

Zentralinstitut für Seelische Gesundheit
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Medizinische Fakultät Mannheim
(Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Meyer-Lindenberg)

Cortisol, Cortison und Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) im
Fruchtwasser im zweiten Trimenon der Schwangerschaft: Effekte von
frühen Lebensereignissen und aktuellem mütterlichem Stress

Inauguraldissertation
zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades
der
Medizinischen Fakultät Mannheim
der Ruprecht-Karls-Universität
zu
Heidelberg

vorgelegt von
Ferdinand Michael Hendlmeier

aus
Dachau

2018

Dekan: Prof. Dr. Sergeij Goerd
Referent: Prof. (apl.) Dr. med. Michael Deuschle

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 EINLEITUNG	1
1.1 Einführung	1
1.2 Stress während der Schwangerschaft.....	2
1.3 Stress vor der Schwangerschaft.....	3
1.4 Transgenerationale Effekte von Stress	4
1.4.1 Epigenetik.....	4
1.4.2 11 β -HSD2.....	5
1.4.3 BDNF.....	6
1.5 Hypothese und Zielsetzung	7
2 MATERIAL UND METHODEN	9
2.1 Studienablauf	9
2.2 Biologische Proben	11
2.2.1 Cortisol und Cortison im Fruchtwasser	12
2.2.2 BDNF, Brain-Derived Neurotrophic Factor.....	12
2.2.3 Nabelschnurblut	12
2.3 Testinstrumente.....	13
2.3.1 Life Experiences Survey, LES	13
2.3.2 Edinburgh Postnatal Depression Scale, EDPS.....	13
2.3.3 Perceived Stress Scale, PSS	13
2.3.4 Prenatal Distress Questionnaire, PDQ.....	13
2.3.5 State-Trait-Angstinventar, STAI-S/T.....	14
2.3.6 NEO-Fünf-Faktoren-Inventar, NEO-FFI	14
2.3.7 Resilienzskala RS-11	14
2.3.8 Childhood Trauma Questionnaire, CTQ.....	14
2.3.9 Prenatal Attachment Inventory, PAI	15
2.3.10 Soz-U-Fragebogen, K14.....	15
2.3.11 ASQ	15
2.3.12 Mini International Neuropsychiatric Interview, M.I.N.I.....	15

2.3.13	Standardisiertes Interview	16
2.4	Geburtsparameter der Kinder	16
2.5	Kooperationspartner.....	17
2.6	Ethikvotum.....	17
2.7	Statistische Auswertung.....	17
3	ERGEBNISSE.....	19
3.1	Wechselbeziehung der unabhängigen Variablen	19
3.1.1	Uhrzeit der Amniozentese	19
3.2	Effekte von Stress auf die abhängigen Variablen 11 β -HSD2-Aktivität, Glukokortikoid-Konzentration und BDNF-Konzentration im Fruchtwasser.....	20
3.2.1	Effekte von <i>affektiver Störung, erlebtem Stress, Familieneinkommen</i> und <i>ELS</i> der Mutter	20
3.2.2	Effekte von Stress in einem kontrollierten Modell	21
3.2.3	<i>Early Life Stress</i> (CTQ) und BDNF-Konzentration im Fruchtwasser	22
3.2.4	<i>Aktuelle Affektive Störung</i> und 11 β -HSD2-Aktivität	22
3.2.5	<i>Familieneinkommen</i> und Glukokortikoid-Konzentration	23
3.2.6	<i>Durch Amniozentese induzierter Stress</i> und Glukokortikoide im Fruchtwasser.....	24
3.3	BDNF-Genotyp, Cortisol, Cortison und BDNF im Fruchtwasser	25
3.3.1	Fetaler BDNF-Genotyp und BDNF im Fruchtwasser.....	25
3.3.2	Glukokortikoide und BDNF im Fruchtwasser	25
3.4	Effekte der abhängigen Variablen auf die Geburtsparameter	25
4	DISKUSSION.....	27
4.1	Assoziation von mütterlichem Stress mit BDNF	27
4.2	11 β -HSD2 Regulation	29
4.3	HHN-System	30
4.4	Limitationen	31
4.5	Ausblick	32
5	ZUSAMMENFASSUNG	33
6	LEBENS LAUF.....	34

7 DANKSAGUNG35

8 LITERATURVERZEICHNIS36

1 EINLEITUNG

1.1 Einführung

Auf der Suche nach den Gründen für verschiedene Erkrankungen, sowohl des Körpers als auch der Psyche, rückt die Zeit vor der Geburt eines Menschen immer mehr in den Fokus der Wissenschaft. Neben genetischen Faktoren, die das Risiko für Krankheiten modulieren, gibt es auch Umweltfaktoren, die das Risiko für bestimmte Krankheiten verändern. Vor der Geburt eines Menschen stellt der Körper der Mutter diese Umwelt dar.

Es ist wahrscheinlich, dass prä- und perinatale Ereignisse den Phänotyp, sowohl bezüglich körperlicher und physiologischer Merkmale als auch hinsichtlich neurobehavioraler Aspekte, bis ins Erwachsenenalter beeinflussen.

Eine wichtige Variable, die einen Teil dieser Umweltfaktoren ausmacht, ist Stress, der im Leben der werdenden Mutter auf unterschiedliche Art und Weise entsteht. Einwirkungen auf den Organismus, die eine Anpassungssituation erfordern, werden als Stressoren verstanden (McEwen, 1998; Selye, 1956). Die soziale Situation der Mutter in Form des Einkommens, des Ausbildungsabschlusses oder etwa der beruflichen Situation, psychische Erkrankungen wie etwa Depression, körperliche Erkrankungen wie Diabetes mellitus oder Adipositas, aber auch die subjektive Einschätzung der momentanen Lebenssituation spielen eine Rolle und sind mit Stress assoziiert. Das Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-System (im Folgenden HHN-System) und das autonome Nervensystem sind dabei wesentliche Stress responsive Systeme, die zur Anpassung des Organismus beitragen. Daher ist eine abhängige Variable der Stresssysteme die Cortisol-Konzentration und somit die Aktivität des HHN-Systems. Cortisol kann in verschiedenen Körperflüssigkeiten wie Serum, Urin, Speichel oder Fruchtwasser gemessen werden (Turpeinen & Hamalainen, 2013).

Aufgrund der Produktion von Corticotropin-releasing Hormone und eines positiven Feedback-Mechanismus steigen während der Schwangerschaft die Cortisol-Werte im Plasma der Mutter erheblich. Dies geschieht physiologisch und ist für die Organogenese des Fetus unbedingt notwendig (Togher et al., 2014).

Auch das autonome Nervensystem, Sympatikus und Parasympatikus spielen eine Rolle bei den Auswirkungen von Stress. Studien, die dieses System des Stresses im Körper untersuchen, wählen beispielsweise die Herzfrequenzvariabilität, gemessen mithilfe elektronischer Ableitung der Herzaktivität, als stabilen Parameter der Balance zwischen beiden Systeme (La Marca-Ghaemmaghami, Dainese, La Marca, Zimmermann, & Ehlert, 2015).

Beim Menschen stellen ethische Aspekte die Erforschung der Schwangerschaft vor besondere Herausforderungen.

Eine Möglichkeit, einen frühen Einblick in das Leben des ungeborenen Kindes auf eine ethisch akzeptable Weise zu erhalten, bietet die Amniozentese. Hierbei handelt

es sich um eine gynäkologische Untersuchung, bei der unter Ultraschallkontrolle durch eine Punktionsnadel Fruchtwasser aus der Fruchtblase mit darin enthaltenen Fetalzellen zur zytologischen Beurteilung entnommen wird. Die Amniozentese erfolgt nach der 15. Schwangerschaftswoche und kann aus verschiedenen medizinischen Gründen indiziert sein (Kähler, Gembruch, Heling, Henrich, & Schramm, 2013). Dazu gehören ein Alter der Mutter ≥ 35 , ein auffälliges Erst-Trimester Ultraschallscreening oder ein auffälliger Serumbefund hinsichtlich alpha-Fetoprotein (AFP), Choriongonadotropin (hCG) oder Estriol.

Vor der 20. bis 25. Schwangerschaftswoche ist die Haut des Fetus noch nicht vollständig keratinisiert, sodass es zwischen der 10. und 20. Schwangerschaftswoche über die Umbilikalgefäße, die Plazenta und die Haut des Fetus zu freier bidirektionaler Diffusion zwischen Fruchtwasser und Fetus kommt (Underwood, Gilbert, & Sherman, 2005). Dadurch ähnelt sich in dieser Zeit die Zusammensetzung des Fruchtwassers mit der, des fetalen Blutplasmas (Cho, Shan, Winsor, & Diamandis, 2007).

Da es sich bei Cortisol um ein lipophiles Hormon handelt, kann es nahezu frei zwischen der Zirkulation des Feten und der Mutter diffundieren und dadurch ein Konzentrationsausgleich stattfinden (Harris & Seckl, 2011). Somit ist das Fruchtwasser eine ideale Schnittstelle zwischen Umwelt und Fetus. Aus der Zusammensetzung des Fruchtwassers in der 15. Schwangerschaftswoche können also Rückschlüsse von den Auswirkungen der mütterlichen Lebensbedingungen auf die hormonelle Zusammensetzung des kindlichen Plasmas gezogen werden.

1.2 Stress während der Schwangerschaft

Im Tierversuch konnte eine Reprogrammierung der HHN-Achse durch Stress in der Pränatalperiode gezeigt werden. Unter anderem werden hierdurch Lerndefizite, ängstliches Verhalten, reduzierte Aufmerksamkeit, veränderte Funktion des Immunsystems und kardiovaskuläre Veränderungen beim Nachwuchs verursacht. Dies tritt auch noch weit nach der Geburt bei Tieren auf, deren Mütter während der Schwangerschaft verschiedenen Stressoren ausgesetzt waren. Diese Ergebnisse sind über verschiedene Spezies hinweg reproduzierbar. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass nicht nur die Art des Stressors, sondern auch der Zeitpunkt seiner Einwirkung, also beispielsweise während der frühen Pränatalperiode oder kurz vor der Geburt, eine große Rolle spielt. Auch beim Menschen konnten diese Effekte gezeigt werden, welche jedoch schlechter reproduzierbar sind. Dies liegt wahrscheinlich an ungünstigeren experimentellen Bedingungen und einer größeren Anzahl potentieller konfundierender Variablen. Gemeinsam war den Studien, dass mütterlicher Stress in der Pränatalperiode später beim Nachwuchs zu erhöhten basalen Cortisol-Konzentrationen führt und es zu einer vermehrten Ausschüttung des Cortisols bei Stressreizen kommt. (Glover, O'Connor, & O'Donnell, 2010).

Erwachsene Nagetiere zeigen „depressives“ Verhalten, wenn sie als Embryos chronischem mütterlichem Stress ausgesetzt waren. Dieses Verhalten entwickelte

sich auch, wenn die jungen Nagetiere von einer anderen, nicht gestressten Mutter großgezogen wurden (sogenanntes „cross-fostering“)(Morgan & Bale, 2011).

Insofern impliziert die Forschung an Mäusen und Ratten, dass pränatale Ereignisse das Verhalten des Nachwuchses beeinflussen, und stressinduziertes Verhalten über mehrere Generationen vererbt werden kann.

Klinische Studien konnten zeigen, dass Stress der schwangeren Frau mit einem erhöhten Risiko für Schwangerschaftskomplikationen wie Frühgeburt und niedrigem Geburtsgewicht sowie einem erhöhten Risiko für psychische und somatische Erkrankungen des Kindes einhergeht. Sowohl psychologischer Stress, etwa verursacht durch einen niedrigen sozioökonomischen Status als auch Erkrankungen des psychiatrischen Formenkreises, sind mit negativen Konsequenzen für das Kind vergesellschaftet. Es kommt vermehrt zu Geburtskomplikationen und die Gesundheit und Entwicklung des Kindes sind meist eingeschränkt (Alder, Fink, Bitzer, Hösli, & Holzgreve, 2009; Gavin, Hill, Hawkins, & Maas, 2011; Lawlor, C Relton, N Sattar, & Nelson, 2012).

Es konnte an der Dutch Famine Birth Cohort ein erhöhtes Risiko für koronare Herzerkrankungen bei Erwachsenen, deren Mütter während der Schwangerschaft hungern mussten, gezeigt werden (Roseboom et al., 2000).

Sowohl am Tier als auch am Menschen ist der Zusammenhang zwischen Stress und Belastung der Mutter während der Pränatalperiode und Verhaltensauffälligkeiten beim Nachwuchs durch Veränderungen im neurobehavioralen System gut belegt. Es wurde unter anderem festgestellt, dass Stress in der Pränatalperiode mit Bindungsproblemen im Säuglingsalter, zu Aufmerksamkeits- und Schlafproblemen bei Kleinkindern und zu ADHS und anderen Verhaltensauffälligkeiten bei Schulkindern assoziiert ist. Es ist jedoch nicht endgültig geklärt, inwieweit der genaue Zeitpunkt der Stresseinwirkung einen Einfluss auf die späteren negativen Effekte nimmt. (Van den Bergh, Mulder, Mennes, & Glover, 2005).

1.3 Stress vor der Schwangerschaft

Im Gegensatz zu Stress, der während der Schwangerschaft stattfindet, gibt es deutlich weniger Studien zum Einfluss von Stress im früheren Leben der Mutter auf den Nachwuchs.

Es ist bekannt, dass Kindesmisshandlung die Gesundheit der Betroffenen zeit ihres Lebens beeinflusst (Kendall-Tackett, 2002). Nicht bekannt sind jedoch Effekte, die Kindesmisshandlung auf Kinder der Betroffenen hat. Bisher gibt es nur Hinweise, dass früher Kindesmissbrauch zu einem geringeren Geburtsgewicht bei den Kindern der Opfer führt (Gavin et al., 2011).

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Stress in der Adoleszenz zu einer Vererbung von ängstlichem Verhalten in den nachfolgenden zwei Generationen führt (Saavedra-Rodriguez & Feig, 2013).

Die Studien an der schwedischen Överkalix-Population konnten einen Zusammenhang zwischen der Nahrungsverfügbarkeit im adoleszenten Alter des Vaters und der Gesamtmortalität der Folgegeneration zeigen. Abrupte

Veränderungen der großmütterlichen Ernährung beeinflussten die kardiovaskuläre Mortalität der weiblichen Probandinnen (Pembrey, Saffery, Bygren, & Epidemiology, 2014).

Es konnte gezeigt werden, dass die Kinder von Holocaust-Überlebenden, die nach 1945 geboren wurden, eine erhöhte Sensitivität des Glukokortikoid Rezeptors und eine verminderte Cortisol-Konzentration hatten (Bierer et al., 2014). Außerdem hatten die Nachkommen ein erhöhtes Risiko, an Depression, PTSD oder Angststörungen zu erkranken. Diese Effekte sind nicht allein durch ein verändertes Verhalten der Mutter während der frühen postnatalen Phase zu erklären (Bowers & Yehuda, 2016).

Auch auf neuroanatomischer Ebene konnte kürzlich an Mäusen gezeigt werden, dass traumatischer Stress im frühen Leben über mehrere Generationen hinweg eine Veränderung der 5-HT_{1A}-Rezeptor vermittelten neuronalen Netzwerke verursacht (Razoux et al., 2016).

1.4 Transgenerationale Effekte von Stress

Die Ursachen für die Weitergabe von Pathologien der Mutter an den Nachwuchs sind vielfältig. Generell in Frage kommen erlerntes Verhalten des Kindes als Anpassungsreaktion an den Stress der Mutter, verändertes Verhalten der Eltern bei der frühen Kindeserziehung, veränderte Bedingungen in utero oder Vererbung über die Gameten (Bowers & Yehuda, 2016). Im Folgenden wird auf verschiedene Mechanismen dieser Weitergabe eingegangen.

1.4.1 Epigenetik

Ein biologisches Substrat für die Programmierung und Vererbung von Verhalten, welches durch Ereignisse in oder vor der Schwangerschaft beeinflusst wird, ist die epigenetische Modifikation (Babenko, Kovalchuk, & Metz, 2015; Bohacek & Mansuy, 2015).

Epigenetik ist die Modifikation der DNA ohne Veränderung der DNA-Sequenz und es wird angenommen, dass epigenetische Merkmale, zumindest teilweise, vererbt werden können. Stress-bedingte DNA-Modifikation ist multifaktoriell und wird generell unterteilt in DNA-Methylierung, Histon-Modifikation und Veränderung der räumlichen Organisation der DNA (Buschdorf & Meaney, 2015).

Im Tierexperiment wurde der Effekt von postnatalem Verhalten der Mutter (licking/grooming) auf die epigenetische Modifikation beim Nachwuchs untersucht. Das Glukokortikoidrezeptor-Gen wird durch Histon-Modifikation und DNA-Methylierung in seiner Transkription beeinflusst, wodurch die Reaktion des Nachwuchses auf Stress verändert wird. Histon-Acetylierung am Glukokortikoidrezeptor-Gen ist unterschiedlich je nach postnatalem Verhalten der Mutter. Aus vermehrter Stimulation des Nachwuchses resultiert eine vermehrte Acetylierung und somit eine erhöhte Transkription. Die Methylierung des Glukokortikoidrezeptor-Gens führt zu einer verminderten Expression und damit zu vermindertem Feedback auf die Glukokortikoid-Konzentration im Hypothalamus.

Höhere Cortisol-Konzentrationen sind die Folge. Außerdem kommt es durch die Methylierung zu einer verminderten Expression von NGFI-A, einem Protein, welches für die Nervenfunktion wichtig ist und dessen Expression über den Glukokortikoidrezeptor vermittelt wird (Anacker, O'Donnell, & Meaney, 2014).

Beim Menschen wurde in mehreren Studien die Methylierung der NR3C1 Promoter-Region des Glukokortikoidrezeptors-Gens und die Methylierung der Promoter-Region des SLC6A4-Serotonin-Transporter-Gens mit pränatalem Stress assoziiert. Außerdem wurde eine Methylierung der Promoter-Region von MORC1, einem Zink-Finger-Protein, gezeigt, dessen Rolle in der Pathogenese der Folgeerkrankungen jedoch noch weitgehend ungeklärt ist (Bowers & Yehuda, 2016). Der Glukokortikoidrezeptor-Ko-Regulator FKBP5 ist bei Erwachsenen, die in der Kindheit ein Trauma erlitten, demethyliert und sorgt damit für eine unterschiedliche Position des Nukleosoms. Daraus resultierte eine verminderte Sensitivität für Glukokortikoide und ein erhöhtes Risiko der Kinder, selbst an einer Posttraumatischen Belastungsstörung zu erkranken (Anacker et al., 2014).

1.4.2 11 β -HSD2

Generell ist Cortisol im Fruchtwasser eng an das mütterliche HHN-System gekoppelt (Sarkar, Bergman, O'Connor, & Glover, 2008). Das plazentare Enzym 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase 2 (im Folgenden 11 β -HSD2) sorgt jedoch durch die Umwandlung von Cortisol in das weniger wirksame Cortison als enzymatischer Puffer dafür, dass der Fetus vor schädlichen Konzentrationen geschützt ist. Vergleicht man die dadurch erreichte Cortisol-Konzentration im Fruchtwasser mit der im mütterlichen Plasma, erkennt man eine Minderung um den Faktor 10 (Togher et al., 2014).

Das Enzym kann jedoch durch negative Umstände während der Schwangerschaft herunterreguliert werden, was zu einem verringerten Schutz der Feten führt (O'Donnell et al., 2012).

Wahrscheinlich führen epigenetische Mechanismen dazu, dass bei Ratten chronischer Stress während der Gravidität zu niedrigerer 11 β -HSD2 mRNA sowohl in der Plazenta als auch im Hirn führt (Jensen Pena, Monk, & Champagne, 2012).

Insbesondere legen Studien nahe, dass mütterliche Angststörungen (O'Donnell et al., 2012), weniger jedoch mütterliche Depression (Conradt et al., 2015), zu einer verminderten Expression der plazentaren 11 β -HSD2 führen.

Es wird angenommen, dass durch die unphysiologisch vermehrte Aktivierung des mütterlichen HHN-Systems vermehrt Cortisol die Plazenta passiert (Baibazarova et al., 2013). Die folgende Überstimulation des Feten mit Glukokortikoiden ist mit einem niedrigen Geburtsgewicht und folglich mit einer erhöhten Anfälligkeit für Erkrankungen assoziiert (Cottrell, Seckl, Holmes, & Wyrwoll, 2014).

Im Gegensatz dazu regeneriert das Enzym 11 β -HSD1 Cortisol aus Cortison und kann dadurch die Exposition der Feten für Glukokortikoide erhöhen. Sowohl in Nagetieren als auch in Menschen konnte eine gegenläufige Regulation und

Expression der beiden Enzyme 11 β -HSD1 und 2 bei mütterlichem Stress gezeigt werden (Monk et al., 2016; Seckl & Holmes, 2007).

Erst kürzlich konnte gezeigt werden, dass mütterlicher Stress zu einer Reduktion der plazentaren 11 β -HSD2 mRNA bei weiblichen, nicht jedoch bei männlichen Feten führt. Im Gegensatz dazu führt Adipositas der Mutter zu einer Hochregulation der 11 β -HSD1 (Mina, Raikkonen, Riley, Norman, & Reynolds, 2015).

Mütterliche Depression wird mit erhöhten mRNA-Konzentrationen des plazentaren Glukokortikoidrezeptors in Verbindung gebracht. Dies impliziert eine veränderte Sensitivität für Glukokortikoide der Plazenta depressiver schwangerer Frauen (Reynolds et al., 2015).

Somit führt mütterlicher Stress zu einer Zunahme von Glukokortikoidrezeptor-vermittelten plazentaren Effekten, einer höheren Glukokortikoidexposition durch erniedrigte 11 β -HSD2 sowie einer erhöhten 11 β -HSD1-Aktivität. Zusätzlich spielen das *Geschlecht des Kindes* und das *Körpergewicht der Mutter* eine Rolle.

1.4.3 BDNF

Das menschliche Gehirn vollzieht komplexe morphologische sowie funktionelle Veränderungen während des intrauterinen Reifungsprozesses.

Das gilt insbesondere für das erste und zweite Trimenon der Schwangerschaft, wenn Umwelteinflüsse mit Prozessen der neuronalen Proliferation, Migration und Organisation interferieren (Fumagalli, Molteni, Racagni, & Riva, 2007).

Neurotrophe Proteine spielen eine wichtige Rolle für die Entwicklung des Gehirns, und seit Jahrzehnten ist bekannt, dass der Brain-Derived Neurotrophic Factor (im Folgenden BDNF) essentiell für die Entwicklung und Reifung des Gehirns ist (Maisonpierre et al., 1990).

Frühe Störungen im Leben können lebenslang für eine gestörte Regulation von BDNF verantwortlich sein (Buchmann et al., 2013). In Ratten konnte gezeigt werden, dass negative Umwelteinflüsse während der Schwangerschaft zu einer vermehrten BDNF-Gen-Methylierung und damit zu einer reduzierten Expression sowohl im Blut als auch im Gehirn führen (Kundakovic et al., 2015).

Der Effekt von pränatalem Stress auf die BDNF-Expression ist regions-, stressor- und zeitabhängig. Das könnte erklären, warum es im Nachwuchs von pränatal gestressten Ratten im Hippocampus und der Amygdala zu vermehrter DNA-Methylierung des BDNF-Gens und folglich verringerter BDNF-Expression kommt (Boersma et al., 2014), während andere Organe nicht zwingend ebenfalls betroffen sind.

Auch in Zellen der Mundschleimhaut depressiver Mütter kommt es zu diesen Veränderungen der Expression (Braithwaite, Kundakovic, Ramchandani, Murphy, & Champagne, 2015).

Interessanterweise kommt es im fetalen Cortex von Ratten, deren Mütter eine Infektion durchleben (Gilmore, Jarskog, & Vadlamudi, 2003), und im fetalen spinalen Rückenmark pränatal gestresster Ratten (Winston, Li, & Sarna, 2014) zu erhöhten Konzentrationen von BDNF.

Außerdem wurden bisher vor allem die Auswirkungen von pränatalem Stress auf die BDNF-Expression zum Zeitpunkt der Geburt oder im späteren Leben untersucht. Es gibt kaum Informationen zur stressinduzierten Regulierung der BDNF-Expression während der Schwangerschaft.

Es wird, wie oben genauer beschrieben, davon ausgegangen, dass die Konzentrationen der Neurotrophine im Fruchtwasser sehr ähnlich derer im fetalen Plasma sind. Da die Blut-Hirn-Schranke in diesem Zeitfenster der Schwangerschaft noch nicht voll ausgebildet ist, liegt die Vermutung nahe, dass viele Proteine diese passieren können (Engelhardt, 2003). Bei Ratten konnte gezeigt werden, dass während der Entwicklung in der Schwangerschaft die Konzentration von BDNF im Blut mit derjenigen im Hirn korreliert (Karege & M., 2002).

Insofern könnten sich potentielle, durch die Umwelt verursachte Veränderungen der BDNF-Regulation des Fetus im Plasma und folglich im Fruchtwasser widerspiegeln. Es konnte, basierend auf dieser Annahme, gezeigt werden, dass der BDNF-Val66Met-Genotyp des Kindes mit den BDNF-Konzentrationen im Fruchtwasser korreliert (Cattaneo et al., 2010). Es ist somit davon auszugehen, dass BDNF im Fruchtwasser vor allem kindlichen Ursprungs ist.

1.5 Hypothese und Zielsetzung

Vor diesem Hintergrund ist es das Ziel dieser Arbeit, die Assoziation von maternalem Stress und fetaler Glukokortikoidexposition und BDNF zu untersuchen. Ersteres aufgrund der Auswirkungen der Glukokortikoide auf den Ausgang der Schwangerschaft, letzteres aufgrund der wichtigen Rolle von BDNF in der Entwicklung des fetalen Nervensystems.

Es werden die Hypothesen untersucht, ob:

Stress in der Kindheit, aktueller Stress oder niedrige soziale Schicht der Mutter

1. zu erhöhter Glukokortikoid-Konzentration im Fruchtwasser führt.
2. zu reduzierter Aktivität der plazentaren 11 β -HSD2 führt.
3. zu verminderter Konzentration von BDNF im Fruchtwasser führt.

Die Parameter wurden wie folgt operationalisiert bzw. quantifiziert:

Stress in der Kindheit wird in der vorliegenden Arbeit mithilfe des Childhood Trauma Questionnaires quantifiziert.

Aktueller Stress wird definiert als ein *Depressives Syndrom* (entweder eine depressive Episode oder eine Anpassungsstörung), ein *Angststatus* gemessen mit dem STAI-S oder *subjektiv erlebter Stress* gemessen mit dem Perceived Stress Scale.

Niedrige soziale Schicht wurde mit dem *Nettoeinkommen des Haushalts* abgeschätzt.

Diese Variablen zeigten schon in früheren Studien eine Assoziation mit Schwangerschaftsverläufen (Dowd, 2007; Staneva, Bogossian, Pritchard, & Wittkowski, 2015).

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Studienablauf

Schwangere Frauen, die aus medizinischer Indikation (Alter ≥ 35 , auffällige Messung im Ultraschall oder im Triple Test) oder auf eigenen Wunsch einer Amniozentese zugestimmt hatten, wurden vom behandelnden Arzt nach der Durchführung der Amniozentese auf die Studie aufmerksam gemacht und nach schriftlicher Zustimmung vom Studienteam kontaktiert.

Es handelte sich durchweg um Frauen europäischer Herkunft im frühen zweiten Trimenon ihrer Schwangerschaft (SSW $15,9 \pm 0,9$), die ihre erste Amniozentese erhielten.

21,5% der Frauen hatten bis zum Zeitpunkt der Befragung in der Frühschwangerschaft noch geraucht und 21,1% von ihnen Alkohol getrunken. Knapp 8% bzw. sechs Frauen hatten eine extrakorporale Befruchtung erhalten.

Es erfolgte eine ausführliche Aufklärung über die Studie per Telefon oder im persönlichen Gespräch. Im Besonderen wurde darauf hingewiesen, dass die Studienteilnahme keine höheren Volumina an Amnionflüssigkeit erfordert, die klinische Untersuchung nicht gefährdet, aber auch, dass die anonymisierten Befunde der Studie nicht individuell mitgeteilt werden können. Nach Zustimmung wurde per Post eine schriftliche Aufklärung und Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie und zur Verwendung der Amnionflüssigkeit und des Nabelschnurblutes für genetische Studien verschickt. Nach Rückerhalt der Einwilligung wurde für jede Patientin eine Codenummer vergeben.

Es wurden 125 schwangere Frauen auf diesem Weg kontaktiert. 26 stimmten einer Teilnahme nicht zu. Ein Ausschluss erfolgte kurz nach Kontaktaufnahme bei sechs Frauen, da nach ihrer Zustimmung zur Teilnahme ein pathologischer genetischer Befund diagnostiziert wurde. Weitere zwei Frauen wurden ausgeschlossen, weil keine Zellen aus dem Fruchtwasser isoliert worden waren. Vier Frauen trugen eine Zwillingsschwangerschaft aus und konnten deshalb nicht an der Studie teilnehmen. Nach Abschluss der Rekrutierung wurden weitere sieben unvollständige Datensätze und ein extremer BDNF-Ausreißer (>5 Standardabweichungen) aus der endgültigen Berechnung ausgeschlossen.

In die endgültige Berechnung der Ergebnisse flossen somit 79 Datensätze ein.

Die Charakteristika der Stichprobe finden sich in Tabelle 1, ein Flow-Diagramm der Rekrutierung in Abbildung 1.

Tabelle 1.:

Parameter	Ø ± SD (min- max)
<i>Alter der Mutter</i> [Jahre]	36.3 ± 3.9 (22 – 45)
<i>Schwangerschaftswoche bei Amniozentese</i> [Wochen]	15.9 ± 0,9 (14,3 – 18,9)
<i>prägravid BMI</i> [kg/m ²]	24.1 ± 4.6 (17,4 – 41,0)
<i>Fetales Geschlecht</i> [m / f]	44 / 35
<i>Geburtsgewicht</i> [g]	3319 ± 484
<i>Grösse</i> [cm]	51,7 ± 2,8
<i>Dauer der Schwangerschaft</i> [Wochen]	39,3 ± 1,7
<i>Durch Amniozentese induzierter Stress</i> [0-10]	5,7 ± 2,5 (0 – 10)
Raucherstatus im 1. Trimenon [ja/nein]	17 / 62
Alkohol im 1. Trimenon [ja/nein]	19 / 60
Schweregrad der Depression, EDPS	6,7 ± 5,4 (0 -18)
<i>Nettohaushaltseinkommen</i> [21 Kategorien]	15,2 ± 3,6 (5 – 21)
Familienstand, verheiratet vs Partnerschaft vs alleine	50 vs 19 vs 10
<i>State Angst</i> , STAI-S	37,1 ± 9,8 (20 – 60)
<i>Trait Angst</i> , STAI-T	36,1 ± 9,8 (21 – 60)
<i>Subjektiv erlebter Stress</i> , PSS	18,6 ± 7,9 (2 – 35)
Stress in der Kindheit d. Mutter, CTQ	36,4 ± 3,1 (25 – 87)
BDNF im Fruchtwasser [pg/ml]	165,1 ± 109,1 (25,8 – 598,4)
Cortisol (F) im Fruchtwasser [ng/ml]	4,95 ± 2,99 (1,3 – 27,7)
Cortisone (E) im Fruchtwasser [ng/ml]	11,37 ± 2,99 (1,5 – 19,6)
11β-HSD2-Aktivität [E / (E+F)]	0,700 ± 0,099 (0,15 – 0,86)
BDNF Val66Met Genotyp Val/Val vs. Val/Met vs. Met/Met	42 / 17 / 5

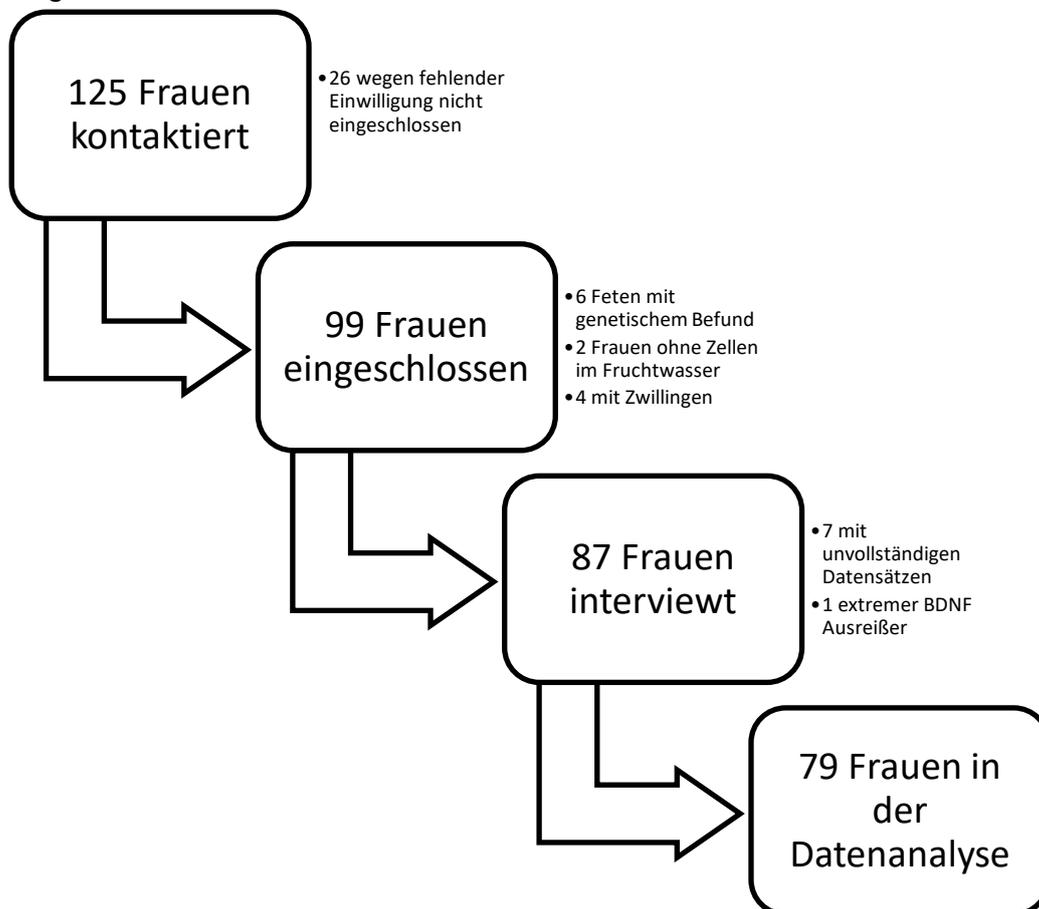
Es galten folgende Einschlusskriterien:

- Deutschsprachigkeit, Einwilligungsfähigkeit, Volljährigkeit
- Vorlage einer medizinischen Indikation für eine Amniozentese

Folgende Ausschlusskriterien wurden verwendet:

- pathologischer humangenetischer Befund beim Feten (Trisomie 21 oder Ähnliches)
- fehlende Einwilligung
- juristische Betreuung
- Verunreinigung der Fruchtwasserprobe mit Blut

Abbildung 1.:



2.2 Biologische Proben

Die Amnionflüssigkeit wurde von allen Kooperationspartnern an folgendes Labor verschickt:

Labor für Humangenetische Diagnostik (Dr. rer. nat. Anja Louis und Dr. med. Sabine Hentze).

Von dort aus wurden eine zweite angelegte Fetalzelllinie und 2-12 ml überschüssiges Fruchtwasser nach Abschluss der Diagnostik an das Studienteam übermittelt und mit einem Code versehen. Das Fruchtwasser wurde bei -20°C gefroren und innerhalb von 24h auf -80°C überführt.

Es lag nun eine Doppelkodierung des Fruchtwassers und der von den Probandinnen ermittelten Daten vor.

Eine Zuordnung der Probandin zu Fruchtwasser und Zellen konnte nun erfolgen, ohne einen Rückschluss auf die Identität der Person zu ermöglichen.

Die Probandinnen wurden anschließend telefonisch oder persönlich mittels standardisierter Fragebögen befragt bzw. füllten diese selbstständig aus.

Zum Zeitpunkt der Geburt wurde in Zusammenarbeit mit den geburtshilflichen Abteilungen der Entbindungskliniken Nabelschnurblut asserviert, anschließend von dort abgeholt und innerhalb von 24h nach Entnahme weiterverarbeitet.

Bei Beendigung des Einschlusses neuer Probandinnen waren 125 Frauen befragt worden. Von 90 Frauen lag Fruchtwasser vor, von 64 Nabelschnurblut.

2.2.1 Cortisol und Cortison im Fruchtwasser

Die Bestimmung von freiem Cortisol und Cortison im Fruchtwasser erfolgte durch das Labor von Prof. Dr. Stefan A. Wudy an der Justus-Liebig-Universität, Gießen mit einer Kombination aus Turbulent-flow Chromatography Tandem Mass Spectrometry und einer Fused-core Particle-packed Column.

Methodische Details finden sich in (Sánchez-Guijo, Hartmann, Shi, Remer, & A.Wudy, 2013) und (Buchmann et al., 2013).

2.2.2 BDNF, Brain-Derived Neurotrophic Factor

Die Messung des Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) aus den Proben erfolgte in einem auf die Quantifizierung endogener Neurotrophine spezialisierten Labor von Prof. Dr. Rainer Hellweg der Charité Universitätsmedizin in Berlin. Sie wurde mittels eines hochsensitiven fluorometrischen Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) durchgeführt, der in diesem Labor aus einem kommerziellen BDNF-Kit der Firma Promega Inc. entwickelt worden ist. Bezüglich der methodischen Details sei hierzu auf (Hellweg, von Arnim, Buchner, Huber, & Riepe, 2003), (Hellweg, Lohmann, Huber, Kuhl, & Riepe, 2006), (Ziegenhorn et al., 2007) und (Deuschle et al., 2013) verwiesen.

2.2.3 Nabelschnurblut

Nabelschnurblut wurde von 64 Neugeborenen direkt nach der Geburt entnommen. Es wurden zwei EDTA-beschichtete Röhrchen, ein PAXgene-Blood-RNA-Röhrchen und ein BD-Vacutainer-Glass-CPT-Röhrchen befüllt und innerhalb einer

Transportzeit von maximal 6h im Labor, nach Maßgabe der Hersteller, weiterverarbeitet und bei -80°C eingefroren.

2.3 Testinstrumente

2.3.1 Life Experiences Survey, LES

Dieser Fragebogen erfasst verschiedene Lebensereignisse der letzten sechs bzw. zwölf Monate. Es werden 42 Ereignisse vorgeschlagen, weitere können hinzugefügt werden. Diese werden auf einer bipolaren Skala von -3 bis 3 im Sinne ihres negativen oder positiven Einflusses auf das Leben der Probandin subjektiv beurteilt. Zur Einschätzung der Stressbelastung wurde anschließend ein Summenscore aus negativen bzw. positiven Ereignissen gebildet.

Die Retest-Reliabilität der Summe der negativen Lebensereignisse nach etwa sechs Wochen liegt zwischen $r_{tt} = 0,56$ und $r_{tt} = 0,88$.

Der Survey ist unabhängig von der aktuellen Stimmung der Versuchspersonen oder Probanden (Sarason, Johnson, & Siegel, 1978).

2.3.2 Edinburgh Postnatal Depression Scale, EDPS

Auf einer vierstufigen Likert-Skala berichten die Probandinnen über Gefühle und Stimmungen der letzten sieben Tage in zehn einzelnen Items. Der Summenscore dient dem Screening auf Depression. Ein Wert von 10 oder höher macht die Diagnose wahrscheinlich (Cox, Holden, & Sagovsky, 1987).

Die interne Konsistenz wird in der für die deutsche Sprache adaptierten Version mit $\alpha = 0,81$ angegeben. In der Originalpublikation wird ein Schwellenwert von 12 Punkten angegeben, ab dem häufig eine Depression diagnostiziert wird (Bergant, Nguyen, Heim, Ulmer, & Dapunt, 1998).

2.3.3 Perceived Stress Scale, PSS

In 14 Items beurteilen die Probandinnen auf einer fünfstufigen Likert-Skala ihr subjektives Stresserleben im letzten Monat anhand der Häufigkeit verschiedener Ereignisse, die als unerwartet, unkontrollierbar oder überfordernd bewertet werden. Der Summenscore ergibt einen Wert zwischen 0 und 56. Die interne Konsistenz wird mit $\alpha = 0,85$, die Retest-Reliabilität mit $r_{tt} = 0,85$ nach zwei Tagen und $r_{tt} = 0,55$ nach sechs Wochen angegeben (Cohen, Karmarck, & Mermelstein, 1983).

2.3.4 Prenatal Distress Questionnaire, PDQ

Auf einer fünfstufigen Likert-Skala bewerten die Probandinnen in zwölf Items ihre Zustimmung zu schwangerschaftsspezifischen Ereignissen und Veränderungen. Die interne Konsistenz beträgt $\alpha = 0,81$ (Yali & Lobel, 1999).

2.3.5 State-Trait-Angstinventar, STAI-S/T

Das STAI-S/T-Inventar misst das Ausmaß von Angst als Zustand bzw. Eigenschaft durch jeweils 20 Fragen, die auf einer Likert-Skala von 1 (fast nie) bis 4 (fast immer) beantwortet werden. Der gebildete Summenscore ergibt dementsprechend einen Wert zwischen 20 und 80 und korreliert in seiner Höhe mit der Ausprägung einer Angststörung. Der Natur der Fragebögen geschuldet liegt die Retest-Reliabilität des State-Fragebogens zwischen $r_{tt} = 0,22$ und $r_{tt} = 0,53$ und die des Trait-Fragebogens zwischen $r_{tt} = 0,70$ und $r_{tt} = 0,90$ (Spielberger, Lushene, Vagg, & Jacobs, 1983).

2.3.6 NEO-Fünf-Faktoren-Inventar, NEO-FFI

Das NEO-Inventar basiert auf dem „Big Five“-Modell, nachdem die Persönlichkeit eines Menschen auf fünf Achsen (Neurotizismus, Extraversion, Offenheit für Erfahrungen, Gewissenhaftigkeit, Verträglichkeit) beschrieben werden kann. Die Probandinnen beantworten ihre Zustimmung oder Ablehnung zu je sechs Fragen pro Achse auf einer fünfstufigen Skala.

In der vorliegenden Studie wurde eine 30-Item Kurzversion von (Körner et al., 2008) verwendet, die gegen die 60-Item Originalversion gut validiert ist. Die interne Konsistenz liegt je nach Achse zwischen $\alpha = 0,67$ und $\alpha = 0,81$ und ähnelt damit sehr der Langversion (McCrae & John, 1992).

2.3.7 Resilienzskala RS-11

Bei der ins Deutsche übersetzten 11-Item Kurzversion (im Original 25 Items)(Wagnild & Young, 1993) handelt es sich um ein Instrument, das Resilienz, also psychische Widerstandsfähigkeit, misst. Die Probandinnen nehmen auf einer siebenstufigen Likert-Skala Stellung zu elf Aussagen, die ihr Denken und Handeln beschreiben.

Es besteht eine signifikante Korrelation mit der Skala zur allgemeinen Selbstwirksamkeitserwartung, und es besteht eine gewisse Vorhersagbarkeit körperlicher Beschwerden in Abhängigkeit vom erreichten Summenscore (Schumacher, Leppert, Gunzelmann, Strauß, & Brähler, 2004).

2.3.8 Childhood Trauma Questionnaire, CTQ

In der vorliegenden Arbeit wurde die deutsche Übersetzung (Klinitzke, Romppel, Häuser, Brähler, & Glaesmer, 2012) des CTQ für die retrospektive Erfassung von aversiven Erfahrungen in der Kindheit verwendet. Der Fragebogen enthält 28 Aussagen zu körperlichem, sexuellem und emotionalem Missbrauch sowie körperlicher und emotionaler Vernachlässigung, die auf einer fünfstufigen Likert-Skala beurteilt werden.

Die interne Konsistenz war für „*körperliche Vernachlässigung*“ am schlechtesten mit $\alpha = 0,55$, die der anderen Achsen lagen zwischen $\alpha = 0,80$ und $\alpha = 0,89$.

Es bestehen signifikante Korrelationen aller Achsen mit den Items Ängstlichkeit und Depressivität des PHQ-4. In der vorliegenden Arbeit wird mit diesem Instrument der „*Early Life Stress*“ der Mütter näherungsweise quantifiziert (Klinitzke et al., 2012).

2.3.9 Prenatal Attachment Inventory, PAI

Das Prenatal Attachment Inventory veranlasst Probandinnen, zu 21 Aussagen die sich auf die Bindung zwischen der werdenden Mutter und dem noch ungeborenen Kind beziehen, auf einer vierstufigen Likert-Skala Stellung zu nehmen (Muller, 1993). In einer neueren Arbeit (Pallant, Haines, Hildingsson, & Rubertsson, 2014) wurden die interne Konsistenz und andere psychometrische Parameter für gut befunden.

2.3.10 Soz-U-Fragebogen, K14

Mit diesem Fragebogen soll untersucht werden, wie die Probandinnen in ein soziales Netzwerk eingebunden sind, und wie wichtige Beziehungen in ihrem Leben beurteilt werden. Es wird die Zustimmung zu 14 Aussagen auf einer fünfstufigen Likert-Skala abgefragt und anschließend ein Summenscore gebildet (Fydrich, Sommer, Tydecks, & Braehler, 2009).

2.3.11 ASQ

Der ASQ ist ein Screening-Fragebogen für Angst und Depressivitätssymptome. Es gibt eine allgemeine Frage, gefolgt von sechs auf spezielle Krankheitsbilder (Depression, Panikstörung, Agoraphobie, Soziale Phobie, Generalisierte Angststörung, Posttraumatische Belastungsstörung) zugeschnittene Fragen.

Diese werden dichotom beantwortet und es wird ein Summenscore aus den mit „ja“ beantworteten Fragen gebildet (Wittchen & Boyer, 1998).

2.3.12 Mini International Neuropsychiatric Interview, M.I.N.I.

Zur Erfassung der Psychiatrischen Komorbiditäten wurde das Mini International Neuropsychiatric Interview, in der deutschen Übersetzung als Version 5.0.0 verwendet (Ackenheil, Stotz-Ingenlath, Dietz-Bauer, & Vossen, 1999).

Es handelt sich darin um ein strukturiertes Interview, welches in sequenzieller Folge die wichtigsten Diagnosen aus dem Formenkreis der Psychiatrie, wie etwa Depression, Manie, Schizophrenie, Posttraumatische Belastungsstörung etc., abfragt.

Es ist gegen das Structured Clinical Interview for DSM Diagnoses (SCID-P) und das Composite International Diagnostic Interview (CIDI) validiert. Je nach Diagnose

liegen die Retest- Reliabilitäten zwischen $r_{tt} = 0,35$ und $r_{tt} = 1,00$ (Sheehan et al., 1998).

2.3.13 Standardisiertes Interview

Jede Probandin wurde anhand eines standardisierten Fragebogens zu verschiedenen medizinischen, psychologischen und sozialen Themen befragt. Die Befragung erfolgte per Telefon oder persönlich.

- a. Somatische, neurologische, genetische, medikamentöse Anamnese:
Erkrankungen, aktuelle Medikamente, Gewicht, und andere
- b. Familienanamnese:
Somatische Erkrankungen, Psychiatrische Erkrankungen
- c. Psychiatrische Anamnese:
M.I.N.I. Interview
- d. Substanzanamnese:
Alkohol, Koffein, Nikotin, illegale Drogen
- e. Gynäkologische Anamnese:
Mutterpass, vorangegangene Schwangerschaften, aktuelle Schwangerschaft
- f. Sozioökonomische Parameter:
Urbanizität, Ausbildung, Nettoeinkommen, Schulden, soziales Umfeld
- g. Psychosoziale Parameter:
Herkunft, Unterstützung
- h. Fremdanamnese zum Vater des Kindes:
eine gekürzte Fassung der Fragen für die Mutter

Im Speziellen:

Des Weiteren wurde zum Zeitpunkt der Amniozentese eine Likert-Skala von 0 = *kein Stress* bis 10 = *maximaler Stress* verwendet, um die Belastung durch den Eingriff selbst subjektiv zu quantifizieren.

Als Proxy für sozioökonomischen Stress wurde das *Nettoeinkommen des Haushaltes*, in dem die schwangeren Frauen zum Zeitpunkt des Interviews lebten, erfasst. Es wurden 21 Kategorien verwendet von 1 (monatlich <150€) bis 21 (monatlich >10,000€).

2.4 Geburtsparameter der Kinder

Im Zuge der Entnahme des Nabelschnurblutes, nach der Geburt des Kindes, wurden mithilfe des Mutterpasses die verschiedenen Charakteristika des Kindes, wie *Geschlecht, Geburtsgewicht, Größe bei Geburt, Schwangerschaftsdauer, eventuelle Geburtskomplikationen*, und weitere erfasst.

2.5 Kooperationspartner

Für die Rekrutierung der schwangeren Probandinnen erfolgte eine Kooperation mit folgenden externen medizinischen Einrichtungen:

- Gynäkologische Praxis Dr. med. Uwe Mackrott, Ludwigshafen
- Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des Hetzelstift Krankenhauses in Neustadt an der Weinstraße; Dr. med. Matthias Michel
- Schwerpunktpraxis Pränataldiagnostik; Dres. Paul/Quwat/Gast
- Geburtshilfliche Klinik des St. Marienkrankenhauses in Ludwigshafen; Dr. med. Barbara Filsinger
- Klinikum Speyer
- Klinikum Landau

2.6 Ethikvotum

Es liegt ein positives Votum der Medizinischen Ethikkommission II der Medizinischen Fakultät Mannheim (Vorsitz: Prof. Dr. med. Jens P. Striebel) vom 5.12.2013 vor (Nummer: 2013-621N-MA). Die Studie wurde beim Deutschen Register für Klinische Studien registriert (DRKS00005741).

2.7 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung der Daten wurde SPSS Statistics-Software Version 22 benutzt.

Es wurden als abhängige Variablen die Summe der Konzentration von Cortisol und Cortison (E+F) als Näherung der Glukokortikoidexposition und das Verhältnis von Cortison zu Cortisol (E/E+F) als Näherung der Aktivität der plazentaren 11 β -HSD2 genutzt.

Um mehrfache Testung zu vermeiden, wurde eine multivariate Analyse der Varianz (MANOVA) verwendet.

Die Folgenden wurden als unabhängige Variablen definiert:

- a) *Aktuelle Affektive Störung* (Major Depression oder Anpassungsstörung)
- b) *Sozioökonomischer Status* (Proxy: *Nettoeinkommen des Haushalts*)
- c) *State Anxiety* (gemessen mit STAI-S)
- d) *Erlebter Stress* (gemessen mit PSS)
- e) *Early Life Stress* (gemessen mit CTQ)

Als abhängige Variablen wurden BDNF-Konzentration und Glukokortikoid-Konzentration im Fruchtwasser und Aktivität der 11 β -HSD2 im Fruchtwasser definiert.

In einem zweiten Schritt wurde für *Geschlecht der Feten*, *Alter der Mutter*, *Schwangerschaftswoche zum Zeitpunkt der Amniozentese*, *BMI vor Schwangerschaft*, *Uhrzeit der Amniozentese* und *Amniozentese induzierter Stress*,

kontrolliert. Unterschiede zwischen Gruppen wurden entsprechend mit ANCOVA oder t-Test analysiert. Biologische Variablen, die keine Normalverteilung aufwiesen, wurden log(n)-transformiert. Um Assoziationen zu finden, wurde die Korrelation nach Pearson verwendet.

Alle P-Werte $<0,05$ wurden als signifikant beschrieben.

3 ERGEBNISSE

3.1 Wechselbeziehung der unabhängigen Variablen

Es gab signifikante Interkorrelationen der psychologischen unabhängigen Variablen, lediglich das *Nettoeinkommen der Familie* war mit keiner der psychologischen Variablen assoziiert.

Die log(n)-transformierten CTQ Werte waren bei den 17 Teilnehmerinnen mit *aktueller affektiver Störung* höher als bei den 62 Teilnehmerinnen ohne Störung (CTQ: $41,5 \pm 13,1$ vs. $35,0 \pm 12,9$; $p = 0,036$). Das Gleiche galt für den *erlebten subjektiven Stress* (PSS: $25,7 \pm 7,0$ vs. $16,6 \pm 7,1$; $p = 0,001$) und für *State Angst* (STAI-S: $44,8 \pm 8,7$ vs. $34,8 \pm 8,9$; $p = 0,001$). *State Angst* war signifikant mit *erlebtem Stress* (STAI-S und PSS; $r = 0,76$) und mit log(n)-transformierten Werten des CTQ korreliert (STAI-S und CTQ; $r = 0,31$).

Raucherstatus im ersten Trimenon oder der *Genuss von Alkohol* waren interkorreliert ($r = 0,226$, $p = 0,05$), ansonsten jedoch weder mit den abhängigen, noch mit anderen unabhängigen Variablen assoziiert. Die einzige Ausnahme war eine signifikante, positive Korrelation der *Anzahl gerauchter Zigaretten* im ersten Trimenon mit dem EDPS-Score ($r = 0,274$, $p = 0,014$) und mit der *absoluten Gewichtszunahme* während der Schwangerschaft ($r = 0,323$, $p = 0,013$).

Keinen Einfluss auf die abhängigen oder andere unabhängige Variablen hatte die *extrakorporale Befruchtung*.

3.1.1 Uhrzeit der Amniozentese

Die *Uhrzeit der Amniozentese* korrelierte positiv mit der Cortisol-Konzentration im Fruchtwasser ($r = 0,254$, $p = 0,024$) und negativ mit der 11 β -HSD2-Aktivität ($r = -0,379$, $p = 0,001$). (Abbildung 2. und 3.)

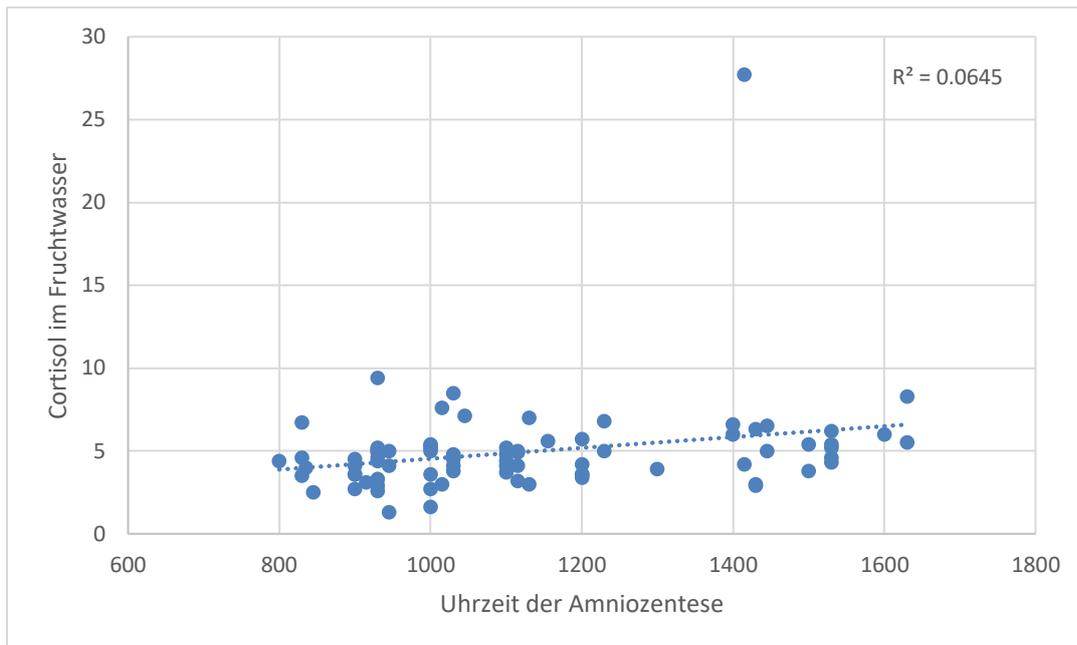


Abbildung 2. Tageszeitabhängigkeit der Cortisolkonzentration

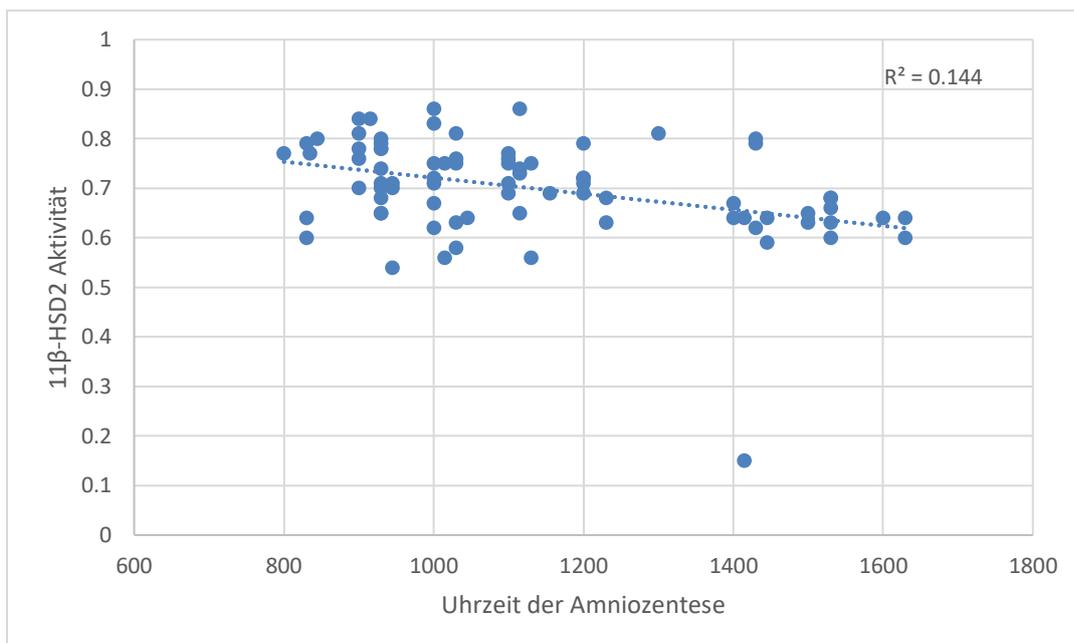


Abbildung 3. Tageszeitabhängigkeit der 11β-HSD2-Aktivität

3.2 Effekte von Stress auf die abhängigen Variablen 11β-HSD2-Aktivität, Glukokortikoid-Konzentration und BDNF-Konzentration im Fruchtwasser

3.2.1 Effekte von *affektiver Störung, erlebtem Stress, Familieneinkommen* und *ELS* der Mutter

Das verwendete MANOVA-Modell enthielt die vollständigen Datensätze von 79 Probandinnen. Das Modell zeigte signifikante Effekte des CTQ (Wilks Lambda = 0,751, $F_{3,71} = 7,86$, $p = 0,0001$), einer affektiven Störung (Wilks Lambda = 0,887,

$F_{3,71} = 3,02$, $p = 0,035$) und des *Nettoeinkommens* (Wilks Lambda = 0,847, $F_{3,71} = 4,29$, $p = 0,008$) auf die abhängigen Variablen. Kein signifikanter Effekt fand sich für *erlebten Stress* ($F_{3,71} = 1,14$) und *State Angst* ($F_{3,71} = 1,22$).

Im Speziellen waren die Werte des CTQ positiv korreliert mit der BDNF-Konzentration im Fruchtwasser ($F_{1,78} = 20,10$, $p < 0,0001$). Nur ein negativer Trend konnte im Zusammenhang mit der Glukokortikoid-Konzentration festgestellt werden ($F_{1,78} = 3,81$, $p = 0,055$) und kein Zusammenhang mit der 11 β -HSD2-Aktivität ($F < 0,3$).

Aktuelle affektive Störung stand in positivem Zusammenhang mit der 11 β -HSD2-Aktivität ($F_{1,78} = 5,60$, $p = 0,021$), jedoch weder mit der BDNF-Konzentration ($F_{1,78} = 2,49$, n.s.) noch mit der Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 0,72$, n.s.).

Nettoeinkommen war negativ mit Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 6,92$, $p = 0,010$) und positiv mit 11 β -HSD2-Aktivität ($F_{1,78} = 5,61$, $p = 0,021$) assoziiert, nicht jedoch mit der BDNF-Konzentration ($F_{1,78} = 2,23$).

Weder *erlebter Stress* (PSS) noch *State Angst* (STAI-S) waren mit einer der abhängigen Variablen assoziiert.

3.2.2 Effekte von Stress in einem kontrollierten Modell

In einem zweiten Schritt wurde für *fetales Geschlecht*, *Alter* und *BMI der Mutter*, *Schwangerschaftswoche zum Zeitpunkt der Amniozentese*, *durch Amniozentese induzierter Stress* und für *Uhrzeit der Amniozentese* kontrolliert.

Diese potentiellen konfundierenden Variablen beeinflussten nicht die Effekte von CTQ (Wilks Lambda = 0,778, $F_{3,66} = 6,29$, $p = 0,001$), aktueller affektiver Störung (Wilks Lambda = 0,875, $F_{3,66} = 3,15$, $p = 0,031$) oder des *Nettoeinkommens* (Wilks Lambda = 0,885, $F_{3,66} = 2,87$, $p = 0,043$).

Erlebter Stress war weiterhin nicht signifikant mit den abhängigen Variablen assoziiert.

Im Speziellen war CTQ positiv assoziiert mit der BDNF-Konzentration im Fruchtwasser ($F_{1,78} = 16,59$, $p < 0,001$), nicht jedoch mit der Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 2,04$, n.s.) oder der 11 β -HSD2-Aktivität ($F_{1,78} = 0,05$, n.s.).

Des Weiteren war eine *aktuelle affektive Störung* mit erhöhter 11 β -HSD2-Aktivität assoziiert ($F_{1,78} = 4,52$, $p = 0,037$), nicht jedoch mit der BDNF-Konzentration ($F_{1,78} = 3,27$, n.s.) oder der Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 0,98$, n.s.).

Auch war weiterhin das *Nettoeinkommen* negativ mit der Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 5,12$, $p = 0,027$) assoziiert.

Stress durch Amniozentese war negativ mit der Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 4,30$, $p = 0,042$) assoziiert.

Uhrzeit der Amniozentese war signifikant mit 11 β -HSD2-Aktivität ($F_{1,78} = 8,03$, $p = 0,006$) assoziiert.

BMI der Mutter war signifikant positiv mit der Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 4,71$, $p = 0,034$) assoziiert.

Geschlecht des Kindes war signifikant mit der BDNF-Konzentration ($F_{1,78} = 4,95$, $p = 0,029$) assoziiert.

Das *Alter der Mutter* oder die *Schwangerschaftswoche der Amniozentese* waren nicht signifikant mit einer abhängigen Variable assoziiert.

3.2.3 *Early Life Stress* (CTQ) und BDNF-Konzentration im Fruchtwasser

Der absolute CTQ Summenscore der Mutter korrelierte positiv mit der BDNF-Konzentration ($r = 0,435$, $p = 0,0001$). (Abbildung 4.).

Da die Werte des CTQ nicht normalverteilt waren, wurden sie $\log(n)$ -transformiert. Dies änderte nichts an den Ergebnissen ($r = 0,398$, $p < 0,001$).

Die $\log(n)$ -transformierten Variablen aller CTQ Subskalen korrelierten positiv mit der BDNF-Konzentration im Fruchtwasser:

- *Emotionale Vernachlässigung*: $r = 0,292$, $p = 0,011$;
- *Sexueller Missbrauch*: $r = 0,335$, $p = 0,003$;
- *Körperliche Misshandlung*: $r = 0,356$, $p = 0,002$;
- *Emotionaler Missbrauch*: $r = 0,424$, $p = 0,001$,
- *Körperliche Vernachlässigung*: $r = 0,287$, $p = 0,012$

Obwohl 21 der Probandinnen einen relativ hohen CTQ Summenscore hatten (≥ 40), der mehr als eine Standardabweichung oberhalb des Mittelwertes einer Normalpopulation lag (Scher, Stein, Asmundson, McCreary, & Forde, 2001)), litt keine unter einer Posttraumatischen Belastungsstörung wie es im M.I.N.I. Interview erfragt wurde.

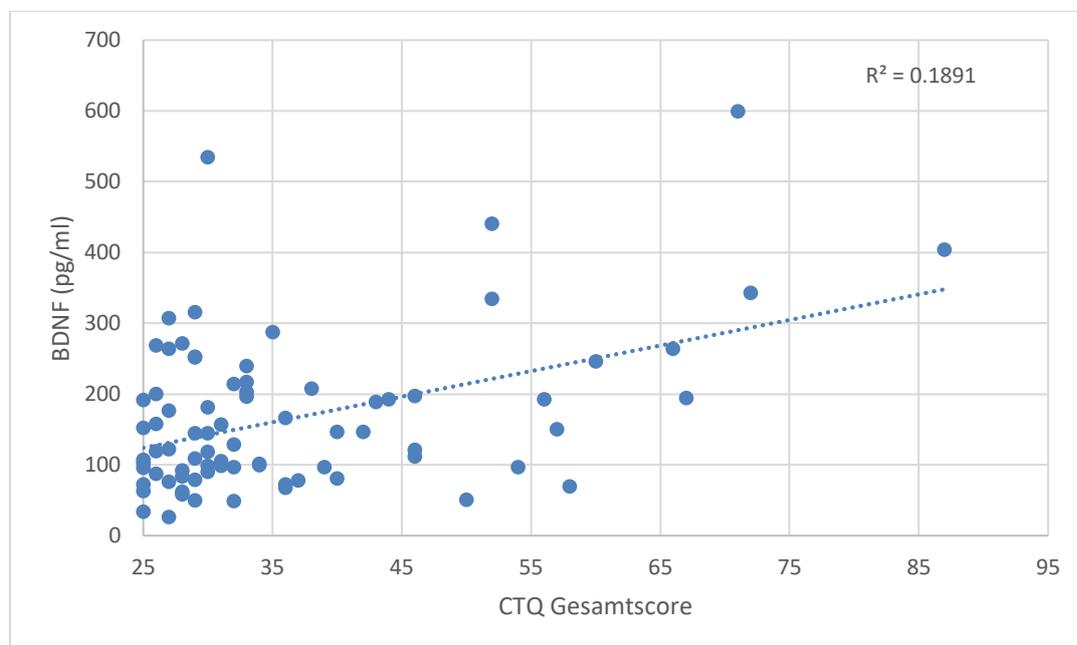


Abbildung 4. Zusammenhang der BDNF Konzentration zum CTQ Wert

3.2.4 *Aktuelle Affektive Störung* und 11 β -HSD2-Aktivität

Beim Vergleich der 17 Probandinnen mit einer *affektiven Störung* bzw. eines *depressiven Syndroms* mit 62 ohne dergleichen zeigte sich eine erhöhte 11 β -HSD2-

Aktivität in der Gruppe der depressiven Schwangeren ($0,746 \pm 0,076$ vs. $0,687 \pm 0,102$, t-Test, $p = 0,030$) (Abbildung 5.). Die Konzentrationen von Glukokortikoiden oder von BDNF unterschieden sich im Gegensatz dazu nicht signifikant zwischen den Gruppen.

Im Speziellen wurden 62 Probandinnen ohne Depression mit acht Probandinnen mit einer depressiven Episode (davon vier als Erstmanifestation und vier als rezidivierend depressive Störung) sowie neun Probandinnen mit einer Anpassungsstörung verglichen.

Diese Gruppen unterschieden sich signifikant im Summenscore des *EDPS* ($5,3 \pm 4,7$ vs. $14,0 \pm 4,6$ vs. $9,8 \pm 4,0$; $F_{2,78} = 14,9$, $p < 0,0001$), *State Angst* (STAI-S: $35,3 \pm 9,0$ vs. $48,3 \pm 6,7$ vs. $42,9 \pm 9,4$; $F_{2,78} = 9,3$, $p < 0,0001$) und *Trait Angst* (STAT-T: $34,0 \pm 9,0$ vs. $49,4 \pm 8,0$ vs. $40,8 \pm 9,3$; $F_{2,78} = 13,3$, $p < 0,001$; univariate ANOVA).

Es zeigte sich eine erhöhte 11 β -HSD2-Aktivität als Trend bei depressiven Probandinnen ($0,687 \pm 0,102$ vs. $0,741 \pm 0,087$ vs. $0,750 \pm 0,0687$; $F_{2,78} = 2,43$, $p = 0,095$).

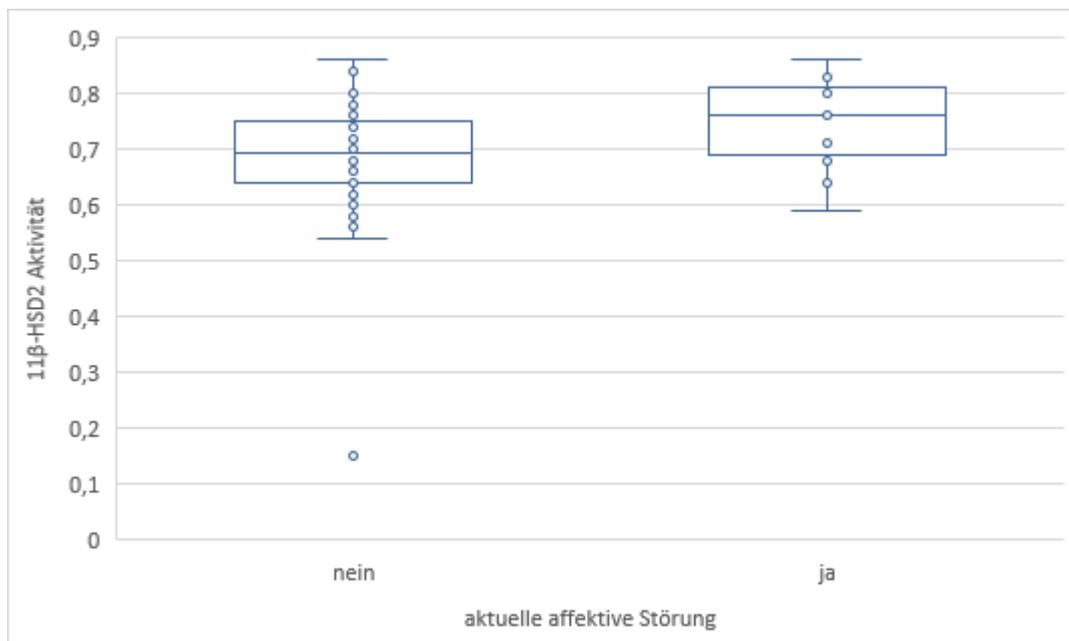


Abbildung 5. 11 β -HSD2-Aktivität ist erhöht bei Vorliegen einer affektiven Störung

3.2.5 Familieneinkommen und Glukokortikoid-Konzentration

Das *Nettoeinkommen* des Haushaltes der Probandin korrelierte negativ mit der Glukokortikoid-Konzentration ($r = -0,279$, $p = 0,013$) (Abbildung 6.), als Trend negativ mit der BDNF-Konzentration ($r = -0,197$, $p = 0,081$) und positiv mit der 11 β -HSD2-Aktivität ($r = 0,199$, $p = 0,079$).

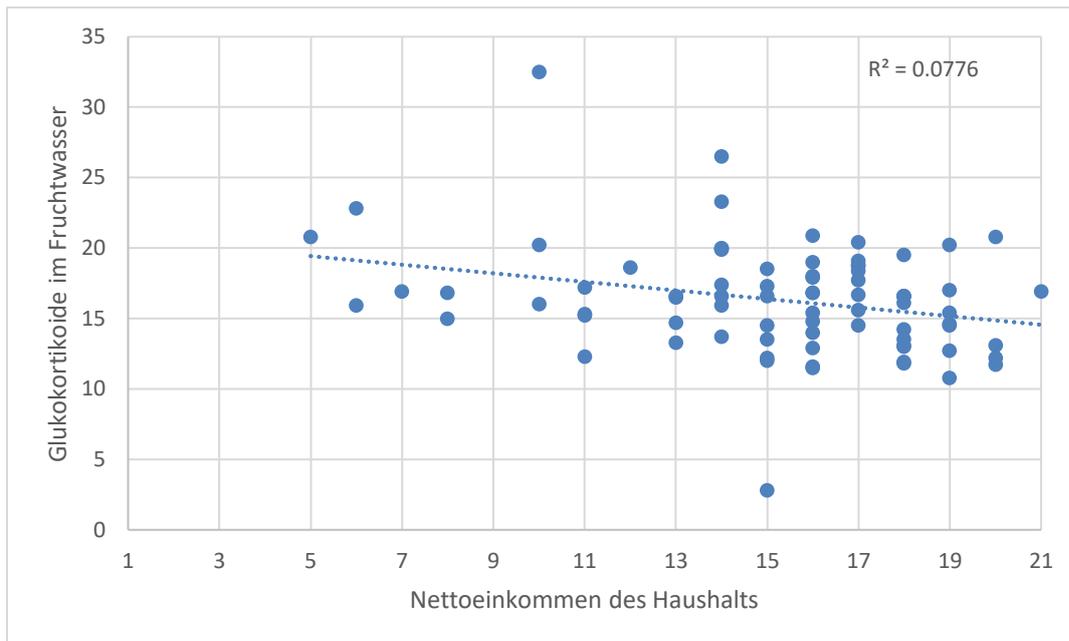


Abbildung 6. Zusammenhang der Glukokortikoid-Gesamtkonzentration zum Nettoeinkommen des Haushalts

3.2.6 Durch Amniozentese induzierter Stress und Glukokortikoide im Fruchtwasser

Durch Amniozentese induzierter Stress korrelierte negativ mit der Cortisol-Konzentration ($r = -0,279$, $p = 0,013$) (Abbildung 7.), nicht jedoch mit Cortison im Fruchtwasser ($r = -0,051$, n.s.) oder 11β -HSD2-Aktivität ($r = 0,13$, n.s.).

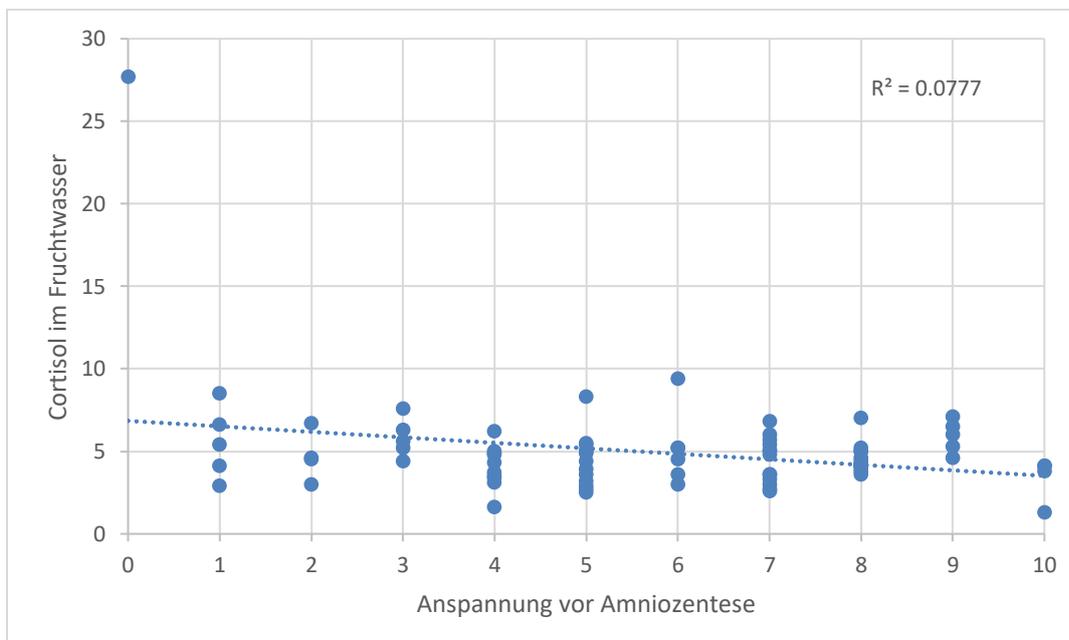


Abbildung 7. Zusammenhang der subjektiven Anspannung vor der Amniozentese zur Cortisolkonzentration

3.3 BDNF-Genotyp, Cortisol, Cortison und BDNF im Fruchtwasser

3.3.1 Fetaler BDNF-Genotyp und BDNF im Fruchtwasser

Eine einfaktorielle ANOVA zeigte keinen signifikanten Unterschied der BDNF-Konzentration zwischen den fünf Met/Met (0C/2T) Trägern ($127,3 \pm 105,6$ pg/ml), den 17 Val/Met (1C/1T) Trägern ($163,0 \pm 71,7$ pg/ml) und den 36 Val/Val (2C/0T) Trägern ($167,4 \pm 118,0$ pg/ml; ANOVA, $F_{2,57} = 0,32$, n.s.) (Abbildung 8.)

Gleichermaßen zeigte auch ein t-Test keinen Unterschied zwischen 22 Met Allel Trägern ($154,9 \pm 79,2$ pg/ml) und den 36 Feten ohne Met Allel ($167,4 \pm 118,0$ pg/ml). Es gab keine Unterschiede in Bezug auf Demographie oder Stressoren der genotypisierten Subgruppe der Feten und deren Mütter im Vergleich zum Rest der Probandinnen.

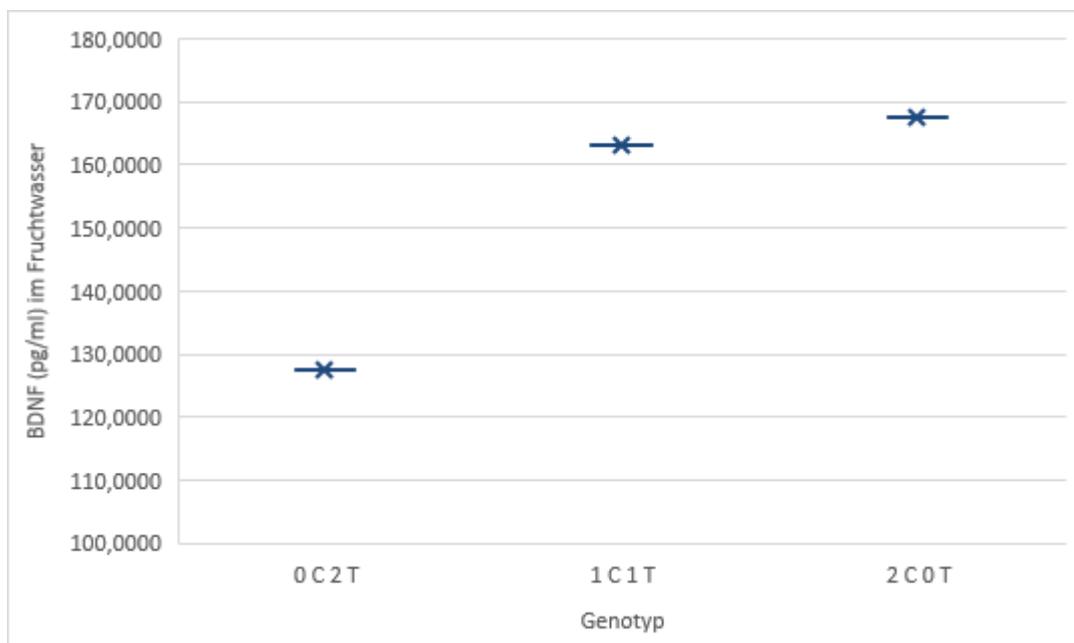


Abbildung 8. Einfluss des Genotyps auf die BDNF-Konzentration
0C2T = Met/Met, 1C/1T = Val/Met, 2C/0T = Val/Val

3.3.2 Glukokortikoide und BDNF im Fruchtwasser

Eine Assoziation der 11β -HSD2-Aktivität ($F_{1,78} = 0,68$) oder der Glukokortikoid-Konzentration ($F_{1,78} = 0,03$) mit den BDNF-Konzentrationen im Fruchtwasser wurde mittels einer univariaten ANOVA nicht bestätigt. Auch nach Kontrolle für die konfundierenden Variablen *BMI* und *Nettoeinkommen* zeigte sich keine signifikante Assoziation.

3.4 Effekte der abhängigen Variablen auf die Geburtsparameter

Es bestand in diesem Kollektiv keine signifikante Assoziation der Geburtsparameter *Geburtsgewicht*, *Länge bei Geburt* oder *Schwangerschaftswoche bei Geburt* mit

einem der Parameter aus dem Fruchtwasser (Glukokortikoid-Konzentration, 11 β -HSD2 Aktivität, BDNF-Konzentration).

4 DISKUSSION

Für diese Arbeit wurde bei 79 schwangeren Frauen im frühen zweiten Trimenon die Assoziation von *Trait Angst*, *aktueller affektiver Störung*, *aversiver Erfahrung in der Kindheit der Mutter*, *Nettoeinkommen des Haushalts* als Näherung an den erlebten psychosozialen Stress und *subjektiv erlebtem Stress* mit der 11 β -HSD2-Aktivität und der Konzentrationen von Glukokortikoiden und BDNF im Fruchtwasser untersucht.

Es zeigten sich robuste positive Assoziationen, sowohl zwischen *aversiver Kindheitserfahrung der Mütter* und der BDNF-Konzentration im Fruchtwasser als auch zwischen *aktueller mütterlicher Depression* und der Aktivität der plazentaren 11 β -HSD2.

Schwächere Evidenz fand sich für die negative Assoziation des *Haushaltseinkommens* mit der Glukokortikoid-Konzentration und die positive Assoziation mit der 11 β -HSD2-Aktivität im Fruchtwasser.

Subjektiv erlebter Stress, *Trait Angst* und *durch Amniozentese induzierter Stress* hatten keinen signifikanten Effekt auf die Cortisol-Regulation oder die BDNF-Konzentration.

4.1 Assoziation von mütterlichem Stress mit BDNF

Neurotrophe Faktoren spielen eine kritische Rolle in der Entwicklung des Nervensystems, da sie die Entwicklung des Gehirns fördern, indem sie als gemeinsame Endstrecke für eine Zunahme funktioneller Synapsen sorgen. Dementsprechend konnte im Tiermodell durch intrauterine Wachstumsverzögerung eine verringerte Expression von BDNF und anderen Wachstumsfaktoren im Hirn des Embryos gezeigt werden (Fukami et al., 2000). Außerdem wurden niedrige Konzentrationen von BDNF im Fruchtwasser oder im Nabelschnurblut als Biomarker für Störungen des zentralen Nervensystems in utero vorgeschlagen (Chouthai, Sampers, Desai, & Smith, 2003).

Es kann insofern angenommen werden, dass BDNF im Fruchtwasser mit der Entwicklung des zentralen Nervensystems des Kindes assoziiert ist.

In der vorliegenden Arbeit war die BDNF-Konzentration im Fruchtwasser von Frauen, die in ihrer Kindheit aversiven Erfahrungen ausgesetzt wurden, erhöht. Dies ist somit der erste Hinweis darauf, dass frühe Lebensumstände der Mutter die BDNF-Konzentration im Fruchtwasser beeinflussen. Da BDNF im Fruchtwasser am ehesten fetales BDNF widerspiegelt, bedeutet dies, dass Kindheitserfahrungen der Mutter transgenerational mit Faktoren der ZNS-Entwicklung der Nachkommen assoziiert sind.

Während der Effekt von Stress vor der Schwangerschaft noch nicht untersucht wurde, gibt es Studien, die zeigen, dass Stress während der Schwangerschaft die BDNF-Konzentration im jungen (Berry et al., 2015) und im ausgewachsenen Nachwuchs von Nagetieren vermindert (Fumagalli, Bedogni, Perez, Racagni, & Riva,

2004). Allerdings wurden diese Studien alle nach der Geburt durchgeführt und spiegeln nicht die Situation während der Schwangerschaft wider.

Im Gegensatz zur oben dargestellten Annahme, dass mütterlicher Stress mit reduziertem BDNF einhergeht, wurde eine verminderte BDNF-Gen DNA-Methylierung und damit einhergehend dessen vermehrte Expression in den Mundschleimhautzellen von Neugeborenen depressiver Mütter beschrieben (Braithwaite et al., 2015).

Auch wurde eine Erhöhung der BDNF-Konzentration im fetalen Gehirn in bestimmten Situationen von akutem Stress, beispielsweise bei mütterlicher Infektion, beschrieben. Dies wurde als Adaptation diskutiert, wobei der genaue Mechanismus ungeklärt ist (Gilmore et al., 2003).

Beim Menschen sind verminderte BDNF-Konzentrationen im Fruchtwasser von „small for gestational age“-Neugeborenen als typisches Ergebnis von chronischem intrauterinem Stress beschrieben worden (Wang & Y., 2008).

Insgesamt ist die BDNF-Konzentration im Fruchtwasser offenbar abhängig von der Art des Stressors, von dem Zeitpunkt der Einwirkung (im Kindesalter der Mutter vs. aktuell) und von der Chronizität (akut vs. chronisch). Zudem ist die BDNF-Konzentration im Fruchtwasser assoziiert mit der Entwicklung des Feten und mit Geburtskomplikationen, insbesondere mit einem niedrigen Geburtsgewicht.

Der in dieser Arbeit beschriebene Zusammenhang von prägravidem Stress und erhöhter BDNF-Konzentration steht im Kontrast zu anderen Studien zu Stress in der Schwangerschaft. Ähnlich dem Stress durch Infektion (Gilmore et al., 2003) könnte auch in diesem Fall die erhöhte Konzentration ein Marker für Adaptation sein. Man vermutet, dass mütterlicher Stress vor der Schwangerschaft über epigenetische Mechanismen auf die folgende Generation Einfluss hat (Bowers & Yehuda, 2016).

Epigenetische Mechanismen werden ebenso bei trans-generationellen Effekten von schwerer Hungersnot (Heijmans et al., 2008; Radtke et al., 2011) als vermittelnder Faktor angenommen.

Zusammenfassend kann, ausgehend von der wichtigen Rolle der neurotrophen Proteine während der Schwangerschaft (Chouthai et al., 2003; Fukami et al., 2000; Wang & Y., 2008), davon ausgegangen werden, dass prägravidem Stress mit der fetalen Entwicklung des Nervensystems assoziiert ist.

Zusätzlich zum Stress galt es die Hypothese zu prüfen, dass der BDNF-Val66Met-Genotyp einen Einfluss auf die BDNF-Konzentration im Fruchtwasser hat. Diese Hypothese basiert auf einer Studie, die einen Zusammenhang zwischen dem fetalen BDNF-Val66Met-Genotyp und der Konzentration im Fruchtwasser fand. Diese Studie lieferte einen weiteren Hinweis, dass die BDNF-Konzentration im Fruchtwasser fetalen und nicht mütterlichen Ursprungs ist (Cattaneo et al., 2010).

In der vorliegenden Arbeit konnte dieser Zusammenhang lediglich als Trend, jedoch nicht signifikant dargestellt werden, was wahrscheinlich auf den kleineren Stichprobenumfang zurückzuführen ist.

Insofern war die statistische Power der Stichprobe nicht groß genug, um eine Signifikanz der nominalen Differenz zu zeigen.

Es wird normalerweise davon ausgegangen, dass insbesondere während der Schwangerschaft Glukokortikoide die Synthese von BDNF vermindern (Yu, Lee, Lee, & Son, 2004). Entgegen dieser Annahme wurde in der vorliegenden Arbeit kein Zusammenhang zwischen Glukokortikoid-Konzentration, 11 β -HSD2-Aktivität und BDNF-Konzentration gefunden.

In der Tat wurde spekuliert, dass Depression und Cortisol während der Schwangerschaft mit der Regulation von BDNF interferieren. Eine Studie kam kürzlich zum Schluss, dass die Assoziation von pränataler Depression und fetaler epigenetischer BDNF-Regulation unabhängig von Cortisol sei (Braithwaite et al., 2015). Insofern könnte eine prägravidе psychiatrische Erkrankung, ganz unabhängig vom aktuellen Cortisol-Spiegel, einen längerfristigen Effekt auf die fetale BDNF-Regulation haben.

Bezüglich der Kontroll-Variable *BMI* existieren Studien an Nagetieren, die einen schwachen Zusammenhang zwischen Adipositas während der Schwangerschaft und verringerten BDNF-Levels im fetalen Hippocampus feststellen (Page, Jones, & Anday, 2014).

Die vorliegende Arbeit ist die erste Studie, die, konträr zu bisherigen Studien, einen positiven Zusammenhang zwischen pränatalem *BMI* und BDNF-Konzentration findet. Der Zusammenhang ist jedoch nur knapp innerhalb der definierten Signifikanzgrenze, insofern wäre eine erneute Untersuchung mit größerer Stichprobe notwendig, um die Ergebnisse zu stützen.

4.2 11 β -HSD2 Regulation

Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass mütterliche Depression während der Schwangerschaft mit einer vermehrten Aktivierung der HHN-Achse einhergeht (Giesbrecht et al., 2012). Die 11 β -HSD2 der Plazenta dient als Schutz des Fetus vor mütterlichen Glukokortikoiden. Sie wird jedoch von verschiedenen Umweltfaktoren und mütterlichem Stress beeinflusst (Togher et al., 2014).

Bei schwangeren Mäusen führt eine Cortisol-Infusion initial zu einer Steigerung der 11 β -HSD2-mRNA-Produktion. Dieser adaptive Mechanismus wurde bei längerfristiger Infusion jedoch überfordert, mit dem Resultat niedrigerer mRNA-Konzentrationen als vor der Infusion. Dies ging einher mit vermehrter fetaler Exposition für Cortisol (Cuffe, O'Sullivan, Simmons, Anderson, & Moritz, 2012).

Passend zu diesen Ergebnissen führte akuter Stress zu einer erhöhten 11 β -HSD2-Expression (Welberg, Thiruvikraman, & Plotsky, 2005), während chronischer Stress eine verminderte 11 β -HSD2 Protein-Konzentrationen zur Folge hatte (Mairesse et al., 2007). Mütterliche Angststörung, gemessen anhand des STAI-Fragebogens und depressive Symptome, gemessen anhand des EDPS-Fragebogens zum Zeitpunkt der Geburt, führten beim Menschen interessanterweise zu verminderter Aktivität und Expression der plazentaren 11 β -HSD2 (O'Donnell et al., 2012). In der „Mercy Pregnancy and Emotional Wellbeing Study“ wurde gezeigt, dass mütterliche Depression und Angststörungen zu einer Verminderung der 11 β -HSD2-Aktivität führten (Seth, Lewis, Saffery, Lappas, & Galbally, 2015).

Die hier präsentierten Ergebnisse zeigen im Gegensatz dazu eine erhöhte 11 β -HSD2-Aktivität bei mütterlicher Depression. Potentiell liegt das an dem nur moderaten Schweregrad der Depression (EDPS \leq 18) der Probandinnen.

Eventuell ist die 11 β -HSD2 bei schwer depressiven Probandinnen mit Hypercortisolämie herunterreguliert, nicht so jedoch bei Frauen mit nur moderater Depression ohne Aktivierung der HHN-Achse. Insofern scheint es möglich, dass sowohl der Zeitpunkt, also frühe vs. späte Schwangerschaft, als auch Aktivierung des HHN-Systems, Chronizität und Schweregrad der Depression beeinflussen, ob es zu einer Herauf- oder Herabregulierung der 11 β -HSD2-Aktivität in der Plazenta kommt.

Wie auch bei Ghaemmaghami und Mitarbeitern (Ghaemmaghami, Dainese, La Marca, Zimmermann, & Ehlert, 2014) konnte in der vorliegenden Arbeit kein Effekt der 11 β -HSD2-Aktivität oder der anderen Parameter im Fruchtwasser auf das Geburtsgewicht gemessen werden.

Der schwache Effekt des prägravidem *BMI der Mutter* auf die 11 β -HSD2-Aktivität ist in diesem Zusammenhang zu besprechen. An Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine Diät mit sehr hohem Fettanteil und Übergewicht zu veränderter Gen-Methylierung in der Plazenta führt (Gabory et al., 2012). Da ein großer Anteil der westlichen schwangeren Frauen übergewichtig (*BMI* 25 - 30) oder sogar adipös (*BMI* >30) ist, in der vorliegenden Studie lag dieser Anteil bei 34%, sind weitere Studien notwendig, um einen eventuellen Zusammenhang aufzudecken.

Es stellt sich weiterhin die Frage, inwieweit die 11 β -HSD1, welche Cortison wieder in Cortisol umwandelt, eine Rolle spielt und die Ergebnisse beeinflusst. Es existieren dazu unterschiedliche Forschungsergebnisse. Während Monk und Mitarbeiter (Monk et al., 2016; Seckl & Holmes, 2007) eine gegenläufige Regulation der beiden Enzyme diskutierten, kommen Arcuri und Mitarbeiter (Arcuri et al., 1998) zum Schluss, dass die 11 β -HSD1 in der Plazenta nicht zu finden ist, sondern nur in der Decidua. Wahrscheinlich sind auch hier der Fortschritt der Schwangerschaft und andere Faktoren für die unterschiedlichen Ergebnisse verantwortlich.

4.3 HHN-System

Es wurde in der vorliegenden Arbeit keine Assoziation zwischen subjektiv bewertetem Stress der Mutter und HHN-System-Regulation gefunden. Dies steht scheinbar im Gegensatz zu früheren Studien, die über erhöhte mütterliche HHN-Aktivität, gemessen anhand der Menge Cortisols im Haar, bei vermehrt erlebtem Stress im zweiten Trimenon der Schwangerschaft berichteten (Hoffman, Mazzoni, Wagner, Laudenslager, & Ross, 2016). Möglicherweise beruht das auf den unterschiedlichen Methoden der Cortisolbestimmung. Obwohl man davon ausgeht, dass Glukokortikoide im Fruchtwasser die mütterliche Aktivität der HHN-Achse und der plazentaren 11 β -HSD2-Aktivität widerspiegeln, handelt es sich um eine indirekte und momentane Messung. Es ist also möglich, dass sich chronische mütterliche HHN-System-Aktivierung besser im Cortisol der Haare abbilden lässt. Obwohl die Aktivierung des mütterlichen HHN-Systems äußerst relevant für den Ausgang der Schwangerschaft, bezogen etwa auf ein niedriges Geburtsgewicht oder Frühgeburtlichkeit, ist, war sie nicht im Zentrum dieser Arbeit.

Eine elegante Methode der Messung mütterlicher HHN-System-Aktivierung als Reaktion auf *durch Amniozentese induzierten Stress* gelang einer anderen Gruppe in Zürich (Ghaemmaghami et al., 2014). Es wurden Fragebögen und Speichelentnahmen zu bestimmten Zeitpunkten unmittelbar vor und nach der Amniozentese eingesetzt, um die Stressreaktion der Mütter auf den Eingriff zu quantifizieren. Eine Korrelation zwischen subjektiven Parametern und Fruchtwasser-Konzentration der Steroide bestand auch hier nicht, jedoch war ein Anstieg der Speichel- und Fruchtwasser-Konzentrationen der Glukokortikoide zu verzeichnen. In der vorliegenden Arbeit konnte, aufgrund des Studiendesigns, das eine Einwilligung zur Teilnahme erst nach vollzogener Amniozentese erlaubte, konnte der unmittelbare Effekt des Stress der Amniozentese nicht gemessen werden. Es wurde nur ein moderater, nicht signifikanter Effekt des subjektiv nachträglich bewerteten, durch die Amniozentese ausgelösten Stress, auf die Cortisol-Konzentration im Fruchtwasser gemessen. Der Trend des Zusammenhangs implizierte eine niedrige Cortisol-Konzentration bei hoher subjektiver Stressbelastung durch die Amniozentese. Dies könnte zum Teil durch die stressinduzierte Hochregulation der Aktivität der 11 β -HSD2 erklärt werden (Welberg et al., 2005).

4.4 Limitationen

Durch das Interview und viele Fragebögen konnte eine große Datenmenge zu verschiedenen Formen von Stress bei den Probandinnen gesammelt werden. Eine klare Limitation der Arbeit ist jedoch das Fehlen einer direkten Messung der Aktivität des mütterlichen HHN-Systems.

Auch die Aktivität der 11 β -HSD2 der Plazenta wurde nicht direkt gemessen, sondern indirekt durch das Verhältnis von Cortisol zu Cortison approximiert, was eine weitere Limitation darstellt, da diese Aktivität sehr wahrscheinlich nicht völlig unabhängig von der Aktivität des mütterlichen HHN-Systems ist.

Außerdem waren die meisten Stressoren der Probandinnen, wie etwa der Schweregrad der Depression, eher moderat ausgeprägt, und es ist davon auszugehen, dass stärkere Effekte bei extremerer Ausprägung der Stressoren zu erwarten sind.

Es gelang, gestresste mit nicht oder weniger gestressten Probandinnen zu vergleichen. Jedoch handelt es sich bei Frauen, die sich einer Amniozentese unterziehen lassen, möglicherweise um eine vorselektierte Gruppe, die nicht mit der Gesamtbevölkerung zu vergleichen ist. Das Durchschnittsalter der hier untersuchten Frauen lag bei 36,3 Jahren, was auf die erhöhte Wahrscheinlichkeit chromosomaler Aberrationen im fortgeschrittenen Alter und damit einhergehender medizinischer Indikation zurückzuführen ist. Ob die hier vorgestellten Ergebnisse auf jüngere Frauen extrapoliert werden können, bleibt unklar.

4.5 Ausblick

Zusammenfassend wurde ein Zusammenhang zwischen frühen Störungen im Leben der Mütter mit einer erhöhten BDNF-Konzentration im Fruchtwasser gefunden. Eine weiterführende Arbeit zur Klärung eventueller epigenetischer Mechanismen wäre sinnvoll. Probandinnen mit Depression hatten in dieser Studie eine erhöhte Aktivität der 11 β -HSD2. Dieser protektive Effekt könnte ein Adaptationsmechanismus sein, um die Effekte von mütterlichem Stress auf den Fetus zu dämpfen. Auch hier wären Folgestudien zur Klärung eventueller Mechanismen dieses Effekts interessant. Die hier vorgestellten Ergebnisse unterstützen die Theorie, dass soziale Bedingungen während der Schwangerschaft und während des früheren Lebens der Mutter einen Einfluss auf die Entwicklung und Gesundheit des Fetus haben.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Viele Hinweise deuten darauf hin, dass die Umwelt sowohl während der Schwangerschaft als auch davor einen Einfluss auf die Entwicklung und Gesundheit des Kindes nimmt. BDNF und Glukokortikoide sind als Effektoren an diesem Zusammenhang beteiligt.

BDNF im Fruchtwasser ist wahrscheinlich vor allem kindlichen Ursprungs, während Glukokortikoide vor allem vom mütterlichen Plasma an das Fruchtwasser abgegeben werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese getestet, inwieweit *Stress vor der Schwangerschaft*, *aktuelle affektive Störung* und *aktueller Stress* Einfluss auf die Konzentration von BDNF und den Glukokortikoiden im Fruchtwasser nehmen.

79 Frauen mit vollständigen Datensätzen wurden für die Studie nach einer durchgeführten Amniozentese im frühen zweiten Trimenon befragt und aufgefordert Fragebögen auszufüllen. *Aktueller Stress* (PSS-Fragebogen), *Early Life Stress* (CTQ-Fragebogen), *State Angst* (STAI-S-Fragebogen), das *Nettohaushaltseinkommen*, *aktuelle affektive Störung* (M.I.N.I.-Interview) und erfragte demographische und anthropometrische Merkmale der Mütter (*Gewicht der Mutter*, etc.) wurden mit den endokrinologischen Werten aus dem Fruchtwasser in Beziehung gesetzt.

Early Life Stress hatte einen signifikanten positiven Effekt auf die BDNF-Konzentration im Fruchtwasser. Außerdem zeigte sich eine signifikant erhöhte 11 β -HSD2-Aktivität bei den 17 Probandinnen mit einer affektiven Störung.

Schwächere Effekte waren der Einfluss des *Nettohaushaltseinkommens* und des *BMI*s auf die Glukokortikoid-Konzentration.

Die erhöhte BDNF-Konzentration bei Frauen, die in ihrer Kindheit misshandelt oder vernachlässigt worden sind, lässt sich am ehesten als Adaptationsmechanismus verstehen.

Die 11 β -HSD2-Aktivität wird unterschiedlich von akutem und chronischem Stress beeinflusst. Eine erhöhte Aktivität bei depressiven schwangeren Frauen spricht für einen Schutzmechanismus, um den Fetus vor zu hohen Konzentrationen zu schützen.

6 LEBENSLAUF

Curriculum Vitae

Ferdinand Hendlmeier

Geburtsort: Dachau

Okt 2010 - Mai 2017	Studium der Humanmedizin, Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg
Apr 2017	3. Staatsexamen, Note 2
Apr 2016	USMLE Step 2, 264 Punkte
Apr 2016	2. Staatsexamen, Note 1
Mai 2014	USMLE Step 1, 252 Punkte
Sep 2012	1. Staatsexamen, Note 1

7 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei dieser Arbeit über die letzten Jahre unterstützt und mir geholfen haben.

Allen voran bei meinem Betreuer und Doktorvater Professor Dr. med. Michael Deuschle, durch dessen Begeisterung ich diese Arbeit erst begonnen habe. Seine ständige Erreichbarkeit und Unterstützung halfen mir dabei, diese Arbeit fertigzustellen.

Als nächstes bedanke ich mich bei all den schwangeren Frauen, die sich zusätzlich zu den Belastungen ihres Alltags dazu bereit erklärt haben, an dieser Studie teilzunehmen, und die mir bereitwillig aus ihrem Leben erzählt haben. Die Arbeit wurde dadurch für mich zu einer Herzensangelegenheit.

Bei Dr. med. Uwe Mackrott und Dr. med. Matthias Michel bedanke ich mich für das fleißige Rekrutieren von Probandinnen.

Bei Alexandra Donk und Margit Hendlmeier bedanke ich mich für das Korrekturlesen. Außerdem bedanke ich mich bei Christine Hohmeyer und den MitarbeiterInnen des Labors für Humangenetik für die Unterstützung.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. nat. Anja Louis und Frau Dr. med. Sabine Hentze und ihrem äußerst professionellen und hilfreichen Team des Labors für Humangenetische Diagnostik für Ihre Unterstützung und Mitwirkung an der Studie.

8 LITERATURVERZEICHNIS

- Ackenheil, M., Stotz-Ingenlath, G., Dietz-Bauer, R., & Vossen, A. (1999). *M.I.N.I. Mini Internationale Neuropsychiatric Interview (German version 5.0.0, DSM-IV)*. Retrieved from
- Alder, J., Fink, N., Bitzer, J., Hösli, I., & Holzgreve, W. (2009). Depression and anxiety during pregnancy: A risk factor for obstetric, fetal and neonatal outcome? A critical review of the literature. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, *20*(3), 189-209. doi:10.1080/14767050701209560
- Anacker, C., O'Donnell, K. J., & Meaney, M. J. (2014). Early life adversity and the epigenetic programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function. *Dialogues Clin Neurosci*, *16*(3), 321-333.
- Arcuri, F., Sestini, S., Paulesu, L., Bracci, L., Carducci, A., Manzoni, F., . . . Cintonino, M. (1998). 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase expression in first trimester human trophoblasts. *Mol Cell Endocrinol*, *141*(1-2), 13-20.
- Babenko, O., Kovalchuk, I., & Metz, G. A. S. (2015). Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *48*, 70-91. doi:10.1016/j.neubiorev.2014.11.013
- Baibazarova, E., van de Beek, C., Cohen-Kettenis, P. T., Buitelaar, J., Shelton, K. H., & van Goozen, S. H. (2013). Influence of prenatal maternal stress, maternal plasma cortisol and cortisol in the amniotic fluid on birth outcomes and child temperament at 3 months. *Psychoneuroendocrinology*, *38*(6), 907-915. doi:10.1016/j.psyneuen.2012.09.015
- Bergant, A. M., Nguyen, T., Heim, K., Ulmer, H., & Dapunt, O. (1998). [German language version and validation of the Edinburgh postnatal depression scale]. *Dtsch Med Wochenschr*, *123*(3), 35-40. doi:10.1055/s-2007-1023895
- Berry, A., Panetta, P., Luoni, A., Bellisario, V., Capoccia, S., Riva, M. A., & Cirulli, F. (2015). Decreased Bdnf expression and reduced social behavior in periadolescent rats following prenatal stress. *Dev Psychobiol*, *57*(3), 365-373. doi:10.1002/dev.21297
- Bierer, L. M., Bader, H. N., Daskalakis, N. P., Lehrner, A. L., Makotkine, I., Seckl, J. R., & Yehuda, R. (2014). Elevation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity in Holocaust survivor offspring: evidence for an intergenerational effect of maternal trauma exposure. *Psychoneuroendocrinology*, *48*, 1-10. doi:10.1016/j.psyneuen.2014.06.001
- Boersma, G. J., Lee, R. S., Cordner, Z. A., Ewald, E. R., Purcell, R. H., Moghadam, A. A., & Tamashiro, K. L. (2014). Prenatal stress decreases Bdnf expression and increases methylation of Bdnf exon IV in rats. *Epigenetics*, *9*(3), 437-447. doi:10.4161/epi.27558
- Bohacek, J., & Mansuy, I. M. (2015). *Molecular Insights into Transgenerational Non-Genetic Inheritance of Acquired Behaviours*. (Vol. 16 SRC - Google Scholar).
- Bowers, M. E., & Yehuda, R. (2016). Intergenerational Transmission of Stress in Humans. *Neuropsychopharmacology*, *41*(1), 232-244. doi:10.1038/npp.2015.247
- Braithwaite, E. C., Kundakovic, M., Ramchandani, P. G., Murphy, S. E., & Champagne, F. A. (2015). Maternal prenatal depressive symptoms predict

- infant NR3C1 1F and BDNF IV DNA methylation. *Epigenetics*, 10(5), 408-417. doi:10.1080/15592294.2015.1039221
- Buchmann, A. F., Hellweg, R., Rietschel, M., Treutlein, J., Witt, S. H., Zimmermann, U. S., . . . Deuschle, M. (2013). BDNF Val 66 Met and 5-HTTLPR genotype moderate the impact of early psychosocial adversity on plasma brain-derived neurotrophic factor and depressive symptoms: a prospective study. *Eur Neuropsychopharmacol*, 23(8), 902-909. doi:10.1016/j.euroneuro.2012.09.003
- Buschdorf, J. P., & Meaney, M. J. (2015). Epigenetics/Programming in the HPA Axis. *Compr Physiol*, 6(1), 87-110. doi:10.1002/cphy.c140027
- Cattaneo, A., Bocchio-Chiavetto, L., Zanardini, R., Marchina, E., Bellotti, D., Milanese, E., . . . Gennarelli, M. (2010). BDNF Val66Met polymorphism and protein levels in amniotic fluid. *BMC Neurosci*, 11, 16. doi:10.1186/1471-2202-11-16
- Cho, C. K., Shan, S. J., Winsor, E. J., & Diamandis, E. P. (2007). Proteomics analysis of human amniotic fluid. *Mol Cell Proteomics*, 6(8), 1406-1415. doi:10.1074/mcp.M700090-MCP200
- Chouthai, N. S., Sampers, J., Desai, N., & Smith, G. M. (2003). Changes in neurotrophin levels in umbilical cord blood from infants with different gestational ages and clinical conditions. *Pediatr Res*, 53(6), 965-969. doi:10.1203/01.PDR.0000061588.39652.26
- Cohen, S., Karmarck, T., & Mermelstein, R. (1983). A global measure of perceived stress. *J Health Soc Behav*, 24(4), 385-396.
- Conradt, E., Fei, M., LaGasse, L., Tronick, E., Guerin, D., Gorman, D., . . . Lester, B. M. (2015). Prenatal predictors of infant self-regulation: the contributions of placental DNA methylation of NR3C1 and neuroendocrine activity. *Front Behav Neurosci*, 9, 130. doi:10.3389/fnbeh.2015.00130
- Cottrell, E. C., Seckl, J. R., Holmes, M. C., & Wyrwoll, C. S. (2014). Foetal and placental 11beta-HSD2: a hub for developmental programming. *Acta Physiol (Oxf)*, 210(2), 288-295. doi:10.1111/apha.12187
- Cox, J. L., Holden, J. M., & Sagovsky, R. (1987). Detection of postnatal depression. Development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale. *Br J Psychiatry*, 150, 782-786.
- Cuffe, J. S., O'Sullivan, L., Simmons, D. G., Anderson, S. T., & Moritz, K. M. (2012). Maternal corticosterone exposure in the mouse has sex-specific effects on placental growth and mRNA expression. *Endocrinology*, 153(11), 5500-5511. doi:10.1210/en.2012-1479
- Deuschle, M., Gilles, M., Scharnholz, B., Lederbogen, F., Lang, U. E., & Hellweg, R. (2013). Changes of serum concentrations of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) during treatment with venlafaxine and mirtazapine: role of medication and response to treatment. *Pharmacopsychiatry*, 46(2), 54-58. doi:10.1055/s-0032-1321908
- Dowd, J. B. (2007). Early childhood origins of the income/health gradient: the role of maternal health behaviors. *Soc Sci Med*, 65(6), 1202-1213. doi:10.1016/j.socscimed.2007.05.007
- Engelhardt, B. (2003). Development of the blood-brain barrier. *Cell Tissue Res*, 314(1), 119-129. doi:10.1007/s00441-003-0751-z
- Fukami, E., Nakayama, A., Sasaki, J., Mimura, S., Mori, N., & Watanabe, K. (2000). Underexpression of neural cell adhesion molecule and neurotrophic factors in rat brain following thromboxane A2-induced intrauterine growth retardation. *Early Human Development*, 58(2), 101-110. doi:Doi 10.1016/S0378-3782(00)00068-2

- Fumagalli, F., Bedogni, F., Perez, J., Racagni, G., & Riva, M. A. (2004). Corticostriatal brain-derived neurotrophic factor dysregulation in adult rats following prenatal stress. *Eur J Neurosci*, *20*(5), 1348-1354. doi:10.1111/j.1460-9568.2004.03592.x
- Fumagalli, F., Molteni, R., Racagni, G., & Riva, M. A. (2007). Stress during development: Impact on neuroplasticity and relevance to psychopathology. *Prog Neurobiol*, *81*(4), 197-217. doi:10.1016/j.pneurobio.2007.01.002
- Fydrich, T., Sommer, G., Tydecks, S., & Braehler, E. (2009). Social Support Questionnaire (F-SOZU): Standardization of short form (K-14). *Zeitschrift für Medizinische Psychologie*, *18*(1), 43-48.
- Gabory, A., Ferry, L., Fajardy, I., Jouneau, L., Gothie, J. D., Vige, A., . . . Junien, C. (2012). Maternal diets trigger sex-specific divergent trajectories of gene expression and epigenetic systems in mouse placenta. *PLoS One*, *7*(11), e47986. doi:10.1371/journal.pone.0047986
- Gavin, A. R., Hill, K. G., Hawkins, J. D., & Maas, C. (2011). The role of maternal early-life and later-life risk factors on offspring low birth weight: findings from a three-generational study. *J Adolesc Health*, *49*(2), 166-171. doi:10.1016/j.jadohealth.2010.11.246
- Ghaemmaghami, P., Dainese, S. M., La Marca, R., Zimmermann, R., & Ehlert, U. (2014). The association between the acute psychobiological stress response in second trimester pregnant women, amniotic fluid glucocorticoids, and neonatal birth outcome. *Dev Psychobiol*, *56*(4), 734-747. doi:10.1002/dev.21142
- Giesbrecht, G. F., Campbell, T., Letourneau, N., Kooistra, L., Kaplan, B., & Team, A. P. S. (2012). Psychological distress and salivary cortisol covary within persons during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*, *37*(2), 270-279. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.06.011
- Gilmore, J. H., Jarskog, L. F., & Vadlamudi, S. (2003). Maternal infection regulates BDNF and NGF expression in fetal and neonatal brain and maternal-fetal unit of the rat. *Journal of Neuroimmunology*, *138*(1-2), 49-55. doi:10.1016/s0165-5728(03)00095-x
- Glover, V., O'Connor, T. G., & O'Donnell, K. (2010). Prenatal stress and the programming of the HPA axis. *Neurosci Biobehav Rev*, *35*(1), 17-22. doi:10.1016/j.neubiorev.2009.11.008
- Harris, A., & Seckl, J. (2011). Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Horm Behav*, *59*(3), 279-289. doi:10.1016/j.yhbeh.2010.06.007
- Heijmans, B. T., Tobi, E. W., Stein, A. D., Putter, H., Blauw, G. J., Susser, E. S., . . . Lumey, L. H. (2008). Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *105*(44), 17046-17049. doi:10.1073/pnas.0806560105
- Hellweg, R., Lohmann, P., Huber, R., Kuhl, A., & Riepe, M. W. (2006). Spatial navigation in complex and radial mazes in APP23 animals and neurotrophin signaling as a biological marker of early impairment. *Learn Mem*, *13*(1), 63-71. doi:10.1101/lm.2606
- Hellweg, R., von Arnim, C. A., Buchner, M., Huber, R., & Riepe, M. W. (2003). Neuroprotection and neuronal dysfunction upon repetitive inhibition of oxidative phosphorylation. *Exp Neurol*, *183*(2), 346-354.
- Hoffman, M. C., Mazzoni, S. E., Wagner, B. D., Laudenslager, M. L., & Ross, R. G. (2016). Measures of Maternal Stress and Mood in Relation to Preterm Birth. *Obstet Gynecol*, *127*(3), 545-552. doi:10.1097/AOG.0000000000001287

- Jensen Pena, C., Monk, C., & Champagne, F. A. (2012). Epigenetic effects of prenatal stress on 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase-2 in the placenta and fetal brain. *PLoS One*, 7(6), e39791. doi:10.1371/journal.pone.0039791
- Kähler, C., Gembruch, U., Heling, K.-S., Henrich, W., & Schramm, T. (2013). Empfehlungen der DEGUM zur Durchführung von Amniozentese und Chorionzottenbiopsie. *Ultraschall in Med*(34), 435-440. doi:10.1055/s-0033-1335685
- Karege, F., & M. (2002). Postnatal Development Profile of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Rat Brain and Platelets. *Neurosci Lett*, 328, 261-264.
- Kendall-Tackett, K. (2002). *The Health Effects of Childhood Abuse: Four Pathways by Which Abuse Can Influence Health* (Vol. 2134).
- Klinitzke, G., Romppel, M., Häuser, W., Brähler, E., & Glaesmer, H. (2012). The German Version of the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) - Psychometric Characteristics in a Representative Sample of the General Population. *Psychother Psych Med*, 62, 47–51.
- Körner, A., Geyer, M., Roth, M., Drapeau, M., Schmutzer, G., Albani, C., . . . Brähler, E. (2008). Persönlichkeitsdiagnostik mit dem NEO-Fünf-Faktoren-Inventar: Die 30-Item-Kurzversion (NEO-FFI-30). *Psychother Psych Med*, 58, 238-245.
- Kundakovic, M., Gudsnuk, K., Herbstman, J. B., Tang, D., Perera, F. P., & Champagne, F. A. (2015). DNA methylation of BDNF as a biomarker of early-life adversity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(22), 6807-6813. doi:10.1073/pnas.1408355111
- La Marca-Ghaemmaghami, P., Dainese, S. M., La Marca, R., Zimmermann, R., & Ehlert, U. (2015). The acute autonomic stress response and amniotic fluid glucocorticoids in second-trimester pregnant women. *Psychosom Med*, 77(1), 41-49. doi:10.1097/PSY.0000000000000130
- Lawlor, D., C Relton, N Sattar, & Nelson, S. (2012). Maternal Adiposity-a Determinant of Perinatal and Offspring Outcomes? *Nat Rev Endocrinol*, 679-688.
- Mairesse, J., Lesage, J., Breton, C., Breant, B., Hahn, T., Darnaudery, M., . . . Viltart, O. (2007). Maternal stress alters endocrine function of the fetoplacental unit in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 292(6), E1526-1533. doi:10.1152/ajpendo.00574.2006
- Maisonpierre, P. C., Belluscio, L., Friedman, B., Alderson, R. F., Wiegand, S. J., Furth, M. E., . . . Yancopoulos, G. D. (1990). NT-3, BDNF,NGF in the Developing Rat Nervous System: Parallel as Well as Reciprocal Pattern of Expression. *Neuron*, 5, 501-509.
- McCrae, R. R., & John, O. P. (1992). An Introduction to the Five-Factor Model and Its Applications. *Journal of Personality*, 60(2), 175-215.
- McEwen, B. S. (1998). Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci*, 840, 33-44.
- Mina, T. H., Raikonen, K., Riley, S. C., Norman, J. E., & Reynolds, R. M. (2015). Maternal distress associates with placental genes regulating fetal glucocorticoid exposure and IGF2: Role of obesity and sex. *Psychoneuroendocrinology*, 59, 112-122. doi:10.1016/j.psyneuen.2015.05.004
- Monk, C., Feng, T., Lee, S., Krupka, I., Champagne, F. A., & Tycko, B. (2016). Distress During Pregnancy: Epigenetic Regulation of Placenta Glucocorticoid-Related Genes and Fetal Neurobehavior. *Am J Psychiatry*, 173(7), 705-713. doi:10.1176/appi.ajp.2015.15091171

- Morgan, C. P., & Bale, T. L. (2011). Early prenatal stress epigenetically programs dysmasculinization in second-generation offspring via the paternal lineage. *J Neurosci*, 31(33), 11748-11755. doi:10.1523/JNEUROSCI.1887-11.2011
- Muller, M. E. (1993). Development of the Prenatal Attachment Inventory. *West J Nurs Res*, 15(2), 199-211.
- O'Donnell, K. J., Bugge Jensen, A., Freeman, L., Khalife, N., O'Connor, T. G., & Glover, V. (2012). Maternal prenatal anxiety and downregulation of placental 11beta-HSD2. *Psychoneuroendocrinology*, 37(6), 818-826. doi:10.1016/j.psyneuen.2011.09.014
- Page, K. C., Jones, E. K., & Anday, E. K. (2014). Maternal and postweaning high-fat diets disturb hippocampal gene expression, learning, and memory function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 306(8), R527-537. doi:10.1152/ajpregu.00319.2013
- Pallant, J. F., Haines, H. M., Hildingsson, I. M., & Rubertsson, C. (2014). Psychometric evaluation and refinement of the Prenatal Attachment Inventory. *Journal of Reproductive and Infant Psychology*, 32(2).
- Pembrey, M., Saffery, R., Bygren, L. O., & Epidemiology, N. i. E. (2014). Human transgenerational responses to early-life experience: potential impact on development, health and biomedical research. *J Med Genet*, 51(9), 563-572. doi:10.1136/jmedgenet-2014-102577
- Radtke, K. M., Ruf, M., Gunter, H. M., Dohrmann, K., Schauer, M., Meyer, A., & Elbert, T. (2011). Transgenerational impact of intimate partner violence on methylation in the promoter of the glucocorticoid receptor. *Transl Psychiatry*, 1, e21. doi:10.1038/tp.2011.21
- Razoux, F., Russig, H., Mueggler, T., Baltes, C., Dikaiou, K., Rudin, M., & Mansuy, I. M. (2016). Transgenerational disruption of functional 5-HT1AR-induced connectivity in the adult mouse brain by traumatic stress in early life. *Mol Psychiatry*. doi:10.1038/mp.2016.146
- Reynolds, R. M., Pesonen, A. K., O'Reilly, J. R., Tuovinen, S., Lahti, M., Kajantie, E., . . . Raikkonen, K. (2015). Maternal depressive symptoms throughout pregnancy are associated with increased placental glucocorticoid sensitivity. *Psychol Med*, 45(10), 2023-2030. doi:10.1017/S003329171400316X
- Roseboom, T. J., van der Meulen, J. H., Osmond, C., Barker, D. J., Ravelli, A. C., Schroeder-Tanka, J. M., . . . Bleker, O. P. (2000). Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart*, 84(6), 595-598.
- Saavedra-Rodriguez, L., & Feig, L. A. (2013). Chronic social instability induces anxiety and defective social interactions across generations. *Biol Psychiatry*, 73(1), 44-53. doi:10.1016/j.biopsych.2012.06.035
- Sánchez-Guijo, A., Hartmann, M. F., Shi, L., Remer, T., & A.Wudy, S. (2013). Determination of free cortisol and free cortisone in human urine by on-line turbulent flow chromatography coupled to fused-core chromatography–tandem mass spectrometry (TFC–HPLC–MS/MS). *Anal Bioanal Chem*. doi:10.1007/s00216-013-7505-x
- Sarason, I. G., Johnson, J. H., & Siegel, J. M. (1978). Assessing the impact of life changes: development of the life experiences survey. *J Consult Clin Psych*, 46(5), 932-946.
- Sarkar, P., Bergman, K., O'Connor, T. G., & Glover, V. (2008). Maternal antenatal anxiety and amniotic fluid cortisol and testosterone: possible implications for foetal programming. *J Neuroendocrinol*, 20(4), 489-496. doi:10.1111/j.1365-2826.2008.01659.x

- Scher, C. D., Stein, M. B., Asmundson, G. J., McCreary, D. R., & Forde, D. R. (2001). The childhood trauma questionnaire in a community sample: psychometric properties and normative data. *J Trauma Stress, 14*(4), 843-857. doi:10.1023/A:1013058625719
- Schumacher, J., Leppert, K., Gunzelmann, T., Strauß, B., & Brähler, E. (2004). Die Resilienzskala – Ein Fragebogen zur Erfassung der psychischen Widerstandsfähigkeit als Personenmerkmal. *Z f Klinische Psychologie, Psychiatrie und Psychotherapie*.
- Seckl, J. R., & Holmes, M. C. (2007). Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab, 3*(6), 479-488. doi:10.1038/ncpendmet0515
- Selye, H. (1956). What is stress? *Metabolism, 5*(5), 525-530.
- Seth, S., Lewis, A. J., Saffery, R., Lappas, M., & Galbally, M. (2015). Maternal Prenatal Mental Health and Placental 11beta-HSD Expression: Initial Findings from the Mercy Pregnancy and Emotional Wellbeing Study. *Int J Mol Sci, 16 SRC - Google Scholar, 27482-27496*.
- Sheehan, D. V., Lecrubier, Y., Sheehan, K. H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., . . . Dunbar, G. C. (1998). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD 10. *J Clin Psychiatry, 59*(Suppl 20:22-33), quiz 34-57.
- Spielberger, C. D., Lushene, P. R., Vagg, P. R., & Jacobs, G. A. (1983). Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. *Consulting Psychologists Press, Inc*.
- Staneva, A., Bogossian, F., Pritchard, M., & Wittkowski, A. (2015). The effects of maternal depression, anxiety, and perceived stress during pregnancy on preterm birth: A systematic review. *Women Birth, 28*(3), 179-193. doi:10.1016/j.wombi.2015.02.003
- Togher, K. L., O'Keefe, M. M., Khashan, A. S., Gutierrez, H., Kenny, L. C., & O'Keefe, G. W. (2014). Epigenetic regulation of the placental HSD11B2 barrier and its role as a critical regulator of fetal development. *Epigenetics, 9*(6), 816-822. doi:10.4161/epi.28703
- Turpeinen, U., & Hamalainen, E. (2013). Determination of cortisol in serum, saliva and urine. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 27*(6), 795-801. doi:10.1016/j.beem.2013.10.008
- Underwood, M. A., Gilbert, W. M., & Sherman, M. P. (2005). Amniotic fluid: not just fetal urine anymore. *J Perinatol, 25*(5), 341-348. doi:10.1038/sj.jp.7211290
- Van den Bergh, B. R., Mulder, E. J., 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), 237-258. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.10.007
- Wagnild, G. M., & Young, H. M. (1993). Development and Psychometric Evaluation of the Resilience Scale. *Journal of Nursing Measurement, 1*(2).
- Wang, C. F., & Y., L. (2008). Relationship between Brain-Derived Neurotrophic Factor and Birth Weight in Neonates. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 10*, 70-72.
- Welberg, L. A., Thirivikraman, K. V., & Plotsky, P. M. (2005). Chronic maternal stress inhibits the capacity to up-regulate placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity. *J Endocrinol, 186*(3), R7-R12. doi:10.1677/joe.1.06374
- Winston, J. H., Li, Q., & Sarna, S. K. (2014). Chronic prenatal stress epigenetically modifies spinal cord BDNF expression to induce sex-specific visceral

- hypersensitivity in offspring. *Neurogastroenterol Motil*, 26(5), 715-730. doi:10.1111/nmo.12326
- Wittchen, H. U., & Boyer, P. (1998). Screening for anxiety disorders. Sensitivity and specificity of the Anxiety Screening Questionnaire (ASQ-15). . *Br J Psychiatry Suppl*, 10-17.
- Yali, A. M., & Lobel, M. (1999). Coping and distress in pregnancy: an investigation of medically high risk women. *J Psychosom Obstet Gynaecol*, 20, 39-52.
- Yu, I. T., Lee, S. H., Lee, Y. S., & Son, H. (2004). Differential effects of corticosterone and dexamethasone on hippocampal neurogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 317(2), 484-490. doi:10.1016/j.bbrc.2004.03.071
- Ziegenhorn, A. A., Schulte-Herbruggen, O., Danker-Hopfe, H., Malbranc, M., Hartung, H. D., Anders, D., . . . Hellweg, R. (2007). Serum neurotrophins--a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. *Neurobiol Aging*, 28(9), 1436-1445. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2006.06.011