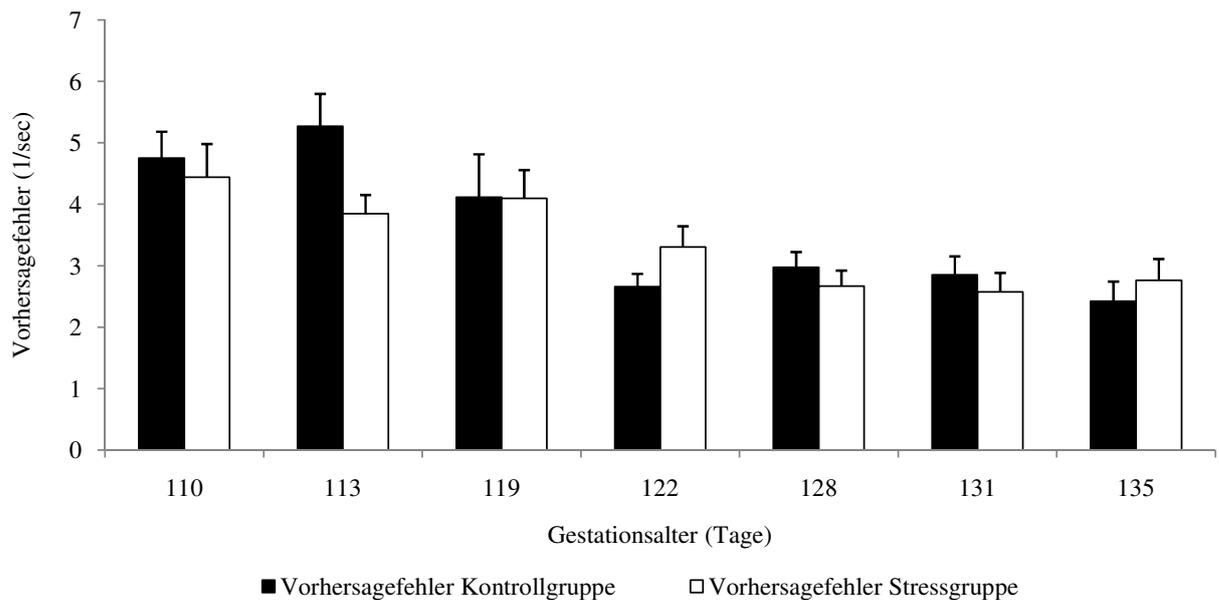


Abb. 15: Vergleich des Vorhersagefehlers des dem N-REM-Schlaf bzw. der kortikalen Aktivierung zugeordneten ECoGs der Stress- und Kontrollgruppe zwischen dem 110. und 135. Gestationstag; MW + SEM; n = 7

5.4 Einfluss von pränatalem Stress auf die Schlafstadienlänge

Die Schlafstadienlänge sowie der Anteil der einzelnen Schlafstadien am Gesamt-ECoG wurden am 110. und am 130. Gestationstag zwischen 24 h und 6 h über insgesamt 6 Stunden mithilfe der nicht-linearen Analyse bestimmt. Die Zuordnung zu den einzelnen Schlafstadien erfolgte dabei rechnergestützt unter Zuhilfenahme der im Kapitel 4.2.3 genannten Parameter. Es wird im Folgenden zwischen REM-, N-REM- und indifferenten (d.h. nicht-klassifizierbaren) ECoG-Abschnitten unterschieden.

Am 130. Gestationstag nahm im Vergleich zum 110. Gestationstag der prozentuale Anteil des REM-ECoGs sowie des N-REM-ECoGs an der Gesamtzeit sowohl in der Kontroll- als auch in der Stressgruppe zu. Dieser Anstieg ging mit einem Abfall des Anteils der indifferenten ECoG-Abschnitte einher (Abb. 16).

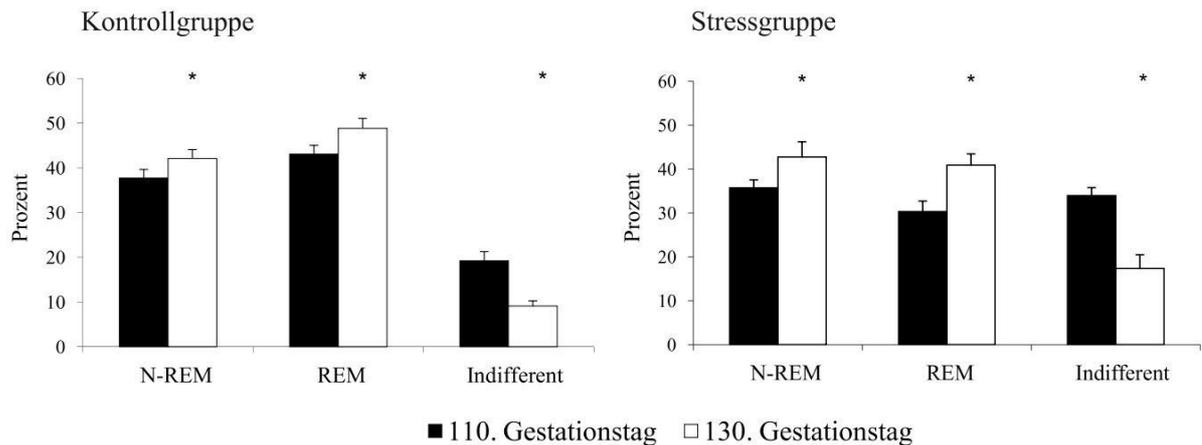


Abb. 16: Entwicklung des prozentualen Anteils der Schlafstadien am Gesamt-ECoG der Kontroll- und Stressgruppe am 110. und 130. Gestationstag; MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zum 110. Gestationstag; $n = 7$

Sowohl am 112. als auch am 130. Gestationstag ist der prozentuale Anteil des N-REM-ECoGs an der Gesamtzeit in der Stress- und Kontrollgruppe identisch (Abb. 17).

Im Gegensatz dazu ist der Anteil des REM-ECoGs der Stressgruppe sowohl am 112. Gestationstag als auch am 130. Gestationstag im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt. Eine Kompensation findet in diesem Fall über einen Anstieg des Anteils des indifferenten ECoGs am 112. und 130. Gestationstag statt (Abb. 17).

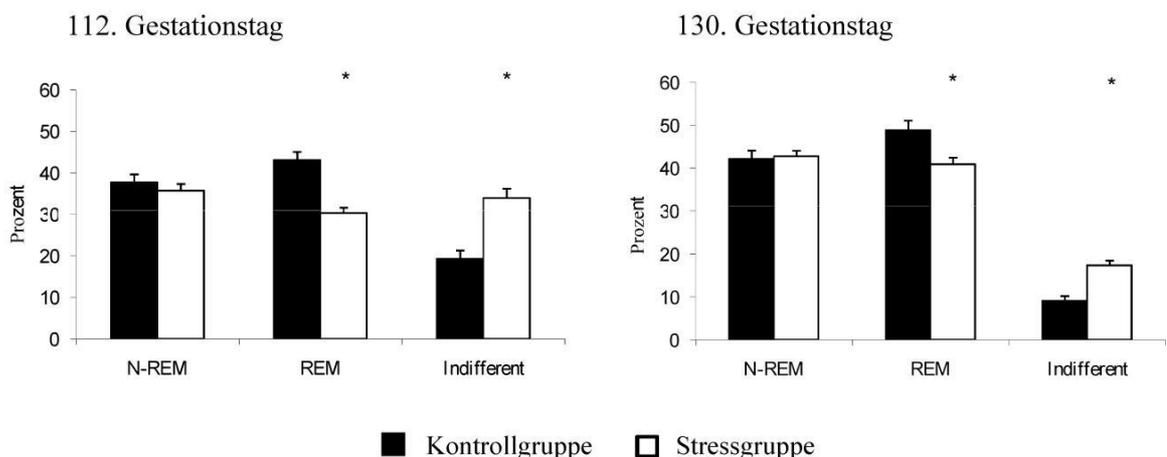


Abb. 17: Vergleich des prozentualen Anteils der Schlafstadien der Kontroll- und Stressgruppe am Gesamt-ECoOG des 112. und 130. Gestationstags. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe; $n = 7$

Am 112. Gestationstag ist die Schlafstadienlänge der Stressgruppe sowohl im REM-ECoG als auch im N-REM-ECoG im Vergleich zur Kontrollgruppe verkürzt (Abb. 18).

Am 130. Gestationstag ist die kürzere Schlafstadienlänge des N-REM-ECoG nicht mehr nachweisbar. Die im Vergleich zur Kontrollgruppe verkürzte Schlafstadienlänge des REM-ECoG persistiert (Abb. 18).

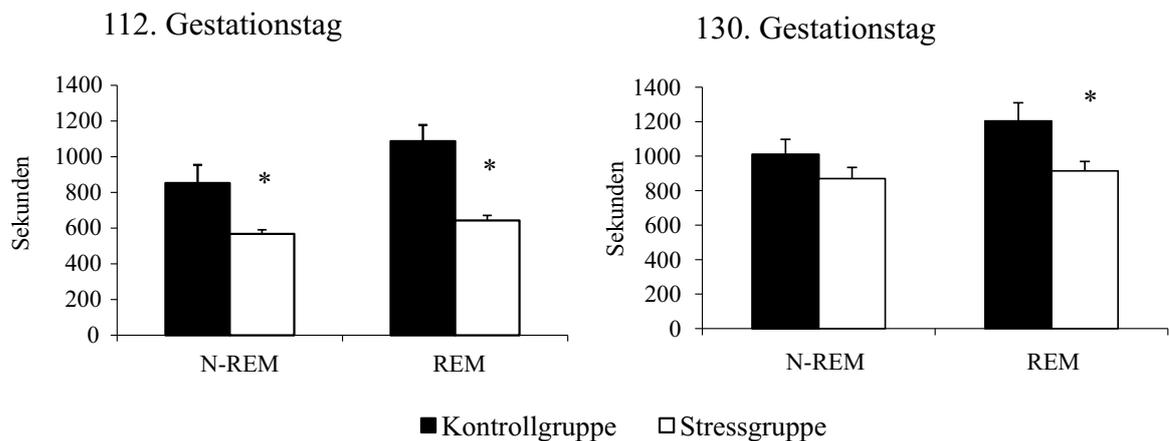


Abb. 18: Vergleich der Schlafstadienlänge des N-REM- und REM-Schlaf-ECoGs der Kontroll- und Stressgruppe am 112. und 130. Gestationstag. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe; $n = 7$

Wie in der Einleitung beschrieben konnte unsere Arbeitsgruppe am Schafmodell zeigen, dass die pränatale Gabe von Glukokortikoiden in Form von Betamethason in der Dosis, wie sie zur human-fetalen Lungenreifung bei drohenden Frühgeburten eingesetzt wird, die Schlafstadienlänge verkürzt und den Anteil des REM-Schlafes am Gesamtschlaf verringert (Groh 2009).

Im direkten Vergleich der Ergebnisse von Groh mit unseren Ergebnissen zeigt sich sowohl im Bezug auf die Schlafstadienlänge als auch auf den Anteil der jeweiligen Schlafstadien an der Gesamtzeit ein vergleichbares Bild

Sowohl in der Betamethasongruppe von Groh als auch in unserer Stressgruppe ist im Vergleich zur Kontrollgruppe der prozentuale Anteil des REM-ECoGs am 130. Gestationstag in gleichem Umfang verringert. Diese Veränderung geht sowohl in der Betamethason- als auch in der Stressgruppe mit einer Erhöhung des Anteils der indifferenten Schlafstadien einher (Abb. 19).

Im Bezug auf die Schlafstadienlänge ist sowohl in der Betamethason- als auch in unserer Stressgruppe eine Verkürzung der Schlafstadienlänge im REM-ECoG am 130. Gestati-

onstag zu beobachten. Die Verkürzung der Schlafstadienlänge des N-REM-ECoGs der Betamethasongruppe am 130. Gestationstag konnte in der Stressgruppe nicht beobachtet werden (Abb. 19).

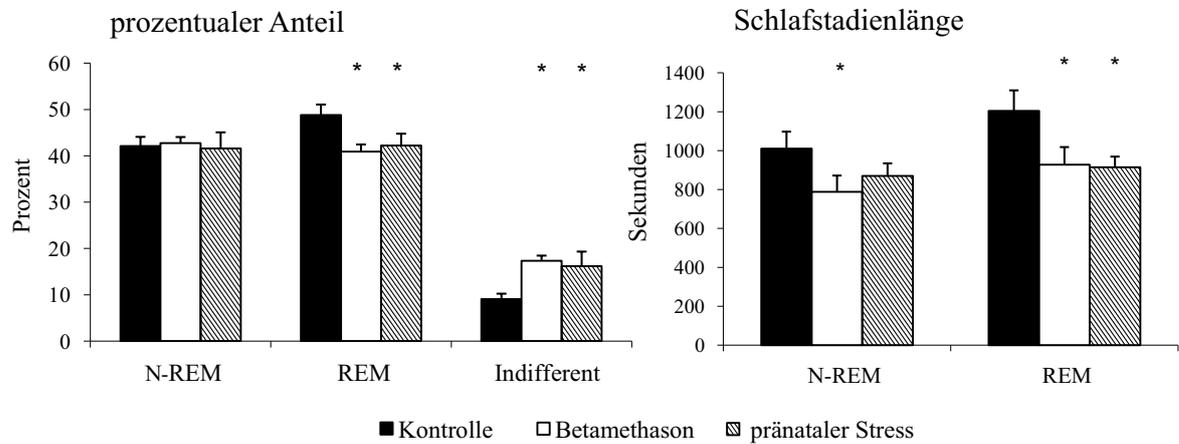


Abb. 19: Prozentualer Anteil der Schlafstadien am Gesamt-ECoG (links) und durchschnittliche Schlafstadienlänge (rechts) am 130. Gestationstag in Abhängigkeit von pränatalem Stress und einer pränatalen Betamethasongabe. MW + SEM; * $p < 0.05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe; $n = 7$

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Methode

6.1.1 Experimentelles Modell

Das verwendete Tiermodell („chronisch instrumentiertes fetales Schaf“) ist ein seit den 1970er-Jahren fest etabliertes und weitreichend verwendetes Modell zur Untersuchung grundlegender physiologischer und pathophysiologischer Fragestellungen. Das Modell wurde erstmals von Liggins verwendet, um die fetale Lungenreifung nach synthetischer Glukokortikoidgabe nachzuweisen. Diese Experimente dienen heute als Grundlage der pränatalen Behandlung von drohenden Frühgeburten zur Beschleunigung der Lungenreifung (Liggins 1969).

Ebenso wurden die grundlegenden Untersuchungen zur Entwicklung der fetalen Schlafstadien an diesem Tiermodell durchgeführt (Szeto et al. 1985). Da die ECoG-Auswertung von Frühgeborenen zur Untersuchung der funktionellen Hirnreifung als ungenau betrachtet wird - die Bedingungen und Einflüsse ex-utero unterscheiden sich zu sehr von den Bedingungen in-utero – wurde das chronisch instrumentierte fetale Schaf an diese Fragestellungen adaptiert.

Wesentliches Argument für die Verwendung von Schafen als Versuchstiere für unsere Experimente ist die Tatsache, dass die funktionelle Hirnentwicklung und hier im Besonderen die Schlafstadienentwicklung, im Gegensatz zu Nagern, pränatal und vergleichbar zum Menschen erfolgt (Todd et al. 2010, Groh 2009). Zwar weist das fetale Gehirn des Schafes zur Geburt einen etwas höheren Entwicklungsstand auf als das des Menschen, jedoch entspricht die funktionelle Entwicklung des zentralen Nervensystems und die Myelinisierung des Schafsfetus im Wesentlichen der des humanen Fetus (Astrom 1967 und McIntosh et al. 1979). Ferner erlaubt die chronische Instrumentierung die Ableitung des ECoGs ohne den Einfluss von Anästhetika. Die Muttertiere sind robust und tolerieren den Eingriff gut. Ferner ist von Bedeutung, dass beim Schaf ebenso wie beim Menschen mit einer Einlings- oder Zwillingschwangerschaft zu rechnen ist. Da die maternalen Kortisolspiegel einem zirkadianen Rhythmus folgen (Mastorakos et al. 2003), wurden soweit möglich die nächtlichen Ableitungen zur Analyse verwandt, um Einflüsse der zirkadianen Rhythmik auf die Ergebnisse auszuschließen. Zu dieser Zeit waren die Tiere ruhig, frei von tierpflegerischen Tätigkeit und Bewegungsartefakte konnten bestmöglich vermieden werden. Da

auch Uteruskontraktionen die fetalen Schlafstadien beeinflussen können (Nathanielsz et al. 1980), wurden mithilfe der Aufzeichnungen des Uterus-EMGs ausschließlich Ableitungen gewählt, bei denen keine Uteruskontraktionen nachzuweisen waren.

6.1.2 Auswertung des ECoGs

Seit Langem wird zur Beschreibung des ECoG-Signals die Analyse des Frequenzspektrums mittels Fast-Fourier-Transformation verwendet (Bickford et al. 1971). Diese Standardmethode kann heute mit einfacher Rechnertechnik durchgeführt werden und erlaubt die Analyse verschiedener Frequenzbänder, welche jeweils unterschiedlichen Schlafstadien zugeordnet sind.

Mithilfe der linearen Analyse ist das ECoG aber noch nicht vollständig beschrieben. Es wird angenommen, dass der neuronale Cortex aus annähernd 10^{10} Neuronen besteht, wobei jedes Neuron durch jeweils 1.000–10.000 Synapsen mit anderen Neuronen verbunden ist. Diese Komplexität der neuronalen Vernetzung und deren Aktivität wird durch die Analyse der Frequenzbänder des ECoG-Signals und somit durch die linearen Analyseverfahren nur unzureichend wiedergegeben (Stam 2005). Daher verwendeten wir eine auf das fetale ECoG adaptierte nicht-lineare Analyseverfahren, welche mithilfe der Berechnung des führenden Ljapunow-Exponenten Aussagen zur Komplexität des ECoG-Signals ermöglicht (Schwab et al. 2009). Diese und andere nicht-lineare Analyseverfahren sind etabliert und werden seit den Ursprüngen der nicht-linearen ECoG-Analyse Mitte der 1980er-Jahre (Rapp et al. 1985) zur Analyse des ECoG-Signals unter physiologischen Bedingungen wie kognitiver Belastung (Micheloyannis et al. 1998) und emotionaler Anspannung (Aftanas et al. 1998) sowie bei neurologischen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer (Adeli et al. 2005), Epilepsie (Hughes 2008) und Schizophrenie (Breakspear 2006) angewandt.

Die Ableitung des ECoG-Signals erfolgte vom parietalen als auch vom frontalen Cortex. Es wurde nur die parietale Ableitung zur Auswertung herangezogen, da diese sich in Vorversuchen im Gegensatz zur frontalen Ableitung als weniger störungsanfällig erwies. Dabei gab es hinsichtlich der Ergebnisse sowohl in der linearen als auch in der nicht-linearen Analyse keine ergebnisrelevanten Unterschiede. Die verwendeten Ableitpunkte entsprachen den Elektrodenpositionen p3 und p4 des 10/20-Systems.

Die Zuordnung der jeweiligen ECoG-Abschnitte zu den unterschiedlichen Schlafstadien erfolgte ausschließlich rechnergestützt - die visuelle Auswahl wurde nur unterstützend angewandt. Dabei erfolgte die Zuordnung am 110. Gestationstag aufgrund der höheren Sensitivität mithilfe der nicht-linearen und ab dem 113. Gestationstag mithilfe der linearen

Analysemethode. Es wurden ECoG-Abschnitte, deren Vorhersagefehler (nicht-linear) bzw. spektrale Eckfrequenz (linear) mindestens 5 % über dem Mittelwert eines 180-minütigen ECoG-Abschnittes lagen, dem Stadium der kortikalen Aktivierung/REM-Schlaf zugeordnet. Lagen die Bereiche mehr als 10 % unter dem Mittelwert, wurde dieser Abschnitt dem Stadium der kortikalen Deaktivierung/N-REM-Schlaf zugeordnet. In Vorversuchen konnte die Zuordnung der ECoG-Abschnitte zu den Schlafstadien durch eine zusätzliche Analyse der mit den fetalen Schlafstadien assoziierten Augenbewegungen und motorischen Aktivitäten nicht verbessert werden. Daher wurde auf eine Auswertung dieser Daten verzichtet. Durch die Ableitung der elektrischen Aktivität in der Uterusmuskulatur konnten Uteruskontraktionen sicher erkannt werden. Während dieser Kontraktionen wurde auf eine Auswertung des ECoGs verzichtet.

Die Anwendung eines einheitlichen Bewertungsmaßstabes durch rechnergestützte Voranalysen erlaubte eine sichere, objektive und vergleichbare Zuordnung der ECoG-Abschnitte zu den jeweiligen Schlafstadien.

6.1.3 Chronische Stressung der Muttertiere

Unsere Experimente erforderten ein Stressmodell, welches chronischen Stress während der Schwangerschaft simuliert, ohne sich dabei zu stark an den Stressor zu adaptieren. Schafe sind in diesem Zusammenhang als Versuchstiere besonders geeignet, da sie als Herdentiere sehr sensitiv auf psychosozialen Stress reagieren (Price et al. 1980) und bekannt ist, dass die Stressung durch Isolation zu einer sofortigen und anhaltenden Aktivierung der Stressachse führt (Minton et al. 1990). Dabei löst die Stressung durch Isolation eine größere Stressantwort hervor, als dies z. B. durch andere Stressoren wie eine Bewegungseinschränkung der Tiere möglich gewesen wäre (Zayan et al. 1990). Wir begannen die Stressung erst am 30. Gestationstag, da Stress während der frühen Embryonalphase beim Schaf zu einer hohen Abortrate führt (Behrens et al. 2001).

In unserem Versuchsaufbau führte die Stressung der Schafe im Vergleich zum Basiswert (15. Minuten vor der Stressung) zu jedem gemessenen Gestationstag zu einem Anstieg der maternalen Plasmakortisolkonzentration (Abb. 6). Am 30. Gestationstag beobachteten wir zu Beginn der Stressung einen im Vergleich zu allen anderen Gestationstagen erhöhten Kortisolspiegel (Abb. 6). Dieser ist am ehesten als Reaktion der Schafe auf die unbekanntes Blutentnahme zurückzuführen und bei den folgenden Messungen so nicht mehr nachweisbar.

Es ist bekannt, dass sich Schafe in gewissem Umfang an chronischen Isolationsstress adap-

tieren (Niezgoda et al. 1987, Roussel 2004). Die über die Dauer der Stressung integrierten Kortisolspiegel der Muttertiere fielen zum Ende der Stressung am 89. Gestationstag auf 49 % des Ausgangswertes des 44. Gestationstages, was in diesem Zusammenhang am ehesten als Teiladaptation an den verwendeten Stressor zu interpretieren ist. Da die Stressantwort der Muttertiere am 30. Gestationstag zu großen Teilen als Antwort auf die unbekannte Blutentnahme zu interpretieren ist und nicht auf die Isolation zurückzuführen war, haben wir die Adaptation an den Isolationsstress zu späteren Zeitpunkten auf diesen Tag bezogen. Trotz der Teiladaptation waren die gemessenen maternalen Spitzenkortisolspiegel auch am 89. Gestationstag noch um das mehr als sechsfache des Basiswertes so stark erhöht, um von einem suffizienten Stressor sprechen zu können.

Ursächlich für die Teiladaptation könnte die Adaptation an den Vorgang der Isolation als solches sein, wie ihn Coppinger et. al beobachtet haben (Coppinger et al. 1991). Da wir allerdings durch ein zeitliches und örtliches Rotationsverfahren ausgeschlossen haben, dass sich die Schafe an einen bestimmten Stressrhythmus oder ein Labor adaptieren konnten, könnte auch eine andere Erklärung für die Adaptation in Frage kommen: Einige Studien an Ratten (Johnstone et al. 2000) und Schafen (Vierin et al. 2001) legen den Schluss nahe, dass diese Tiere im Verlauf ihrer Schwangerschaft eine generell verminderte psychische und physische Reaktion auf negativen Stress zeigen.

Um eine nicht schwangerschaftsbedingte Adaptation bei zukünftigen Experimenten zu verringern, könnten weitere Stressoren dem Versuchsaufbau hinzugefügt werden. So ist z.B. die Nähe zu Hunden während der Schwangerschaft ein erheblicher Stressor für Schafe (Smith et al. 2008). Diese zusätzliche Stressung muss allerdings aufgrund von ethischen und tierschutzrechtlichen Bedenken sehr kritisch hinterfragt werden und wäre durch die Tierschutzkommission des Landes Thüringen zu Recht nicht genehmigt worden.

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Physiologische Parameter

Die gemessenen physiologischen Parameter (pH-Wert, arterieller pO_2 , arterieller pCO_2 und arterielle O_2 -Sättigung) der Stress- und Kontrollgruppe zeigten innerhalb ihrer Gruppe keine Entwicklung im Zeitraum vom 110. bis zum 130. Gestationstag. Die gemessenen Parameter waren konstant. Im selben Zeitraum konnte zudem kein Unterschied zwischen dem pH-Wert, dem arteriellem pO_2 und der arteriellen O_2 -Sättigung im direkten Vergleich der Stress- zur Kontrollgruppe gemessen werden. Diese Messungen befinden sich in

Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Versuche (Lohle et al. 2005, Muller et al. 2002, Groh 2009).

Unterschiede ergaben sich beim arteriellen $p\text{CO}_2$ im Vergleich zwischen Stress- und Kontrollgruppe, wobei dieser in der Stressgruppe am 110. und am 130. Gestationstag signifikant und am 118. Gestationstag tendenziell erniedrigt war. Die Ursache dieser Unterschiede ist am ehesten auf eine stressbedingte Hyperventilation des Muttertieres zurückzuführen. Dies kann allerdings nicht bewiesen werden, da die hierfür notwendigen Messungen der Blutgase der Muttertiere nicht durchgeführt wurden.

Die gleichmäßige Sauerstoffversorgung des fetalen Gehirns wird durch den zerebral arteriellen Blutfluss (CBF) sichergestellt (Jones et al. 1984). Dabei wird der CBF unter anderem durch den $p\text{CO}_2$ reguliert; ein erhöhter $p\text{CO}_2$ führt zur Vasodilatation und so zur Erhöhung des CBF (Ashwal et al. 1984). Ein erniedrigter $p\text{CO}_2$ könnte zur Vasoconstriktion und so theoretisch zu einem verminderten CBF im fetalen Gehirn geführt haben (Schwab et al. 2000). Allerdings sind die gemessenen $p\text{CO}_2$ -Unterschiede so gering, dass der gemessene Effekt zu gering für einen Einfluss auf den CBF gewesen sein dürfte; zudem beim fetalen Schaf im Gegensatz zum adulten Schaf höhere $p\text{CO}_2$ -Schwankungen notwendig sind, um eine Änderung des CBF zu bewirken (Ashwal et al. 1984).

6.2.2 Effekte von pränatalem Stress auf die Entwicklung der Schlafstadien

Unsere erste Hypothese besagt, dass pränataler Stress – analog zur pränatalen Betamethasongabe zu einer beschleunigten funktionellen Hirnreifung führt, welche anhand der Schlafstadienentwicklung zu beobachten ist (Groh 2009).

In vorangegangenen Untersuchungen konnte unsere Arbeitsgruppe bereits zeigen, dass die in klinischer Dosierung und zum klinisch relevanten Zeitpunkt, nämlich zu Beginn des dritten Trimenons, angewandte maternale Gabe von Betamethason beim fetalen Schaf die Hirnreifung beeinflusst. So führte die pränatale Gabe von Betamethason auf der einen Seite zu einer beschleunigten Reifung des REM-ECoGs (nicht aber des N-REM ECoGs), welche auf der anderen Seite mit einer Schlafstadienfragmentierung einhergeht, wie sie charakteristisch für die Depression ist.

Im Gegensatz zur ersten Hypothese, nach der eine pränatale Gabe von Betamethason zu einer beschleunigten Reifung der Schlafstadien und im Besonderen des REM-ECoGs führt, konnten wir mit unserem Stressmodell keine frühzeitige Reifung der Schlafstadien nach pränatalem Stress während des ersten und zweiten Trimenons nachweisen. So waren sowohl in der linearen als auch in der nicht-linearen Analyse zu keinem gemessenen

Gestationszeitpunkt wesentliche Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Stress- und Kontrollgruppe im REM- und N-REM-ECoG nachweisbar.

Zwar lässt sich im ECoG der Stressgruppe ein dem REM-Schlaf entsprechendes Signal sowohl in der linearen als auch in der nicht-linearen Analyse im Bezug auf die Entwicklung der Schlafstadien um drei Gestationstage später nachweisen als in der Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis wird aber am ehesten durch die statistische Unschärfe bei einer kleinen Fallanzahl bedingt und lässt auch im Bezug auf die Gestationsdauer von 147 Gestationstagen keinen Rückschluss auf eine relevante Verzögerung der Entwicklung schließen. Dieser spätere Nachweis der Entwicklung des REM-ECoGs in der Stressgruppe spiegelt sich auch im direkten Vergleich des 128. Gestationstags zwischen Kontroll- und Stressgruppe in der nicht-linearen Analyse wider. Hierbei ist ebenfalls die eben beschriebene statistische Unschärfe am wahrscheinlichsten ursächlich und ist auch aufgrund der singulären Darstellung nicht relevant.

Wie in der Einleitung bereits erläutert sind das Vorhandensein und die Qualität der zerebralen Schlafstadien aufgrund der Notwendigkeit einer funktionierenden, komplexen und disseminierten neuronalen Steuerung etablierte Marker für die funktionelle Reifung des fetalen Gehirns (van den Bergh et al. 2005, Mirmiran 1995). Dabei wird der REM-Schlaf hauptsächlich durch das cholinerge Neuronensystem und der N-REM-Schlaf hauptsächlich durch das monoaminerge Neuronensystem des ZNS gesteuert und aufrechterhalten. In Anbetracht der Wichtigkeit der beiden neuronalen Systeme für das Vorhandensein sowohl von REM- als auch von N-REM-Schlaf (Pace-Schott et al. 2002) kann man davon ausgehen, dass auch die Entwicklung der beiden Systeme eng mit der Entwicklung der Schlafstadien verbunden ist.

Wir konnten bereits zeigen, dass synthetische Glukokortikoide eine beschleunigte Reifung des REM-ECoGs, nicht aber des N-REM-ECoGs, bewirken. Da der REM-Schlaf hauptsächlich durch das cholinerge Neuronensystem gesteuert wird, welches sich zu Beginn des dritten Trimenons in der Entwicklung und einer vulnerablen Phase befindet (Coyle et al. 1976, Groh 2009), spricht die beschleunigte Reifung des REM-Schlafs in diesem Zusammenhang für eine beschleunigte Reifung des cholinergen Systems.

Chronischer Stress löst nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit keine beschleunigte Reifung der Schlafstadien aus, was folglich dafür spricht, dass pränataler Stress in unserem Stressmodell keine Auswirkung auf sowohl die funktionelle Reifung des cholinergen als auch des monoaminergen neuronalen Systems hat.

Es kommen hierfür folgende Erklärungen in Betracht: Zum einen ist es möglich, dass aufgrund des früheren Beginns der Stressphase, im Gegensatz zu den bereits durchgeführten

Untersuchung mit synthetischen Glukokortikoiden, noch keine Glukokortikoidrezeptoren im ZNS vorhanden waren, um die Effekte des pränatalen Stresses zu vermitteln. Zum anderen könnte auch die Stressintensität im Verlauf der Stressung zu gering gewesen sein, um eine frühere Reifung der Schlafstadien zu bewirken. Ferner könnte das die Schlafstadien steuernde Neuronensystem grundsätzlich nicht vor dem 100. Gestationstag vulnerabel für pränatalen Stress sein.

Glukokortikoide üben ihre Wirkung über schnell wirksame Membraneffekte (Tasker 2006, Tasker et al. 2006) sowie über langsamere intrazelluläre Rezeptoren aus, welche die Genexpression als ligandenabhängiger Transkriptionsfaktor in verschiedener Art und Weise beeinflussen können (Joels et al. 1994). Dabei sind die intrazellulären Glukokortikoidrezeptoren unerlässlich für die regelrechte Entwicklung des ZNS (de Kloet et al. 1999) und die den Schlaf steuernden neuronalen Systeme (Guijarro et al. 2006).

Die intrazellulären Rezeptoren, von denen angenommen wird, dass sie für die längerfristigen Effekte der Glukokortikoide verantwortlich sind, existieren in zwei Subtypen: die Mineralokortikoid- und die Glukokortikoidrezeptoren (MR und GR) (Joels et al. 1994). Sowohl der hochaffine MR als auch der weniger affine GR werden im pränatalen Gehirn synthetisiert, obwohl topografisch unterschiedliche Expressionsmuster vorliegen (Pryce 2008). Im Gegensatz zum MR, welcher nur im Hippocampus, im Septum und im Hypothalamus vorkommt, ist der GR ubiquitär im ZNS vorhanden (Cintra et al. 1994, Sanchez et al. 2000). Der MR des ZNS ist bereits bei normal-physiologischen Kortisolspiegeln zu mehr als 90 % gesättigt und scheint die physiologische Wirkung der Glukokortikoide zu vermitteln. Im Gegensatz dazu wird der GR aufgrund seiner niedrigeren Affinität für die Wirkung bei hoch-physiologischen oder medikamenten-induzierten Kortisolspiegeln verantwortlich gemacht (Reul et al. 1985).

Untersuchungen zur pränatalen Expression des Glukokortikoidrezeptors zeigten im Mausmodell, dass erst ab dem 9½. Gestationstag (entspricht ca. 50 % der Gestation) Glukokortikoidrezeptor-mRNA nachgewiesen werden konnte (Speirs et al. 2004). Ebenso konnte beim fetalen Schaf gezeigt werden, dass die Expression von GR-mRNA im Hippocampus erst um den 75. Gestationstag beginnt (Sloboda et al. 2008). Dies bedeutet, dass mit unserem Stressmodell die Versuchstiere in einem Zeitraum gestresst wurden, in dem noch kein Glukokortikoidrezeptor im ZNS exprimiert wurde bzw. die vorhandenen Rezeptoren noch unreif waren. Dies könnte die fehlende Beeinflussung der Entwicklung der Schlafstadien durch pränatalen Stress im Unterschied zur pränatalen Glukokortikoidgabe erklären.

Auch wenn in einem Großteil der Stressphase keine Glukokortikoidrezeptoren im ZNS

exprimiert wurden, wäre im Zeitraum vom 75.–100. Gestationstag eine direkte Wirkung des maternalen Kortisols über die Glukokortikoidrezeptoren möglich gewesen. Vor allem da bekannt ist, dass auch die einmalige synthetische Glukokortikoidgabe zu Beginn des dritten Trimenons beim Schaf zu einer frühzeitigen Entwicklung der Schlafstadien und insbesondere des cholinergen Systems führt (Groh 2009).

Möglicherweise war aber in der Endphase der Stressung die von den Mutterschafen ausgeschüttete Menge an Kortisol im Vergleich zur Gabe von synthetischen Glukokortikoiden nicht ausreichend, um die vorzeitige Reifung der Schlafstadien auszulösen.

Da die Plazenta endogene Glukokortikoide durch das Enzym 11 β -HSD2 zu 50–90 % deaktiviert (Benediktsson et al. 1997), müssen sehr hohe maternale Kortisolwerte erreicht werden, um im fetalen Kreislauf eine der synthetischen Glukokortikoidgabe äquivalenten Glukokortikoidkonzentration zu erreichen. Synthetische Glukokortikoide können die Plazenta ungehindert passieren (Anderson et al. 1977). Hinzu kommt, dass synthetische Glukokortikoide, im Gegensatz zu endogenen Glukokortikoiden, im Serum nicht an das Transportprotein Transcortin gebunden werden (Alexander et al. 1998, Kajantie et al. 2004) und so nicht in vollem Umfang für Rezeptorinteraktionen zur Verfügung stehen. Ferner ging in der Stressphase vom 75.–100. Gestationstag die stressbedingte maternale Kortisolausschüttung bereits zurück, was den fetalen Kortisolspiegel ebenfalls beeinflusst haben dürfte.

Aufgrund der genannten Gründe ist die Aktivität des mütterlichen Kortisols im fetalen Kreislauf möglicherweise zu gering gewesen, um die selben Effekte auf die Entwicklung der Schlafstadien auszulösen, wie sie durch synthetische Glukokortikoide erreicht werden können.

6.2.3 Effekte von pränatalem Stress auf die Schlafstadienlänge

Unsere zweite Hypothese besagt, dass chronischer Stress – analog zur pränatalen Glukokortikoidgabe - zu einer Schlafstadienfragmentierung als Ausdruck einer Störung der funktionellen Hirnreifung führt (Groh 2009).

Bei der Betrachtung der Schlafstadienlänge und des Anteils des REM- und N-REM-ECoG an der Gesamtzeit zeigten sich erhebliche Unterschiede zwischen der Stress- und Kontrollgruppe. So war in der Stressgruppe am 130. Gestationstag der Anteil des REM-Schlafs im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt. Auch die durchschnittliche Länge des REM-ECoGs war im Vergleich zur Kontrollgruppe am 130. Gestationstag verkürzt.

Schlafstörungen, insbesondere in Form einer Schlafstadienfragmentierung, sind wesentliche Symptome der Depression beim Menschen (Tsuno et al. 2005, Übersicht in: Germain et al. 2008). Die neuroendokrine Schlafregulation wird dabei von den gleichen Hirnregionen kontrolliert, welche auch in der Pathophysiologie der Depressionen eine wichtige Rolle spielen. Hierzu gehören insbesondere der Ncl. paraventricularis des Hypothalamus, der präfrontale Cortex und die zum ultradianen Oszillator gehörenden aminergen Neurone des Hirnstamms (Locus coeruleus und Ncl. raphe dorsalis) (Antonijevic 2008, Nestler et al. 2002, Hasler et al., 2004). Tatsächlich führt pränataler Stress in der späten Schwangerschaft bei Ratten zu einer Schlafstadienfragmentierung im frühen Erwachsenenalter (Dugovic et al. 1999). Untersuchungen an Säuglingen haben ebenfalls ergeben, dass pränataler Stress zu einer Änderungen des Schlafverhaltens führt, welches dem Schlafverhalten von depressiven Patienten ähnelt (O'Connor et al. 2007).

Die in unseren Experimenten gezeigte Schlafstadienfragmentierung könnte somit auf eine Prädisposition für Depressionen im späteren Leben durch pränatalen chronischen Stress hinweisen und befindet sich in Übereinstimmung mit epidemiologischen (Watson et al. 1999) und tierexperimentellen Daten (Alonso et al. 1991, Alonso et al., 2000, Frye et al. 2003), die bereits einen Zusammenhang zwischen pränatalem Stress und dem Auftreten von Depressionen im späteren Leben nachweisen konnten.

Die Schlafstadienwechsel und die Länge der Schlafstadien werden durch einen ultradianen Gegentakt-Oszillator in der mesopontinen Kreuzung gesteuert, welcher mithilfe der Interaktion von cholinergen REM-ON- und aminergen REM-OFF-Neuronen funktioniert (Pace-Schott et al. 2002). Der ultradiane Oszillator des Hirnstamms steht unter der Kontrolle eines zirkadianen Oszillators im Ncl. suprachiasmaticus. Der zirkadiane Oszillator projiziert direkt (Sun et al. 2000) oder über den dorsomedialen hypothalamischen Kern (Chou et al. 2002) zum hypothalamischen ventrolateralen präoptischen Kern, welcher Informationen in die aminergen Neurone des Hirnstamms (Locus coeruleus und Ncl. raphe dorsalis) sendet. Experimentelle Arbeiten zeigen, dass die direkte Zerstörung des äußeren hypothalamischen ventrolateralen präoptischen Kerns eine Schlafstadienfragmentierung mit Verkürzung des REM-Schlafs an der Gesamtzeit zur Folge hat, wie wir sie in unseren Experimenten beobachten konnten (Lu et al. 2000). Es ist demnach wahrscheinlich, dass pränataler Stress in unserem Modell einen direkten Einfluss auf die Reifung und/oder die Funktion des Gegentakt-Oszillators bzw. des Ultradianen-Oszillators gehabt hat.

Interessanterweise bewirkt pränataler chronischer Stress in unseren Versuchen die gleichen Muster und Intensitäten wie sie auch durch die Gabe von synthetischen Glukokortikoiden in vorausgegangenen Experimenten ausgelöst werden konnten (Groh 2009). Da das in

dieser Arbeit verwendete Stressmodell auch in einem Zeitraum gewirkt hat, in dem noch keine Glukokortikoidrezeptoren im ZNS exprimiert wurden - diese können erst ab dem 75. Gestationstag sicher nachgewiesen werden (Speirs et al. 2004) – lässt dies im Zusammenhang mit der identischen Störung durch synthetische Glukokortikoide den Schluss zu, dass die Oszillatoren entweder nach der Expression der Glukokortikoidrezeptoren ab dem 75. Gestationstag vulnerabel für Stress sind oder aber die Effekte nicht Glukokortikoidrezeptor vermittelt sind.

Aus der Erforschung anderer neuropsychologischer Erkrankungen, z. B. der Schizophrenie, ist bekannt, dass gerade pränataler Stress in der frühen Schwangerschaft mit dem Auftreten der Erkrankung im späteren Leben vergesellschaftet ist (Khashan et al. 2008, Malaspina et al., 2008). Ebenso scheint die Intensität der ADHS Symptomatik am größten zu sein, wenn pränataler Stress während des ersten Trimenons gewirkt hat (Rodriguez et al. 2005b). Die Mechanismen der Wirkung von pränatalem Stress während der frühen Schwangerschaft auf die genannten neuropsychologischen Erkrankungen und im Speziellen auf die von uns gefundene Beeinflussung der Oszillatoren sind noch weitestgehend unklar.

Möglicherweise beeinflusst pränataler Stress die Versorgung des Fetus durch Vasokonstriktion der Umbilicalgefäße (Stevens et al. 1995, Sjostrom et al. 1997) oder durch die plazentare Produktion von pCRH (siehe Kapitel 2.2.2). Denkbar ist auch, dass das durch die erhöhten Glukokortikoidspiegel und die damit einhergehende Hemmung der Produktion von Wachstumsfaktoren neurotoxische Effekte ausgelöst werden (Chao et al. 1998, Zhang et al. 2002). Die endgültige Klärung dieser Mechanismen bedarf aber noch weiterer, eingehender Untersuchungen.

7 Schlussfolgerungen

Mit unseren Ergebnissen leisten wir einen wesentlichen Beitrag zur Frage, inwieweit sich chronischer pränataler Stress auf die funktionelle Entwicklung des zentralen Nervensystems auswirkt. Wir untersuchten in diesem Zusammenhang zwei Hypothesen, welche sich aus den Ergebnissen unserer Experimente zur pränatalen Gabe von synthetischen Glukokortikoiden und deren Wirkung auf die Entwicklung der Schlafstadien ergaben. Wir nahmen erstens an, dass pränataler Stress – analog zur pränatalen Gabe von synthetischen Glukokortikoiden - zu einer früheren Entwicklung der Schlafstadien sowie zweitens - und ebenfalls analog zur pränatalen Gabe von Glukokortikoiden - zu einer Schlafstadienfragmentierung führt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit führt chronischer pränataler Stress zwischen dem 30. und 100. Gestationstag beim fetalen Schaf zu einer Schlafstadienfragmentierung gleichen Ausmaßes und gleicher Qualität, wie sie auch nach der pränatalen Gabe von synthetischen Glukokortikoiden beobachtet werden kann. Eine frühere Reifung der Schlafstadien konnte nicht beobachtet werden.

Wir nehmen an, dass die Fragmentierung der Schlafstadien durch eine direkte Beeinflussung der Reifung und/oder der Funktion des Gagentakt- bzw. des ultradianen Oszillators im Hirnstamm zustande kommt. Im Gegensatz dazu zeigt das Ausbleiben der früheren Reifung der Schlafstadien, dass pränataler Stress in unserem Modell im Gegensatz zu synthetischen Glukokortikoiden keine Auswirkungen auf die Reifung des cholinergen Neuronensystems hat. Dies kann durch ein zu geringes Ausmaß des pränatalen Stressses, durch das Fehlen eines Glukokortikoidrezeptors während der Stressphase sowie durch die mangelnde Vulnerabilität des die Schlafstadien steuernden Neuronensystems vor dem 100. Gestationstag bedingt sein.

Die Frage, ob und wie pränataler Stress das Verhalten des Fetus bzw. die psychische Gesundheit der Nachkommen beeinflusst, ist vor dem Hintergrund möglicher wissenschaftlich fundierter primärpräventiver Maßnahmen und deren Ausgestaltung, z. B. der Länge und dem Zeitpunkt des Mutterschutzes, besonders wichtig. Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass pränataler Stress zu einer Vielzahl von Erkrankungen wie Depressionen, Schizophrenie, Verhaltensauffälligkeiten und kognitiven Störungen führen kann (siehe Kapitel 2.1).

Unsere Arbeit zeigt, dass pränataler Stress während des ersten und zweiten Trimenons das gleiche Schlafmuster, nämlich eine Schlafstadienfragmentierung als Ausdruck einer

Beeinflussung von Hirnstammneuronen, hervorruft, wie es typisch für depressive Patienten ist. Dies steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen einer einmaligen pränatalen Glukokortikoidgabe zu Beginn des dritten Trimenons von Groh (Groh 2009). Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Groh findet in unserer Arbeit aber keine Beeinflussung der Schlafstadienreifung und somit des cholinergen Neuronensystems statt.

Für die Ergreifung von primärpräventiven Maßnahmen zur Verhinderung von psychiatrischen Erkrankungen im späteren Leben ist es wichtig zu wissen, in welchem zeitlichen Rahmen welche neuronalen Systeme durch pränatalen Stress beeinflusst werden können. Wir haben gezeigt, dass während der ersten zwei Trimester eine Störung der funktionalen Hirnreifung möglich ist, welche wahrscheinlich auf eine Änderung der Hirnstammaktivität zurückzuführen ist. Eine Beeinflussung der Schlafstadienreifung im Sinne einer Beeinflussung des cholinergen Neuronensystems konnte durch unser Stressmodell nicht nachgewiesen werden, obwohl es durch Voruntersuchungen mit synthetischen Glukokortikoiden zu Beginn des dritten Trimenons sichere Hinweise auf eine vorhandene Vulnerabilität gibt (Groh 2009).

Aufgrund der Unterschiede zwischen der Stressform und des Stresszeitpunktes der vorliegenden Arbeit und den Voruntersuchungen von Groh, ist derzeit unklar, ob auch chronischer pränataler Stress zu Beginn und während des dritten Trimenons eine Störung der funktionellen Hirnreifung in Form einer Schlafstadienfragmentierung und/oder eine frühere Reifung der Schlafstadien verursacht. Die Beantwortung dieser Frage ist wichtig für die Ausgestaltung primärpräventiver Maßnahmen und muss Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Pränataler Stress wird – neben den in dieser Arbeit gefundenen hirnfunktionellen Korrelaten für Depressionen – auch mit einer Reihe anderer Krankheiten in Verbindung gebracht, deren konkrete hirnfunktionelle Ursache unklar ist. Mit dieser Arbeit ist es uns gelungen, ein durch pränatalen Stress ausgelöstes und für Psychopathologien relevantes hirnfunktionelles Korrelat zu finden. Unser Nachweis einer konkreten Beeinflussung der Reifung der Hirnfunktion ausgelöst durch pränatalen Stress kann daher auch als Grundlage und Motivation für die Erforschung von hirnfunktionellen Grundlagen anderer, mit pränatalem Stress assoziierten Krankheiten dienen.

8 Literatur- und Quellenverzeichnis

- Adeli H, Ghosh-Dastidar S, Dadmehr N. 2005. Alzheimer's disease: models of computation and analysis of EEGs. *Clin EEG Neurosci*, 36(3):131–40.
- Aftanas LI, Lotova NV, Koshkarov VI, Makhnev VP, Mordvintsev YN, Popov SA. 1998. Non-linear dynamic complexity of the human EEG during evoked emotions. *Int J Psychophysiol*, 28(1):63–76.
- Aghajafari F, Murphy K, Matthews S, Ohlsson A, Amankwah K, Hannah M. 2002. Repeated doses of antenatal corticosteroids in animals: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol*, 186(4):843–9.
- Alexander SL, Irvine CH. 1998. The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity. *J Endocrinol*, 157(3):425–32.
- Alonso SJ, Arevalo R, Afonso D, Rodriguez M. 1991. Effects of maternal stress during pregnancy on forced swimming test behavior of the offspring. *Physiol Behav*, 50(3):511–7.
- Alonso SJ, Damas C, Navarro E. 2000. Behavioral despair in mice after prenatal stress. *J Physiol Biochem*, 56(2):77–82.
- Amiel-Tison C, Cabrol D, Denver R, Jarreau PH, Papiernik E, Piazza PV. 2004. Fetal adaptation to stress. Part I: acceleration of fetal maturation and earlier birth triggered by placental insufficiency in humans. *Early Hum Dev*, 78(1):15–27.
- Anderson AB, Gennser G, Jeremy JY, Ohrlander S, Sayers L, Turnbull AC. 1977. Placental transfer and metabolism of betamethasone in human pregnancy. *Obstet Gynecol*, 49(4):471–4.
- on Antenatal Steroid Therapy CG. 1984. Effects of antenatal dexamethasone administration in the infant: long-term follow-up. *J Pediatr*, 104(2):259–67.
- Antonijevic I. 2008. HPA axis and sleep: identifying subtypes of major depression. *Stress*, 11(1):15–27.
- Antonow-Schlorke I, Muller T, Brodhun M, Wicher C, Schubert H, Nathanielsz PW, Witte OW, Schwab M. 2007. Betamethasone-related acute alterations of microtubule-associated proteins in the fetal sheep brain are reversible and independent of age during the last one-third of gestation. *Am J Obstet Gynecol*, 196(6):553.e1–6.

- Antonow-Schlorke I, Schwab M, Li C, Nathanielsz PW. 2003. Glucocorticoid exposure at the dose used clinically alters cytoskeletal proteins and presynaptic terminals in the fetal baboon brain. *J Physiol*, 547(Pt 1):117–23.
- Ashwal S, Dale PS, Longo LD. 1984. Regional cerebral blood flow: studies in the fetal lamb during hypoxia, hypercapnia, acidosis, and hypotension. *Pediatr Res*, 18(12):1309–16.
- Barbazanges A, Piazza PV, Le Moal M, Maccari S. 1996. Maternal glucocorticoid secretion mediates long-term effects of prenatal stress. *J Neurosci*, 16(12):3943–9.
- Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. 1993. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet*, 341(8850):938–41.
- Bartha JL, Martinez-del Fresno P, Romero-Carmona R, Hunter A, Comino-Delgado R. 2003. Maternal anxiety and fetal behavior at 15 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 22(1):57–62.
- Behrens H, Ganter M, Hiepe T, Braun U. 2001. Lehrbuch der Schafkrankheiten - mit 41 Tabellen und Video auf CD-ROM. Vierte Aufl. Berlin: Parey.
- Benediktsson R, Calder AA, Edwards CR, Seckl JR. 1997. Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: a key regulator of fetal glucocorticoid exposure. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 46(2):161–6.
- van den Bergh BR, Mulder EJ, Visser GH, Poelmann-Weesjes G, Bekedam DJ, Prechtl HF. 1989. The effect of (induced) maternal emotions on fetal behaviour: a controlled study. *Early Hum Dev*, 19(1):9–19.
- van den Bergh BRH, Marcoen A. 2004. High antenatal maternal anxiety is related to ADHD symptoms, externalizing problems, and anxiety in 8- and 9-year-olds. *Child Dev*, 75(4):1085–97.
- van den Bergh BRH, Mennes M, Stevens V, van der Meere J, Borger N, Stiers P, Marcoen A, Lagae L. 2006. ADHD deficit as measured in adolescent boys with a continuous performance task is related to antenatal maternal anxiety. *Pediatr Res*, 59(1):78–82.
- van den Bergh BRH, Mulder EJH, Mennes M, Glover V. 2005. Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review. *Neurosci Biobehav Rev*, 29(2):237–58.
- Beydoun H, Saftlas AF. 2008. Physical and mental health outcomes of prenatal maternal stress in human and animal studies: a review of recent evidence. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 22(5):438–66.

- Bickford RG, Fleming N, Billinger T. 1971. Compression of EEG data. *Trans Am Neurol Assoc*, 96:118–22.
- Blanco-Centurion C, Gerashchenko D, Shiromani PJ. 2007. Effects of saporin-induced lesions of three arousal populations on daily levels of sleep and wake. *J Neurosci*, 27(51):14041–8.
- Breakspear M. 2006. The nonlinear theory of schizophrenia. *Aust N Z J Psychiatry*, 40(1):20–35.
- Burke HM, Davis MC, Otte C, Mohr DC. 2005. Depression and cortisol responses to psychological stress: a meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 30(9):846–56.
- Catalani A, Casolini P, Cigliana G, Scaccianoce S, Consoli C, Cinque C, Zuena AR, Angelucci L. 2002. Maternal corticosterone influences behavior, stress response and corticosteroid receptors in the female rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 73(1):105–14.
- Challis J. 2001. The fetal placental hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, parturition and post natal health. *Mol Cell Endocrinol*, 185(1-2):135–44.
- Challis JR, Fraher L, Oosterhuis J, White SE, Bocking AD. 1989. Fetal and maternal endocrine responses to prolonged reductions in uterine blood flow in pregnant sheep. *Am J Obstet Gynecol*, 160(4):926–32.
- Chao HM, Sakai RR, Ma LY, McEwen BS. 1998. Adrenal steroid regulation of neurotrophic factor expression in the rat hippocampus. *Endocrinology*, 139(7):3112–8.
- Chou TC, Bjorkum AA, Gaus SE, Lu J, Scammell TE, Saper CB. 2002. Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. *J Neurosci*, 22(3):977–90.
- Chrousos GP. 1998. Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. *Ann N Y Acad Sci*, 851:311–35.
- Cintra A, Bhatnagar M, Chadi G, Tinner B, Lindberg J, Gustafsson JA, Agnati LF, Fuxe K. 1994. Glial and neuronal glucocorticoid receptor immunoreactive cell populations in developing, adult, and aging brain. *Ann N Y Acad Sci*, 746:42–61; discussion 61–3.
- Coe CL, Kramer M, Czeh B, Gould E, Reeves AJ, Kirschbaum C, Fuchs E. 2003. Prenatal stress diminishes neurogenesis in the dentate gyrus of juvenile rhesus monkeys. *Biol Psychiatry*, 54(10):1025–34.
- Coe CL, Lubach GR. 2005. Developmental consequences of antenatal dexamethasone treatment in nonhuman primates. *Neurosci Biobehav Rev*, 29(2):227–35.

- Coppinger TR, Minton JE, Reddy PG, Blecha F. 1991. Repeated restraint and isolation stress in lambs increases pituitary-adrenal secretions and reduces cell-mediated immunity. *J Anim Sci*, 69(7):2808–14.
- Coyle JT, Yamamura HI. 1976. Neurochemical aspects of the ontogenesis of cholinergic neurons in the rat brain. *Brain Res*, 118(3):429–40.
- Dalziel SR, Lim VK, Lambert A, McCarthy D, Parag V, Rodgers A, Harding JE. 2005. Antenatal exposure to betamethasone: psychological functioning and health related quality of life 31 years after inclusion in randomised controlled trial. *BMJ*, 331(7518):665.
- Davis EP, Sandman CA. 2010. The timing of prenatal exposure to maternal cortisol and psychosocial stress is associated with human infant cognitive development. *Child Dev*, 81(1):131–48.
- Day JC, Koehl M, Deroche V, Le Moal M, Maccari S. 1998. Prenatal stress enhances stress- and corticotropin-releasing factor-induced stimulation of hippocampal acetylcholine release in adult rats. *J Neurosci*, 18(5):1886–92.
- Dehmelt L, Halpain S. 2005. The MAP2/Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biol*, 6(1):204.
- Dessens AB, Haas HS, Koppe JG. 2000. Twenty-year follow-up of antenatal corticosteroid treatment. *Pediatrics*, 105(6):E77.
- Deurveilher S, Hennevin E. 2001. Lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus reduce paradoxical sleep (PS) propensity: evidence from a short-term PS deprivation study in rats. *Eur J Neurosci*, 13(10):1963–76.
- DiPietro JA, Costigan KA, Hilton SC, Pressman EK. 1999. Effects of socioeconomic status and psychosocial stress on the development of the fetus. *Ann N Y Acad Sci*, 896:356–8.
- DiPietro JA, Hilton SC, Hawkins M, Costigan KA, Pressman EK. 2002. Maternal stress and affect influence fetal neurobehavioral development. *Dev Psychol*, 38(5):659–68.
- Dobbing J, Sands J. 1979. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev*, 3(1):79–83.
- Dugovic C, Maccari S, Weibel L, Turek FW, Van Reeth O. 1999. High corticosterone levels in prenatally stressed rats predict persistent paradoxical sleep alterations. *J Neurosci*, 19(19):8656–64.
- Ehlert U, Gaab J, Heinrichs M. 2001. Psychoneuroendocrinological contributions to the

etiology of depression, posttraumatic stress disorder, and stress-related bodily disorders: the role of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Biol Psychol*, 57(1-3):141–52.

Estanislau C, Morato S. 2006. Behavior ontogeny in the elevated plus-maze: prenatal stress effects. *Int J Dev Neurosci*, 24(4):255–62.

Ferreira AJ. 1960. The pregnant woman's emotional attitude and its reflection of the newborn. *Am J Orthopsychiatry*, 30:553–61.

Fibiger HC. 1982. The organization and some projections of cholinergic neurons of the mammalian forebrain. *Brain Res*, 257(3):327–88.

Fowden AL. 1995. Endocrine regulation of fetal growth. *Reprod Fertil Dev*, 7(3):351–63.

French NP, Hagan R, Evans SF, Godfrey M, Newnham JP. 1999. Repeated antenatal corticosteroids: size at birth and subsequent development. *Am J Obstet Gynecol*, 180(1 Pt 1):114–21.

French NP, Hagan R, Evans SF, Mullan A, Newnham JP. 2004. Repeated antenatal corticosteroids: effects on cerebral palsy and childhood behavior. *Am J Obstet Gynecol*, 190(3):588–95.

Frusca T, Soregaroli M, Valcamonico A, Scalvi L, Bonera R, Bianchi U. 2001. Effect of betamethasone on computerized cardiotocographic parameters in preterm growth-restricted fetuses with and without cerebral vasodilation. *Gynecol Obstet Invest*, 52(3):194–7.

Frye CA, Wawrzycki J. 2003. Effect of prenatal stress and gonadal hormone condition on depressive behaviors of female and male rats. *Horm Behav*, 44(4):319–26.

Germain A, Kupfer DJ. 2008. Circadian rhythm disturbances in depression. *Hum Psychopharmacol*, 23(7):571–85.

Giannakoulopoulos X, Teixeira J, Fisk N, Glover V. 1999. Human fetal and maternal noradrenaline responses to invasive procedures. *Pediatr Res*, 45(4 Pt 1):494–9.

Gitau R, Fisk NM, Teixeira JM, Cameron A, Glover V. 2001. Fetal hypothalamic-pituitary-adrenal stress responses to invasive procedures are independent of maternal responses. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(1):104–9.

Grammatopoulos DK. 2008. Placental corticotrophin-releasing hormone and its receptors in human pregnancy and labour: still a scientific enigma. *J Neuroendocrinol*, 20(4):432–8.

- Grizenko N, Shayan YR, Polotskaia A, Ter-Stepanian M, Joober R. 2008. Relation of maternal stress during pregnancy to symptom severity and response to treatment in children with ADHD. *J Psychiatry Neurosci*, 33(1):10–6.
- Groh T. 2009. Zur Entstehung der Schlafstadien und ihrer chronischen Beeinflussung durch eine pränatale Glukokortikoidbehandlung zur Förderung der Lungenreifung. Jena, Univ., Diss.
- Guijarro C, Rutz S, Rothmaier K, Turiault M, Zhi Q, Naumann T, Frotscher M, Tronche F, Jackisch R, Kretz O. 2006. Maturation and maintenance of cholinergic medial septum neurons require glucocorticoid receptor signaling. *J Neurochem*, 97(3):747–58.
- Gutteling BM, de Weerth C, Buitelaar JK. 2004. Maternal prenatal stress and 4-6 year old children's salivary cortisol concentrations pre- and post-vaccination. *Stress*, 7(4):257–60.
- Gutteling BM, de Weerth C, Buitelaar JK. 2005. Prenatal stress and children's cortisol reaction to the first day of school. *Psychoneuroendocrinology*, 30(6):541–9.
- Gutteling BM, de Weerth C, Zandbelt N, Mulder EJH, Visser GHA, Buitelaar JK. 2006. Does maternal prenatal stress adversely affect the child's learning and memory at age six? *J Abnorm Child Psychol*, 34(6):789–98.
- Halpain S, Dehmelt L. 2006. The MAP1 family of microtubule-associated proteins. *Genome Biol*, 7(6):224.
- Hasler G, Drevets WC, Manji HK, Charney DS. 2004. Discovering endophenotypes for major depression. *Neuropsychopharmacology*, 29(10):1765–81.
- Hassan AH, von Rosenstiel P, Patchev VK, Holsboer F, Almeida OF. 1996. Exacerbation of apoptosis in the dentate gyrus of the aged rat by dexamethasone and the protective role of corticosterone. *Exp Neurol*, 140(1):43–52.
- Hauser J, Dettling-Artho A, Pilloud S, Maier C, Knapman A, Feldon J, Pryce CR. 2007. Effects of prenatal dexamethasone treatment on postnatal physical, endocrine, and social development in the common marmoset monkey. *Endocrinology*, 148(4):1813–22.
- Hemmelmann C, Horn M, Susse T, Vollandt R, Weiss S. 2005. New concepts of multiple tests and their use for evaluating high-dimensional EEG data. *J Neurosci Methods*, 142(2):209–17.
- Hennessy DP, Coghlan JP, Hardy KJ, Scoggins BA, Wintour EM. 1982. The origin of cortisol in the blood of fetal sheep. *J Endocrinol*, 95(1):71–9.

- Hobson JA, Stickgold R, Pace-Schott EF. 1998. The neuropsychology of REM sleep dreaming. *Neuroreport*, 9(3):R1–14.
- Huang WL, Beazley LD, Quinlivan JA, Evans SF, Newnham JP, Dunlop SA. 1999. Effect of corticosteroids on brain growth in fetal sheep. *Obstet Gynecol*, 94(2):213–8.
- Hughes JR. 2008. Progress in predicting seizure episodes with nonlinear methods. *Epilepsy Behav*, 12(1):128–35.
- Huizink AC, Robles de Medina PG, Mulder EJH, Visser GHA, Buitelaar JK. 2003. Stress during pregnancy is associated with developmental outcome in infancy. *J Child Psychol Psychiatry*, 44(6):810–8.
- Huizink AC, Mulder EJH, Buitelaar JK. 2004. Prenatal stress and risk for psychopathology: specific effects or induction of general susceptibility? *Psychol Bull*, 130(1):115–42.
- Huttunen MO, Niskanen P. 1978. Prenatal loss of father and psychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*, 35(4):429–31.
- Joels M, de Kloet ER. 1994. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the brain. Implications for ion permeability and transmitter systems. *Prog Neurobiol*, 43(1):1–36.
- Johnstone HA, Wigger A, Douglas AJ, Neumann ID, Landgraf R, Seckl JR, Russell JA. 2000. Attenuation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis stress responses in late pregnancy: changes in feedforward and feedback mechanisms. *J Neuroendocrinol*, 12(8):811–22.
- Jones MDJ, Traystman RJ. 1984. Cerebral oxygenation of the fetus, newborn, and adult. *Semin Perinatol*, 8(3):205–16.
- Kaiser S, Sachser N. 2005. The effects of prenatal social stress on behaviour: mechanisms and function. *Neurosci Biobehav Rev*, 29(2):283–94.
- Kajantie E, Raivio T, Janne OA, Hovi P, Dunkel L, Andersson S. 2004. Circulating glucocorticoid bioactivity in the preterm newborn after antenatal betamethasone treatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(8):3999–4003.
- Kang G, Ye K, Liu N, Allison DB, Gao G. 2009. Weighted multiple hypothesis testing procedures. *Stat Appl Genet Mol Biol*, 8(1):Article23.
- Khashan AS, Abel KM, McNamee R, Pedersen MG, Webb RT, Baker PN, Kenny LC, Mortensen PB. 2008. Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. *Arch Gen Psychiatry*, 65(2):146–52.

- Kinney D, Hyman W, Greetham C, Tramer Sa. 1999. Increased relative risk for schizophrenia and prenatal exposure to a severe tornado. *Schizophrenia Research*, 13:45–46.
- Kleinhaus K, Steinfeld S, Balaban J, Goodman L, Craft TS, Malaspina D, Myers MM, Moore H. 2010. Effects of excessive glucocorticoid receptor stimulation during early gestation on psychomotor and social behavior in the rat. *Dev Psychobiol*, 52(2):121–32.
- de Kloet ER, Oitzl MS, Joels M. 1999. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci*, 22(10):422–6.
- Koenig JI, Elmer GI, Shepard PD, Lee PR, Mayo C, Joy B, Hercher E, Brady DL. 2005. Prenatal exposure to a repeated variable stress paradigm elicits behavioral and neuroendocrinological changes in the adult offspring: potential relevance to schizophrenia. *Behav Brain Res*, 156(2):251–61.
- Kranendonk G, Hopster H, Fillerup M, Ekkel ED, Mulder EJH, Taverne MAM. 2006. Cortisol administration to pregnant sows affects novelty-induced locomotion, aggressive behaviour, and blunts gender differences in their offspring. *Horm Behav*, 49(5):663–72.
- Laplante DP, Barr RG, Brunet A, Galbaud du Fort G, Meaney ML, Saucier JF, Zelazo PR, King S. 2004. Stress during pregnancy affects general intellectual and language functioning in human toddlers. *Pediatr Res*, 56(3):400–10.
- Lazarus RS. 1974. Psychological stress and coping in adaptation and illness. *Int J Psychiatry Med*, 5(4):321–33.
- Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN. 2000. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(20):11032–7.
- Liebermann MW. 1963. Early developmental stress and later behaviour. *Science*, 141:824–5.
- Liggins GC. 1969. Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. *J Endocrinol*, 45(4):515–23.
- Lohle M, Muller T, Wicher C, Roedel M, Schubert H, Witte OW, Nathanielsz PW, Schwab M. 2005. Betamethasone effects on fetal sheep cerebral blood flow are not dependent on maturation of cerebrovascular system and pituitary-adrenal axis. *J Physiol*, 564(Pt 2):575–88.
- Lu J, Greco MA, Shiromani P, Saper CB. 2000. Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *J Neurosci*, 20(10):3830–42.

- Lu J, Sherman D, Devor M, Saper CB. 2006. A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature*, 441(7093):589–94.
- Lupien SJ, Fiocco A, Wan N, Maheu F, Lord C, Schramek T, Tu MT. 2005. Stress hormones and human memory function across the lifespan. *Psychoneuroendocrinology*, 30(3):225–42.
- MacArthur BA, Howie RN, Dezoete JA, Elkins J. 1982. School progress and cognitive development of 6-year-old children whose mothers were treated antenatally with betamethasone. *Pediatrics*, 70(1):99–105.
- Maccari S, Darnaudery M, Morley-Fletcher S, Zuena AR, Cinque C, Van Reeth O. 2003. Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoid hormones. *Neurosci Biobehav Rev*, 27(1-2):119–27.
- Malaspina D, Corcoran C, Kleinhaus KR, Perrin MC, Fennig S, Nahon D, Friedlander Y, Harlap S. 2008. Acute maternal stress in pregnancy and schizophrenia in offspring: a cohort prospective study. *BMC Psychiatry*, 8:71.
- Mastorakos G, Ilias I. 2003. Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. *Ann N Y Acad Sci*, 997:136–49.
- McArthur S, McHale E, Dalley JW, Buckingham JC, Gillies GE. 2005. Altered mesencephalic dopaminergic populations in adulthood as a consequence of brief perinatal glucocorticoid exposure. *J Neuroendocrinol*, 17(8):475–82.
- McCormick DA, Bal T. 1997. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci*, 20:185–215.
- McIntosh GH, Baghurst KI, Potter BJ, Hetzel BS. 1979. Foetal brain development in the sheep. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 5(2):103–14.
- McMillen IC, Robinson JS. 2005. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev*, 85(2):571–633.
- McNerney ME, Szeto HH. 1990. Automated identification and quantitation of four patterns of electrocortical activity in the near-term fetal lamb. *Pediatr Res*, 28(2):106–10.
- Meaney MJ, Szyf M, Seckl JR. 2007. Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function and health. *Trends Mol Med*, 13(7):269–77.
- Meyer JS. 1985. Biochemical effects of corticosteroids on neural tissues. *Physiol Rev*, 65(4):946–1020.

- Meyer U, Feldon J. 2010. Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. *Prog Neurobiol*, 90(3):285–326.
- Micheloyannis S, Flitzanis N, Papanikolaou E, Bourkas M, Terzakis D, Arvanitis S, Stam CJ. 1998. Usefulness of non-linear EEG analysis. *Acta Neurol Scand*, 97(1):13–9.
- Miller DB, O’Callaghan JP. 2002. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism*, 51(6 Suppl 1):5–10.
- Minton JE, Blecha F. 1990. Effect of acute stressors on endocrinological and immunological functions in lambs. *J Anim Sci*, 68(10):3145–51.
- Mirmiran M. 1995. The function of fetal/neonatal rapid eye movement sleep. *Behav Brain Res*, 69(1-2):13–22.
- Modi N, Lewis H, Al-Naqeeb N, Ajayi-Obe M, Dore CJ, Rutherford M. 2001. The effects of repeated antenatal glucocorticoid therapy on the developing brain. *Pediatr Res*, 50(5):581–5.
- Morley-Fletcher S, Darnaudery M, Koehl M, Casolini P, Van Reeth O, Maccari S. 2003. Prenatal stress in rats predicts immobility behavior in the forced swim test. Effects of a chronic treatment with tianeptine. *Brain Res*, 989(2):246–51.
- Morley-Fletcher S, Darnaudery M, Mocaer E, Froger N, Lanfumey L, Laviola G, Casolini P, Zuena AR, Marzano L, Hamon M, Maccari S. 2004. Chronic treatment with imipramine reverses immobility behaviour, hippocampal corticosteroid receptors and cortical 5-HT(1A) receptor mRNA in prenatally stressed rats. *Neuropharmacology*, 47(6):841–7.
- Mueller BR, Bale TL. 2008. Sex-specific programming of offspring emotionality after stress early in pregnancy. *J Neurosci*, 28(36):9055–65.
- Mulder EJ, Derks JB, Visser GH. 1997. Antenatal corticosteroid therapy and fetal behaviour: a randomised study of the effects of betamethasone and dexamethasone. *Br J Obstet Gynaecol*, 104(11):1239–47.
- Mulder EJ, Visser GH, Bekedam DJ, Prechtl HF. 1987. Emergence of behavioural states in fetuses of type-1-diabetic women. *Early Hum Dev*, 15(4):231–51.
- Mulder EJH, de Heus R, Visser GHA. 2009. Antenatal corticosteroid therapy: short-term effects on fetal behaviour and haemodynamics. *Semin Fetal Neonatal Med*, 14(3):151–6.
- Mulder EJH, Koenen SV, Blom I, Visser GHA. 2004. The effects of antenatal betamethasone administration on fetal heart rate and behaviour depend on gestational age. *Early Hum Dev*, 76(1):65–77.

- Mulder EJH, Robles de Medina PG, Huizink AC, Van den Bergh BRH, Buitelaar JK, Visser GHA. 2002. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. *Early Hum Dev*, 70(1-2):3–14.
- Muller T, Lohle M, Schubert H, Bauer R, Wicher C, Antonow-Schlorke I, Sliwka U, Nathanielsz PW, Schwab M. 2002. Developmental changes in cerebral autoregulatory capacity in the fetal sheep parietal cortex. *J Physiol*, 539(Pt 3):957–67.
- Multon O, Senat MV, Minoui S, Hue MV, Frydman R, Ville Y. 1997. Effect of antenatal betamethasone and dexamethasone administration on fetal heart rate variability in growth-retarded fetuses. *Fetal Diagn Ther*, 12(3):170–7.
- Muneoka K, Mikuni M, Ogawa T, Kitera K, Kamei K, Takigawa M, Takahashi K. 1997. Prenatal dexamethasone exposure alters brain monoamine metabolism and adrenocortical response in rat offspring. *Am J Physiol*, 273(5 Pt 2):R1669–75.
- Murphy BP, Inder TE, Huppi PS, Warfield S, Zientara GP, Kikinis R, Jolesz FA, Volpe JJ. 2001. Impaired cerebral cortical gray matter growth after treatment with dexamethasone for neonatal chronic lung disease. *Pediatrics*, 107(2):217–21.
- Myhrman A, Rantakallio P, Isohanni M, Jones P, Partanen U. 1996. Unwantedness of a pregnancy and schizophrenia in the child. *Br J Psychiatry*, 169(5):637–40.
- Nathanielsz PW, Bailey A, Poore ER, Thorburn GD, Harding R. 1980. The relationship between myometrial activity and sleep state and breathing in fetal sheep throughout the last third of gestation. *Am J Obstet Gynecol*, 138(6):653–9.
- Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. 2002. Neurobiology of depression. *Neuron*, 34(1):13–25.
- Niederhofer H, Reiter A. 2004. Prenatal maternal stress, prenatal fetal movements and perinatal temperament factors influence behavior and school marks at the age of 6 years. *Fetal Diagn Ther*, 19(2):160–2.
- Niezgoda J, Wronska D, Pierzchala K, Bobek S, Kahl S. 1987. Lack of adaptation to repeated emotional stress evoked by isolation of sheep from the flock. *Zentralbl Veterinarmed A*, 34(10):734–9.
- Nijhuis JG, Prechtl HF, Martin CBJ, Bots RS. 1982. Are there behavioural states in the human fetus? *Early Hum Dev*, 6(2):177–95.
- O'Connor TG, Caprariello P, Blackmore ER, Gregory AM, Glover V, Fleming P. 2007. Prenatal mood disturbance predicts sleep problems in infancy and toddlerhood. *Early Hum Dev*, 83(7):451–8.

- van Os J, Selten JP. 1998. Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. The May 1940 invasion of The Netherlands. *Br J Psychiatry*, 172:324–6.
- Pace-Schott EF, Hobson JA. 2002. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat Rev Neurosci*, 3(8):591–605.
- Pierce BN, Hemsforth PH, Rivalland ETA, Wagenmaker ER, Morrissey AD, Papargiris MM, Clarke IJ, Karsch FJ, Turner AI, Tilbrook AJ. 2008. Psychosocial stress suppresses attractivity, proceptivity and pulsatile LH secretion in the ewe. *Horm Behav*, 54(3):424–34.
- Pryce CR. 2008. Postnatal ontogeny of expression of the corticosteroid receptor genes in mammalian brains: inter-species and intra-species differences. *Brain Res Rev*, 57(2):596–605.
- Rapp P, Zimmerman I, Albano Aa. 1985. Dynamics of spontaneous neural activity in the simian motor cortex: The dimension of chaotic neurons. *Physics Letters A*, 4:335–338.
- Reul JM, de Kloet ER. 1985. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, 117(6):2505–11.
- Rodriguez A, Bohlin G. 2005a. Are maternal smoking and stress during pregnancy related to ADHD symptoms in children? *J Child Psychol Psychiatry*, 46(3):246–54.
- Rodriguez A, Bohlin G. 2005b. Are maternal smoking and stress during pregnancy related to ADHD symptoms in children? *J Child Psychol Psychiatry*, 46(3):246–54.
- Romanini C, Rizzo G. 1995. Fetal behaviour in normal and compromised fetuses. An overview. *Early Hum Dev*, 43(2):117–31.
- Rotmensch S, Lev S, Kovo M, Efrat Z, Zahavi Z, Lev N, Celentano C, Ben-Rafael Z. 2005. Effect of betamethasone administration on fetal heart rate tracing: a blinded longitudinal study. *Fetal Diagn Ther*, 20(5):371–6.
- Roussel S, Hemswortha, Boissyc, and DP. 2004. Effects of repeated stress during pregnancy in ewes on the behavioural and physiological responses to stressful events and birth weight of their offspring. *Applied Animal Behaviour Science*, 85(3):259–276.
- Rüsse I, Sinowatz F. 1998. *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere*. Parey Bei Mvs.
- Sanchez MM, Young LJ, Plotsky PM, Insel TR. 2000. Distribution of corticosteroid receptors in the rhesus brain: relative absence of glucocorticoid receptors in the hippocampal formation. *J Neurosci*, 20(12):4657–68.

- Sandman CA, Glynn L, Schetter CD, Wadhwa P, Garite T, Chicz-DeMet A, Hobel C. 2006. Elevated maternal cortisol early in pregnancy predicts third trimester levels of placental corticotropin releasing hormone (CRH): priming the placental clock. *Peptides*, 27(6):1457–63.
- Scaccianoce S, Catalani A, Lombardo K, Consoli C, Angelucci L. 2001. Maternal glucocorticoid hormone influences nerve growth factor expression in the developing rat brain. *Neuroreport*, 12(13):2881–4.
- Schleussner E, Schneider U. 2004. Developmental changes of auditory-evoked fields in fetuses. *Exp Neurol*, 190 Suppl 1:S59–64.
- Schneider ML, Roughton EC, Koehler AJ, Lubach GR. 1999. Growth and development following prenatal stress exposure in primates: an examination of ontogenetic vulnerability. *Child Dev*, 70(2):263–74.
- Schwab K, Groh T, Schwab M, Witte H. 2009. Nonlinear analysis and modeling of cortical activation and deactivation patterns in the immature fetal electrocorticogram. *Chaos*, 19(1):015111.
- Schwab K, Groh T, Schwab M, Witte Ha. 2006a. Time-variant analysis of nonlinear stability and bispectral measures to quantify the development of fetal sleep States. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 1:1454–1457.
- Schwab M. 2009. Intrauterine Programmierung von Störungen der Hirnfunktion im späteren Leben. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch*, 49(1):13–28.
- Schwab M, Lichmann G, Maurer I, Loehle M, Nathanielsz P, Witte O. 2006b. Antenatal glucocorticoids suppress mitochondrial activity but do not decrease ATP content in the fetal ovine brain. *J Soc Gynecol Invest*, 13(supp):732.
- Schwab M, Roedel M, Anwar MA, Müller T, Schubert H, Buchwalder LF, Walter B, Nathanielsz W. 2000. Effects of betamethasone administration to the fetal sheep in late gestation on fetal cerebral blood flow. *J Physiol*, 528(Pt 3):619–32.
- Schwab M, Schmidt K, Roedel M, Müller T, Schubert H, Anwar MA, Nathaniels PW. 2001. Non-linear changes of electrocortical activity after antenatal betamethasone treatment in fetal sheep. *J Physiol*, 531(Pt 2):535–43.
- Selton D, Andre M, Hascoet JM. 2000. Normal EEG in very premature infants: reference criteria. *Clin Neurophysiol*, 111(12):2116–24.
- Sjostrom K, Valentin L, Thelin T, Marsal K. 1997. Maternal anxiety in late pregnancy and fetal hemodynamics. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 74(2):149–55.

- Sjostrom K, Valentin L, Thelin T, Marsal K. 2002. Maternal anxiety in late pregnancy: effect on fetal movements and fetal heart rate. *Early Hum Dev*, 67(1-2):87–100.
- Sloboda DM, Challis JRG, Moss TJM, Newnham JP. 2005. Synthetic glucocorticoids: antenatal administration and long-term implications. *Curr Pharm Des*, 11(11):1459–72.
- Sloboda DM, Moss TJM, Li S, Matthews SG, Challis JRG, Newnham JP. 2008. Expression of glucocorticoid receptor, mineralocorticoid receptor, and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 in the fetal and postnatal ovine hippocampus: ontogeny and effects of prenatal glucocorticoid exposure. *J Endocrinol*, 197(2):213–20.
- Slotkin TA, Barnes GA, McCook EC, Seidler FJ. 1996. Programming of brainstem serotonin transporter development by prenatal glucocorticoids. *Brain Res Dev Brain Res*, 93(1-2):155–61.
- Smith J, Ferguson D, Jauregui G, Panarace M, Medina M, Lehnert S, Hill JR. 2008. Short-term maternal psychological stress in the post-conception period in ewes affects fetal growth and gestation length. *Reproduction*, 136(2):259–65.
- Son GH, Geum D, Chung S, Kim EJ, Jo JH, Kim CM, Lee KH, Kim H, Choi S, Kim HT, Lee CJ, Kim K. 2006. Maternal stress produces learning deficits associated with impairment of NMDA receptor-mediated synaptic plasticity. *J Neurosci*, 26(12):3309–18.
- Sontag LW. 1952. Differential etiological factors in psychopathic behavior in children. *Am J Orthopsychiatry*, 22(2):223–230.
- Speirs HJL, Seckl JR, Brown RW. 2004. Ontogeny of glucocorticoid receptor and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type-1 gene expression identifies potential critical periods of glucocorticoid susceptibility during development. *J Endocrinol*, 181(1):105–16.
- Stam CJ. 2005. Nonlinear dynamical analysis of EEG and MEG: review of an emerging field. *Clin Neurophysiol*, 116(10):2266–301.
- Stone DJ, Walsh JP, Sebro R, Stevens R, Pantazopolous H, Benes FM. 2001. Effects of pre- and postnatal corticosterone exposure on the rat hippocampal GABA system. *Hippocampus*, 11(5):492–507.
- Sun X, Rusak B, Semba K. 2000. Electrophysiology and pharmacology of projections from the suprachiasmatic nucleus to the ventromedial preoptic area in rat. *Neuroscience*, 98(4):715–28.
- Szeto HH. 1990. Spectral edge frequency as a simple quantitative measure of the maturation of electrocortical activity. *Pediatr Res*, 27(3):289–92.

- Takens Fa. 1981. Detecting strange attractors in turbulence. In: Rand D, Young LS, Hrsg. Dynamical systems and turbulence. New York: Springer.
- Tangalakis K, Coghlan JP, Connell J, Crawford R, Darling P, Hammond VE, Haralambidis J, Penschow J, Wintour EM. 1989. Tissue distribution and levels of gene expression of three steroid hydroxylases in ovine fetal adrenal glands. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 120(2):225–32.
- Tasker JG. 2006. Rapid glucocorticoid actions in the hypothalamus as a mechanism of homeostatic integration. *Obesity (Silver Spring)*, 14 Suppl 5:259S–265S.
- Tasker JG, Di S, Malcher-Lopes R. 2006. Minireview: rapid glucocorticoid signaling via membrane-associated receptors. *Endocrinology*, 147(12):5549–56.
- Tenenbaum G, Furst D, Weingarten G. 1985. A statistical reevaluation of the STAI anxiety questionnaire. *J Clin Psychol*, 41(2):239–44.
- Thakor NV, Tong S. 2004. Advances in quantitative electroencephalogram analysis methods. *Annu Rev Biomed Eng*, 6:453–95.
- Todd WD, Gibson JL, Shaw CS, Blumberg MS. 2010. Brainstem and hypothalamic regulation of sleep pressure and rebound in newborn rats. *Behav Neurosci*, 124(1):69–78.
- Tsuno N, Besset A, Ritchie K. 2005. Sleep and depression. *J Clin Psychiatry*, 66(10):1254–69.
- Vierin M, Bouissou MF. 2001. Pregnancy is associated with low fear reactions in ewes. *Physiol Behav*, 72(4):579–87.
- de Vries JJ, Visser GH, Prechtl HF. 1982. The emergence of fetal behaviour. I. Qualitative aspects. *Early Hum Dev*, 7(4):301–22.
- Wada H, Inagaki N, Itowi N, Yamatodani A. 1991. Histaminergic neuron system in the brain: distribution and possible functions. *Brain Res Bull*, 27(3-4):367–70.
- Watson JB, Mednick SA, Huttunen M, Wang X. 1999. Prenatal teratogens and the development of adult mental illness. *Dev Psychopathol*, 11(3):457–66.
- Weinstock M. 2008. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev*, 32(6):1073–86.
- Welberg LA, Seckl JR. 2001. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *J Neuroendocrinol*, 13(2):113–28.

- Woods LL, Weeks DA. 2005. Prenatal programming of adult blood pressure: role of maternal corticosteroids. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 289(4):R955–62.
- Wurtman RJ. 2002. Stress and the adrenocortical control of epinephrine synthesis. *Metabolism*, 51(6 Suppl 1):11–4.
- Yang J, Han H, Cao J, Li L, Xu L. 2006. Prenatal stress modifies hippocampal synaptic plasticity and spatial learning in young rat offspring. *Hippocampus*, 16(5):431–6.
- Zagron G, Weinstock M. 2006. Maternal adrenal hormone secretion mediates behavioural alterations induced by prenatal stress in male and female rats. *Behav Brain Res*, 175(2):323–8.
- Zarrow MX, Philpott JE, Denenberg VH. 1970. Passage of ¹⁴C-4-corticosterone from the rat mother to the foetus and neonate. *Nature*, 226(5250):1058–9.
- Zayan R, Dantzer R. 1990. Social stress in domestic animals - a seminar in the Community Programme for the Coordination of Agricultural Research, held in Brussels, Belgium, 26-27 May 1988, Bd v. 53 von Current topics in veterinary medicine and animal science. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Zhang LX, Levine S, Dent G, Zhan Y, Xing G, Okimoto D, Kathleen Gordon M, Post RM, Smith MA. 2002. Maternal deprivation increases cell death in the infant rat brain. *Brain Res Dev Brain Res*, 133(1):1–11.

Anhang

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- Herr Prof. Dr. med. Matthias Schwab
- Frau Dr. Karin Schwab,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und

dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 02.03.2011

Florian Rakers

Danksagung

Mein ausdrücklicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Matthias Schwab für die Überlassung des Themas. Ohne seine fachliche und menschliche Begleitung während der aufwendigen Versuchsphasen sowie bei der Analyse der ECoG-Daten und der Erstellung des Manuskripts wäre diese Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen. Besonders möchte ich mich bei ihm auch für die Möglichkeit der Präsentation meiner Ergebnisse in den USA und Chile bedanken.

Frau Dr. Karin Schwab danke ich sehr für ihre kompetente und schnelle Hilfe bei der nicht-linearen Analyse sowie bei der statistischen Auswertung der Daten.

Herrn Dr. Harald Schubert danke ich für die Bereitstellung der Versuchsanordnung sowie für seine außerordentliche Flexibilität bei der Versuchsplanung.

Dem Team des Instituts für Versuchstierkunde gilt mein besonderer Dank für die gute und gelungene Integration in die Arbeitsgruppe. Ohne die menschliche und fachliche Unterstützung hätte die Arbeit nicht so viel Freude bereitet.

Ganz herzlich danke ich meinen Eltern die mich während der Promotion stets wohlwollend unterstützt haben.

Ich danke Vilmar und allen Freunden, die während den langen Versuchs- und Analysephasen außerordentliche Rücksicht auf mich genommen haben.