

Aus dem Center for Cardiovascular Research (CCR)  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

## DISSERTATION

**Einfluss des PROGINS-Polymorphismus des  
Progesteronrezeptorgens auf die respiratorische  
Anpassungsstörung des Neugeborenen**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Aline Burdack  
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. B. Hoher  
2. Priv.-Doz. Dr. med. F. Guthmann  
3. Prof. Dr. med. F. Lang

Datum der Promotion: 08.04.2011

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1.	Definition und Epidemiologie der transienten Tachypnoe .....	5
1.2.	Ätiologie und Pathogenese der transienten Tachypnoe.....	5
1.3.	Symptome und Befunde der transienten Tachypnoe .....	12
1.4.	Diagnostik und Differentialdiagnosen der transienten Tachypnoe .....	12
1.5.	Therapie der transienten Tachypnoe .....	12
1.6.	Prognose und mögliche Folgen der transienten Tachypnoe.....	13
1.7.	mögliche Bedeutung des Progesterons und anderer Hormone für die Lungenreifung und in der Pathogenese der transienten Tachypnoe.....	14
1.8.	Die Progesteronrezeptoren.....	20
1.9.	Der PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens.....	22
1.9.1.	Mammakarzinom.....	24
1.9.2.	Endometriumkarzinom .....	25
1.9.3.	Ovarialkarzinom .....	25
1.9.4.	Endometriose .....	26
1.9.5.	Leiomyome des Uterus .....	27
1.10.	Zielsetzung.....	27
<b>2</b>	<b>MATERIALIEN, GERÄTE UND METHODEN .....</b>	<b>28</b>
2.1.	Materialien .....	28
2.1.1.	Puffer und Lösungen.....	28
2.1.2.	Reagenzien.....	29
2.2.	Geräte.....	30
2.3.	Methoden.....	30
2.3.1.	Datenerhebung .....	30
2.3.2.	Materialgewinnung .....	33
2.3.3.	Isolierung der DNA aus der Vollblutprobe .....	34
2.3.4.	PCR .....	34

2.3.4.1.	Prinzip .....	34
2.3.4.2.	Durchführung .....	35
2.3.5.	Gelelektrophorese.....	37
2.3.5.1.	Prinzip .....	37
2.3.5.2.	Durchführung .....	37
2.3.6.	Anfärbung und Visualisierung .....	38
2.3.7.	statistische Auswertung .....	39
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>40</b>
3.1.	Beschreibung der Studienpopulation .....	40
3.2.	Häufigkeit und Verteilung des PROGINS-Allels.....	42
3.3.	Analyse der Studienpopulation nach mütterlichem PROGINS-Genotyp .....	43
3.4.	Analyse der Studienpopulation nach kindlichem PROGINS-Genotyp.....	46
3.5.	respiratorische Erkrankungen des Neugeborenen.....	49
3.6.	Regressionsanalyse.....	60
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>63</b>
4.1.	Interpretation der Ergebnisse.....	63
4.2.	Der PROGINS-Polymorphismus des humanen Progesteronrezeptorgens..	69
4.2.1.	molekulare Ebene .....	69
4.2.2.	Studienlage .....	70
4.3.	Zusammenhang zwischen Progesteron, der pulmonalen Physiologie und Pathophysiologie.....	70
4.4.	Zusammenhang zwischen dem PROGINS-Polymorphismus und der respiratorischen Anpassungsstörung.....	74
4.5.	Methodenkritik.....	78
4.6.	Ausblick .....	78
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>80</b>
<b>6</b>	<b>ABKÜRZUNGEN.....</b>	<b>84</b>

<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>86</b>
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF.....</b>	<b>97</b>
<b>9</b>	<b>PUBLIKATIONS LISTE.....</b>	<b>98</b>
<b>10</b>	<b>ERKLÄRUNG.....</b>	<b>99</b>
<b>11</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>100</b>

**In Gedenken an Florian**

## 1 EINLEITUNG

Die Lungen haben als Hauptaufgabe die „äußere Atmung“, d. h., sie nehmen Sauerstoff aus der Luft auf und geben Kohlendioxid ab. Für die Durchführung dieser lebensnotwendigen Funktion ist der ungestört ablaufende komplexe Prozess der Morphogenese dieses Organs ebenso unerlässlich wie die postnatale Adaptation.

Die Entwicklung der Lungen wird in drei Zeitperioden aufgeteilt: In der *Embryonalperiode* der Lungenentwicklung schließt sich der Abfaltung der Lungenanlage aus der Laryngotrachealrinne die Aufteilung in die beiden asymmetrischen Lungenknospen sowie die weitere Unterteilung der Organanlage nach einem ungleichmäßig dichotomen Verzweigungsmuster an. Aus den Anlagen der Hauptbronchien entstehen die Stämme der späteren Lappenbronchien, die durch weitere Aufzweigung die Segmentbronchien hervorbringen. Auch die Lungengefäße werden in ihrer spezifischen Position angelegt.

Der erste Abschnitt der Fetalperiode der Lungenentwicklung wird aufgrund der histologischen Struktur der Lungenanlage als *pseudoglanduläre Phase* bezeichnet und erstreckt sich bis zur 17. SSW. In einem zellreichen Mesenchym wird der gesamte spätere luftleitende Teil des Bronchialbaumes einschließlich der Bronchioli terminales angelegt. Die Differenzierung des Flimmerepithels mit Becherzellen, die Ausbildung der Bronchialdrüsen, der Knorpelspangen und der glatten Muskulatur schreitet entlang der Bronchialanlagen von proximal nach distal fort.

Die sich anschließende *kanalikuläre Phase der Fetalperiode* dauert bis zur 26. SSW und umfasst die Ausbildung der Canaliculi distal der Bronchioli terminales, aus denen die gasaustauschenden Abschnitte hervorgehen. Alle von einem terminalen Bronchiolus aussprossenden Tubuli werden von Mesenchym zu einer Einheit, dem zukünftigen Azinus, zusammengeschlossen.

Der Übergang zur *alveolären Phase* beginnt in der 23. bis 24. SSW. Dieser Entwicklungsabschnitt ist durch zwei Prozesse geprägt: Das Mesenchym bildet um die distalen Canaliculi herum netzartig Bündel kollagener und elastischer Fasern. In die Maschen dieser Netze hinein buchtet sich das proliferierende Epithel vor. Die erste Generation der Alveolen entsteht. Zeitgleich entstehen im Mesenchym um jeden distalen Canaliculus herum dichte Kapillarnetze als Luft-Blut-Schranke für den Gasaustausch. Das Epithel differenziert sich in die flachen Typ-I-

Alveolarepithelzellen, die 97 % der Alveolaroberfläche ausmachen werden, und deren teilungsfähige Mutterzellen, die kubischen Typ-II-Alveolarepithelzellen, die aus Lipiden, vor allem Phospholipiden, und Proteinen das für die Herabsetzung der Oberflächenspannung wichtige Surfactant (surface active agent) bilden und sezernieren, das später die innere Oberfläche der Alveolen bedecken wird [43, 56].

Die Lunge eines reifen Neugeborenen besitzt zwar einen voll entwickelten Bronchialbaum und einen mit allen Verzweigungsgenerationen ausgebildeten, jedoch recht kurzen gasaustauschenden Abschnitt der Luftwege, aber die Entwicklung des Atmungsorgans ist damit noch nicht abgeschlossen. Die postnatale Periode der Lungenentwicklung dauert bis zum 8. Lebensjahr und ist durch ein starkes Längenwachstum der respiratorischen Bronchiolen und Alveolengänge sowie ein Größenwachstum der Alveolen gekennzeichnet [6].

Von besonderer Wichtigkeit ist die perinatale Adaptation des Neugeborenen an die eigenständige Atmung, die abhängig ist von einer normal entwickelten Lungenstruktur, der präzisen Regulation von Ventilation und Perfusion, von einer ausreichenden Produktion von Surfactant und von der regelrechten Entfernung der in der Fetalzeit physiologisch vorkommenden pulmonalen Flüssigkeit. Eine unzureichende oder fehlerhafte Entwicklung der Lungen und/oder die ungenügende Anpassung an die veränderten Kreislaufverhältnisse führen zu Atemstörungen nach der Geburt. Diese sind die Hauptursache für die Morbidität sowie ein wichtiger Einflussfaktor auf die Mortalität in der Postnatalperiode (siehe Abbildung 1) und treten in unterschiedlicher Form auf [65, 66]:



Tabelle 1: Auszug, gekürzt, aus dem ICD-10-Diagnosenkatalog von 2006 [91]

Krankheiten des Atmungs- und Herz-Kreislaufsystems, die für die Perinatalperiode spezifisch sind:

P20	intrauterine Hypoxie
P21	Asphyxie unter der Geburt
P22	Atemnot (Respiratory distress) beim Neugeborenen
P22.0	Atemnotsyndrom des Neugeborenen
P22.1	transitorische Tachypnoe des Neugeborenen
P22.8	sonstige Atemnot beim Neugeborenen
P23	angeborene Pneumonie
P24	Aspirationssyndrome des Neugeborenen
P24.0	Mekoniumaspiration durch das Neugeborene
P25	interstitielles Emphysem und verwandte Zustände
P25.1	Pneumothorax mit Ursprung in der Perinatalperiode
P26	Lungenblutung mit Ursprung in der Perinatalperiode
P27	chronische Atemwegskrankheit mit Ursprung in der Perinatalperiode
P27.1	bronchopulmonale Dysplasie
P28	sonstige Störungen der Atmung mit Ursprung in der Perinatalperiode
P28.4	Apnoe beim Neugeborenen
P28.5	respiratorisches Versagen beim Neugeborenen
P29	kardiovaskuläre Erkrankungen mit Ursprung in der Perinatalperiode

Ursachen für neonatale Atemstörungen sind vielfältig. Sie können

- pulmonal,
- kardial (z. B. Herzfehler),
- zentral (z. B. Atemantriebsstörungen) bedingt sein oder auf
- systemische Erkrankungen (z. B. Sepsis),
- eine starke Sedierung der Mutter unter der Geburt oder
- Fehlbildungen z. B. der oberen Atemwege zurück zu führen sein.

Der häufigste Grund für respiratorische Auffälligkeiten beim Neugeborenen sind Störungen des Gasaustausches auf pulmonaler Ebene. Im Allgemeinen sind Frühgeborene häufiger von Atemstörungen betroffen als Reifgeborene (siehe

Abbildung 2). Einige dieser Erkrankungen treffen bevorzugt Frühgeborene (RDS), andere – wie das Mekoniumaspirationssyndrom – vor allem Reifgeborene [29].

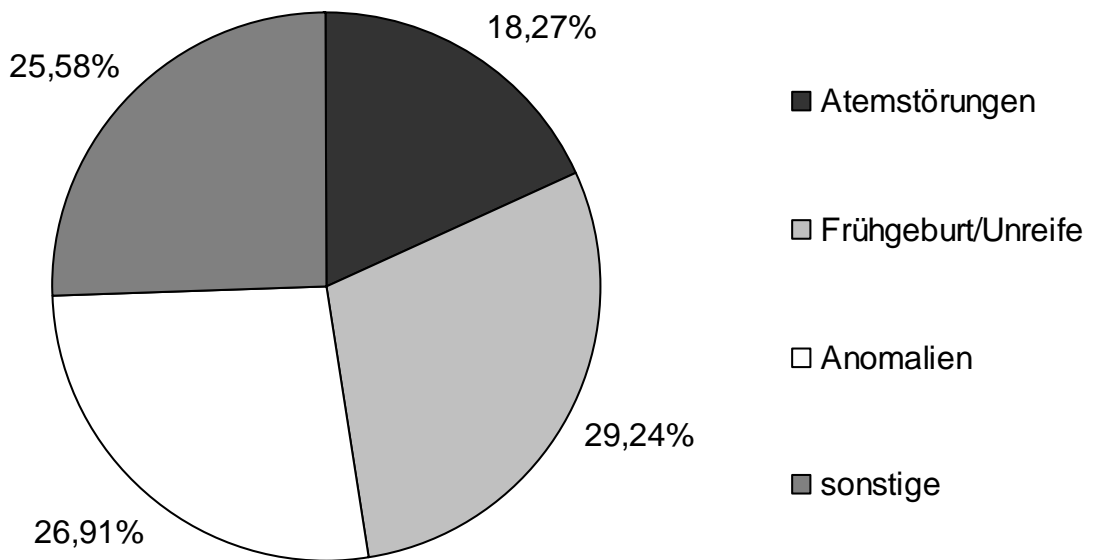


Abbildung 1: gemittelte Häufigkeiten der Ursachen von frühen neonatalen Todesfällen (neonatale Todesfälle innerhalb der ersten sieben Lebenstage); statistisches Jahrbuch 1982, 1990 und 2001 [90]

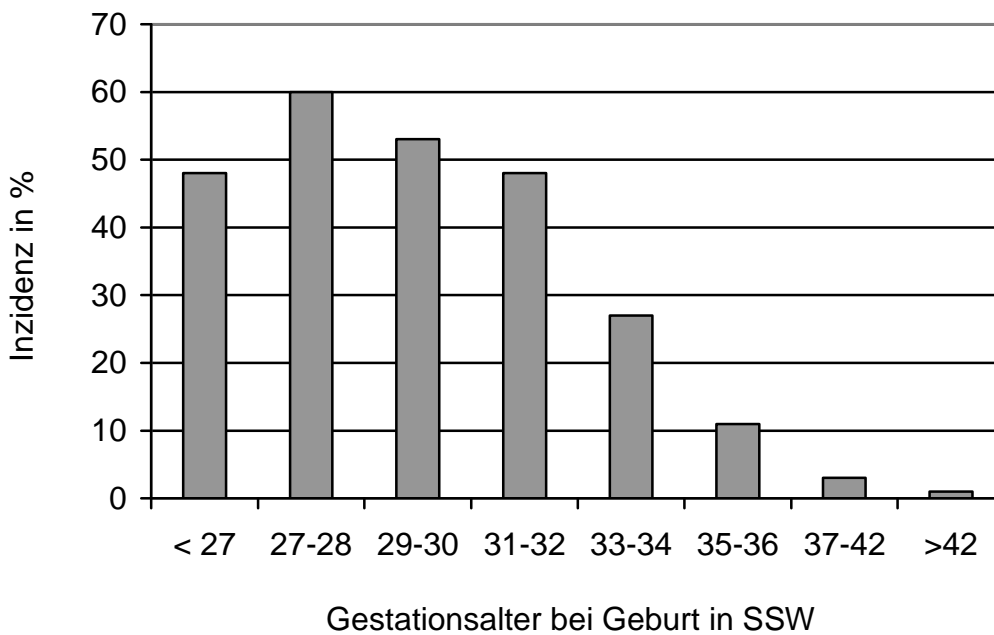


Abbildung 2: Inzidenz respiratorischer Störungen in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter bei Geburt, Italien 1998 [65]

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf respiratorische Anpassungsstörungen, im Besonderen auf die transiente Tachypnoe des Neugeborenen (P22.1).

### 1.1. Definition und Epidemiologie der transienten Tachypnoe

Die transiente Tachypnoe des Neugeborenen (TTN) ist die klinische Manifestation der Flüssigkeitslunge (Synonyma: Syndrom der feuchten Lunge, wet lung disease, benignes RDS, RDS Typ II) und ist definiert als eine sich selbst limitierende pulmonale Anpassungsstörung vor allem des reifen Neugeborenen [4, 40, 41, 45, 75, 76, 84, 85]. Beschrieben wurde dieses Krankheitsbild erstmals 1966 von Mary Ellen Avery. Ursache ist vermutlich die verzögerte Resorption der in der fetalen Lunge befindlichen Flüssigkeit [31, 47, 66]. Die Flüssigkeitslunge ist mit einer Inzidenz von 3-9 pro 1000 am Termin Geborenen die häufigste respiratorische Störung in der Neugeborenenperiode [46].

### 1.2. Ätiologie und Pathogenese der transienten Tachypnoe

Die Geburt eines Kindes ist mit einer Reihe grundlegender kardiorespiratorischer Veränderungen verbunden. In utero erfolgt die Sauerstoffversorgung des Feten über die Plazenta. Das mit Sauerstoff angereicherte Blut fließt über die Vena umbilicalis und die Vena cava inferior in den rechten Vorhof und die rechte Herzkammer. Ein Großteil des Blutes gelangt über das Foramen ovale und den Ductus arteriosus Botalli in den linksseitigen Anteil des Kreislaufes. Nur ca. 10 % des zirkulierenden Blutvolumens fließt durch die Lunge [46]. Dieser physiologische Rechts-links-Shunt ist bedingt durch den hohen intrapulmonalen Druck, der wiederum auf die Vasokonstriktion der pulmonalen Gefäße und auf die Flüssigkeitsfüllung der Lunge zurück zu führen ist. Das sich entwickelnde Bronchialsystem ist in der Embryonal- und Fetalperiode bis in die terminalen Canaliculi mit einer Flüssigkeit gefüllt, die vom Bronchial- und Alveolarepithel gebildet wird und durch die ab der 11. Gestationswoche vorhandenen Atembewegungen mit der Amnionflüssigkeit im Austausch steht [6].

Bereits 1885 beobachtete Preyer diese Flüssigkeitsfüllung der fetalen Lungen. Seine Vermutung, es handele sich dabei um Fruchtwasser, hielt sich bis ins 20. Jahrhundert [59]. 1941 erbrachte eine Untersuchung der Lungen von Kindern mit angeborenen Atemwegsataresien die Erkenntnis, dass distal dieser Verschlüsse eine pulmonale Flüssigkeit anzutreffen ist, woraus geschlossen wurde, dass deren Ursprung distal der Obstruktionen liegen muss [59]. Heute weiß man, dass die Lunge während des fetalen Lebens die Funktion einer sekretorischen Drüse übernimmt. Die Flüssigkeit entspricht in ihrer Zusammensetzung weder dem Blutplasma noch dem Fruchtwasser. Über das sich entwickelnde Alveolarepithel und dessen Vorläuferzellen werden große Mengen an Wasser und Elektrolyten in die entstehenden Atemwege und Alveolarräume sezerniert. Bereits in der 6. SSW findet man die Flüssigkeit in der entstehenden Lunge [59]. Diese Sekretion ist essenziell für das regelrechte Wachstum des Organs. Man vermutet eine Platzhalterfunktion für die spätere Füllung mit Luft [47]. Die Lungenflüssigkeit wird gegen einen geringen Druckgradienten – generiert vom Larynx, von den unteren Atemwegen und dem Druck des Fruchtwassers - gebildet. Der positive intrapulmonale Druck ist wichtig für die Ausbildung der Atemwege. Eine Störung in diesem Prozess kann zur Lungenhypoplasie führen [46].

Die pränatale aktive Flüssigkeitssekretion des Lungenepithels mit einer Bildungsrate von bis zu 5 ml pro kg Körpergewicht und Stunde ist auf die Funktion der  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase in der basolateralen Membran zurück zu führen, die einen Natriumgradienten über der Membran generiert, der den ebenfalls basolateral gelegenen  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ -Kotransport antreibt [30, 54]. Dieser Kotransporter bringt Chlorid-Ionen in die Zellen. Mit dem  $\text{K}^+$ , das die Zelle durch  $\text{K}^+$ -Kanäle in der basolateralen Membran verlässt, und dem  $\text{Na}^+$ , welches über die  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase nach extrazellulär transportiert wird, verlassen positive Ladungsträger die Zelle, so dass intrazellulär ein negativer Ladungsüberschuss vorliegt. Angetrieben durch den elektrischen Gradienten verlässt  $\text{Cl}^-$  die Zelle in Richtung Lumen, da es nur in der apikalen Membran entsprechende Transportkanäle gibt. Natrium-Ionen und Wasser folgen entsprechend dem elektrochemischen bzw. osmotischen Gradienten, so dass Flüssigkeit in das Lumen sezerniert wird.

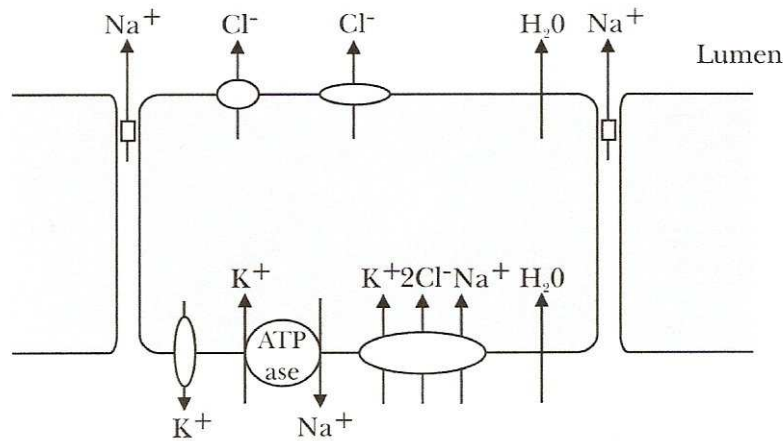


Abbildung 3: pränatale Flüssigkeitssekretion über das Lungenepithel [88]

Für den Gasaustausch nach der Geburt ist die Umstellung von Flüssigkeitssekretion auf Flüssigkeitsresorption notwendig. Die pulmonale Sauerstoffaufnahme ist ein Diffusionsvorgang und hängt folglich von der Diffusionsstrecke ab [47, 66]. Je weniger Flüssigkeit sich in den Alveolen befindet, desto effizienter ist der Gasaustausch [59].

Die ersten Beobachtungen über die Clearance der pulmonalen Flüssigkeit stammen aus dem Jahr 1923. Faure-Fremiet und Dragion stellten fest, dass sich der Wassergehalt der Lungen von Lämmern unter der Geburt deutlich reduziert [59]. Erst 40 Jahre später wurde auf diesem Gebiet ein Fortschritt erzielt, indem anhand von Messungen des pulmonalen Flüssigkeitsgehaltes neugeborener Kaninchen festgestellt wurde, dass der Prozess des Abtransportes der intrapulmonalen Flüssigkeit vor der Geburt am Termin beginnt, sich während der Geburt fortsetzt und postnatal endet [8, 59]. Gegen Ende der Schwangerschaft sistiert die Flüssigkeitssekretion durch die Alveolarepithelzellen [54, 70]. Etwa zur gleichen Zeit „schaltet“ das reife Lungenepithel vermutlich als Antwort auf erhöhte Konzentrationen an Katecholaminen und anderen Hormonen „um“ von der aktiven Sekretion von Chlorid-Ionen und Wasser in den Alveolarraum zu einer aktiven Resorption von Natrium-Ionen [40, 59]. Die Umstellung von Sekretion auf Resorption ist ein wichtiger Bestandteil der funktionellen Reifung der Lunge [54].

Dieser aktive Ionentransport wird hauptsächlich über den epithelialen Natriumkanal (ENaC) in der apikalen Membran der Alveolarepithelzelle realisiert, der Anfang der 1990er Jahre identifiziert wurde [41, 59, 83, 88]. Die Aktivität des ENaC repräsentiert den limitierenden Schritt im pulmonalen epithelialen Natriumtransport [78]. Die

treibende Kraft stellt auch hier die in der basolateralen Membran lokalisierte  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase dar, die Natrium-Ionen aus dem Zellinneren heraustransportiert. Kalium-Ionen verlassen die Zelle über basale Kaliumkanäle.

Chlorid-Ionen und Wasser folgen, so dass es zu einer Flüssigkeitsverschiebung vom Zellinneren in das Interstitium kommt. Von dort wird die Flüssigkeit weiter über Lymphwege und Blutgefäße abtransportiert. Bis die fetale Lungenflüssigkeit aus den Alveolen resorbiert ist und diese vollständig belüftet sind, vergehen ein bis drei Stunden. Nach vier bis sechs Stunden ist die Flüssigkeit aus dem Lungeninterstitium abtransportiert [59, 84]. Jede Störung in diesem Prozess kann zu respiratorischen Problemen führen.

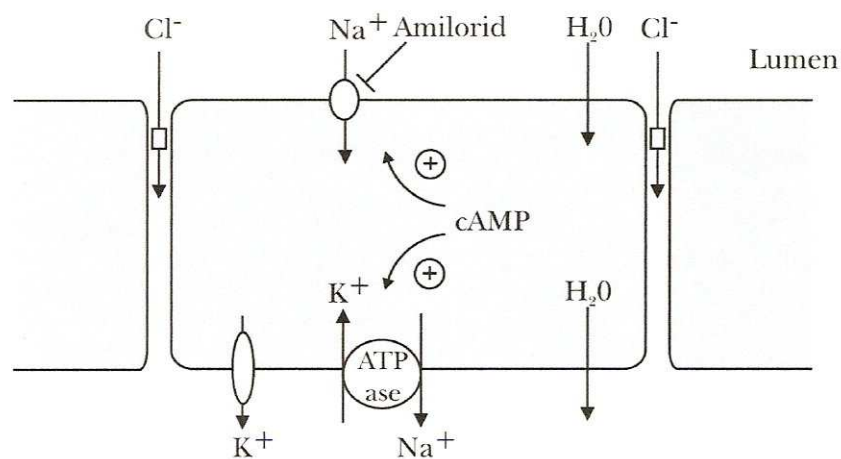


Abbildung 4: postnatale Flüssigkeitsresorption über das Lungenepithel [88]

Der ENaC, dessen Expression im Lungengewebe einem Reifungsprozess unterliegt und kurz vor der Geburt heraufreguliert wird, findet sich auch in anderen Epithelien [41, 47]. In den Sammelrohren der Niere moduliert dieses Transportprotein die Reabsorption von Natrium durch Kontrolle der Natriumausscheidung über den Urin und dient so der Feinregulation der Natriumbalance des gesamten Organismus. Dieser Mechanismus steht unter der hormonellen Kontrolle von Aldosteron [47, 59, 79]. Durch eine Erhöhung des Membranpotenzials über der apikalen Membran schafft der Natriumtransport den Antrieb für die Kaliumsekretion. Hemmstoffe des ENaC fördern die Natriumausscheidung und inhibieren die Kaliumsekretion. Diese Substanzen (Amilorid und Triamteren) werden als Kalium sparende Diuretika eingesetzt.

Die gleiche Funktion der Regulation der Natriumausscheidung erfüllt der ENaC im distalen Kolon, wo es dem Natriumverlust mit dem Stuhl entgegenwirkt. Zu finden ist der epitheliale Natriumkanal auch in den Schweiß- und Speicheldrüsen des Körpers [47, 78].

Der ENaC setzt sich aus drei verschiedenen Untereinheiten zusammen. Mäuse, denen die  $\alpha$ -Untereinheit, deren Vorhandensein Bedingung für die Funktionstüchtigkeit des Kanals ist, fehlt, zeigen zwar eine normale Lungenentwicklung, diese  $\alpha$ -ENaC (-/-)-Mäuse versterben aber kurz nach der Geburt an einer respiratorischen Insuffizienz aufgrund der Unfähigkeit zur Resorption der pulmonalen Flüssigkeit [41, 83]. Das Fehlen der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheit, die den Aufbau des funktionstüchtigen Ionenkanals unterstützen und die kinetischen Eigenschaften des Proteins verändern, verursacht im Tierexperiment den Tod durch Störungen im Elektrolythaushalt [47, 59].

Der Ionenkanal kann, wie bereits erwähnt, durch das Diuretikum Amilorid blockiert werden. Beim neugeborenen Meerschweinchen bewirkt die Hemmung des ENaC durch intratracheale Applikation von Amilorid eine respiratorische Insuffizienz mit Atemnot, Hypoxie und einem erhöhten Flüssigkeitsgehalt in der Lunge [23, 41, 47]. Bei neun Tage alten Meerschweinchen führt dieselbe Behandlung nicht mehr zu respiratorischen Störungen [54].

Neben den bereits erwähnten Ionenkanälen gibt es noch weitere Kanaltypen im pulmonalen Epithel, die nach heutigem Kenntnisstand aber von untergeordneter Bedeutung sind. Dazu gehören Aquaporine, die die Permeabilität für Wasser steigern. Zwar wird die Expression dieser Proteine vor dem Geburtstermin deutlich erhöht, im Tierexperiment ändert sich die Flüssigkeitsabsorption beim Fehlen der Aquaporine jedoch nicht [56]. Die Präsenz eines ATP-sensitiven Kaliumkanals in den Alveolarepithelzellen wurde ebenfalls nachgewiesen [53]. Die Behandlung mit Kaliumkanalöffnern wie Pinacidil steigert, die Gabe von Amilorid oder Kaliumkanalblocker Glibenclamid reduziert die pulmonale Flüssigkeitsclearance [53]. Des Weiteren existieren einige Arten nicht selektiver Kationenkanäle [56, 59].

Zusätzlich zum Ionentransport tragen die Kompression des Thorax während der vaginalen Geburt und der durch die erste Inspiration des Neugeborenen aufgebaute Druck physikalisch zur Entfernung der Lungenflüssigkeit bei. Der Einfluss auf die

Clearance der intrapulmonalen Flüssigkeit wird allerdings kontrovers diskutiert [8, 10, 22, 39, 59, 71].

Mit Beginn der Atmung nach der Geburt steigt der arterielle Sauerstoffgehalt, der pulmonale Gefäßwiderstand sinkt, die Lungendurchblutung nimmt zu und als Folge daraus steigen Füllung und Druck des linken Vorhofes und des linken Ventrikels, was zum Verschluss des Foramen ovale führt. Somit ist die Funktionsaufnahme durch die Lunge einer der wichtigsten Prozesse während der Umstellung des Kreislaufsystems auf postnatale Verhältnisse.

Die Ursache der TTN ist nicht abschließend geklärt. Als Erklärung favorisiert wird die verzögert einsetzende Entfernung der intrapulmonalen Flüssigkeit [3, 8, 10, 22, 23, 29, 78]. Ein inadäquater Natriumtransport wird bei menschlichen Neugeborenen mit RDS und mit transienter Tachypnoe beobachtet [41, 85].

Bei einer Geburt am Termin und spontan einsetzender Wehentätigkeit beobachtet man im fetalen Kreislauf einen deutlichen Anstieg der Konzentration an Katecholaminen, dem eine wichtige Rolle bei der Elimination der pulmonalen Flüssigkeit zugesprochen wird [8, 22]. Die um den Zeitpunkt der Geburt notwendige Umstellung von Flüssigkeitssekretion auf –resorption ist abhängig vom cAMP-Gehalt der Zelle und wird von Adrenalin beschleunigt. Dieser Effekt kann experimentell auch von  $\beta_2$ -Sympathomimetika wie Terbutalin hervorgerufen werden, denn  $\beta$ -adrenerge Substanzen aktivieren über die Bildung von cAMP direkt den ENaC [41, 47, 88]. Die chronische Verabreichung von Adrenalin oder Isoprenalin führt bei fetalen Schafen zu einer Verlangsamung der pulmonalen Flüssigkeitssekretion oder induziert deren Absorption [59]. Dieser Einfluss verstärkt sich mit zunehmendem Gestationsalter [10]. Der Effekt von Isoprenalin kann durch Propranolol inhibiert werden, so dass die Wirkung auf die Ionenkanäle  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren im pulmonalen Epithel zugeschrieben wird [10, 23, 59].

Die endogene Katecholaminkonzentration korreliert also mit dem Ausmaß der Flüssigkeitsclearance [23]. Infolge ungenügender Katecholaminfreisetzung - zum Beispiel bei der Sectio caesarea am wehenlosen Uterus - erfolgt die pulmonale Flüssigkeitsresorption verzögert [43, 47, 59]. Die Inzidenz von respiratorischen



Störungen beim Neugeborenen am Termin ist nach elektiver Sectio caesarea signifikant höher als nach vaginaler Entbindung [75].

Weitere mögliche Ursachen für die transiente Tachypnoe des Neugeborenen sind die myokardiale Dysfunktion, ein leichter Surfactantmangel bzw. ein unreifes Surfactantsystem, Unterkühlung oder die perinatale Hypoxie [32, 41, 42, 63, 84].

Die persistierende fetale kardiopulmonale Zirkulation (persistierende pulmonale Hypertension) kann sich ebenfalls mit den Symptomen der TTN manifestieren [46]. Die Atemstörungen und die Zyanose dieser Kinder sind das Resultat des Rechts-links-Shunts über den offenen Ductus arteriosus und das Foramen ovale bei hoch bleibendem Widerstand im pulmonalen Gefäßsystem wie im fetalen Zustand ohne den Nachweis einer strukturellen Herz- oder parenchymalen Lungenerkrankung [66]. Ursachen dieses lebensbedrohlichen Krankheitsbildes sind zumeist eine perinatale Hypoxie und Azidose.

Als prädisponiert für die Ausbildung einer TTN werden angesehen:

- männliche Neugeborene [31, 55, 62, 65, 75, 76, 84, 85]
- Neugeborene nach abdominal-operativer Entbindung, besonders ohne vorhergehende Wehentätigkeit [22, 30, 31, 32, 40, 46, 47, 62, 76, 84, 85]
- Neugeborene mit perinataler Asphyxie [31, 46, 62, 75, 76, 77]
- Neugeborene, deren Müttern unter der Geburt exzessiv Flüssigkeit zugeführt wurde. Das Risiko für eine TTN ist signifikant erhöht bei Neugeborenen, die eine Hyponatriämie nach intrapartaler Glukoseinfusion aufweisen [72]. Es wurde berichtet, dass Kinder mit einer TTN einen erniedrigten onkotischen Druck im Plasma der Nabelschnur aufweisen als gesunde Kinder.
- Kinder diabetischer Mütter haben im Vergleich zu Kindern stoffwechselgesunder Mütter neben einer gesteigerten Anfälligkeit für das neonatale Atemnotsyndrom und für eine Pneumonie ein zwei- bis dreifach erhöhtes Risiko, an einer transienten Tachypnoe zu erkranken [32, 40, 75, 84].
- Neugeborene, deren Mütter an einem Asthma bronchiale leiden [40, 55, 67, 75, 76, 84].

### 1.3. Symptome und Befunde der transienten Tachypnoe

Typischerweise beginnt die Tachypnoe - per Definition eine Steigerung der Atemfrequenz auf mehr als 60 Atemzüge pro Minute - innerhalb der ersten zwei Stunden nach der Geburt. Zu beobachten sind des Weiteren Nasenflügeln, Zyanose und inter- bzw. subkostale Einziehungen als Ausdruck der gesteigerten Atemarbeit [76]. Häufig kommt es auch zu einem inspiratorischen Stöhnen und Knorksen des Kindes [77].

Die Röntgen-Thorax-Aufnahme zeigt vermehrte zentrale Verdichtungen im Sinne einer Flüssigkeitsbelastung mit peripherer Lungenüberblähung sowie eventuell zusätzlich interlobäre Flüssigkeitsansammlungen und kleine Pleuraergüsse [46, 62]. In einigen Fällen finden sich keine Auffälligkeiten im Röntgenbild.

### 1.4. Diagnostik und Differentialdiagnosen der transienten Tachypnoe

Diagnostisch wegweisend sind die Symptome und die Anamnese des Patienten sowie der klinische Verlauf mit der charakteristischen Befundbesserung nach wenigen Stunden bis Tagen. Eine Röntgen-Thoraxaufnahme ist bei den vorliegenden Symptomen ergänzend sinnvoll. Dennoch muss die Diagnose häufig retrospektiv gestellt werden, da vor allem neonatale Pneumonien, das Mekonium-Aspirations-Syndrom und das Atemnotsyndrom ein ähnliches Erscheinungsbild haben. Daher sind diese Erkrankungen ebenso wie nicht pulmonale Ursachen für die respiratorischen Symptome (siehe oben) differentialdiagnostisch auszuschließen. Das klinische Bild der TTN unterscheidet sich nur in Dauer und Schwere sowie den diskreteren röntgenologischen Veränderungen vom RDS. Eine TTN kann bei Frühgeborenen auch ein RDS komplizieren [29, 31, 40].

### 1.5. Therapie der transienten Tachypnoe

Die Behandlung der TTN erfolgt supportiv [76]. Bei Zyanose ist in der Regel die Zufuhr von 30 bis 40 % Sauerstoff ausreichend, um eine gute Oxygenierung zu

erzielen. Bei schwererem Verlauf wird eine CPAP-Beatmung (CPAP = continuous positive airway pressure) zum Aufbau eines kontinuierlichen positiven Druckes in den Atemwegen über Maske oder nasalen Rachentubus notwendig, um den alveolären Kollaps zu verhindern. Die Intubation und mechanische Beatmung ist nur in Ausnahmefällen erforderlich.

Ist die Atemfrequenz größer als ca. 80 Atemzüge pro Minute, sollte wegen der Aspirationsgefahr auf eine orale Ernährung zugunsten einer parenteralen Ernährung oder einer Ernährung über eine Magensonde verzichtet werden. Zum Management der Erkrankung gehört ein kardiopulmonales Monitoring ebenso wie die prophylaktische Gabe von Antibiotika bis zum Ausschluss einer Infektion als Ursache der respiratorischen Störung [76, 84].

Furosemid beeinflusst die Flüssigkeitsdynamik in der Lunge. Dieser Effekt wird therapeutisch unter anderem genutzt bei Erwachsenen mit Lungenödem verschiedener Ursachen. Kinder mit einer TTN verlieren nach der Geburt langsamer an Gewicht als gesunde Neugeborene. Eine Flüssigkeitsretention in der Lunge durch eine reduzierte Resorption kann die Ursache dafür sein [41]. Furosemid – eingesetzt im Rahmen von Studien als mögliches Therapeutikum in der Behandlung der TTN – bewirkt entgegen den Erwartungen unabhängig von der Applikationsform keine signifikanten Veränderungen in der Schwere oder Dauer der Symptome, in der Sauerstoffbedürftigkeit oder in der Länge des Krankenhausaufenthaltes [41]. Auch Therapieversuche mit inhalativ verabreichtem Adrenalin blieben erfolglos [76].

Wichtig bleibt der Hinweis auf das Grundprinzip des „minimal handling“ bei der Behandlung eines erkrankten Neugeborenen: Das Kind sollte weder durch diagnostische noch durch therapeutische Maßnahmen in unnötiger Weise belastet werden.

#### 1.6. Prognose und mögliche Folgen der transienten Tachypnoe

Die TTN ist eine in der Regel benigne verlaufende pulmonale Anpassungsstörung ohne zu erwartende Folgeschäden [76]. Dennoch führt sie zu einer Verlängerung der Hospitalisation der betroffenen Kinder um im Durchschnitt zwei Tage [32, 41, 62]. In seltenen Fällen wird der Verlauf durch das Auftreten eines Pneumothorax verkompliziert. Gelegentlich entwickelt sich auf dem Boden einer massiven

pulmonalen Überblähung eine pulmonale Hypertonie mit Rechts-links-Shunt, die in eine persistierende pulmonale Hypertonie einmünden kann [46]. Eine retrospektive Fall-Kontroll-Studie aus dem Jahr 1989 zeigte eine signifikante Steigerung der Inzidenz für kindliches Asthma bronchiale und andere Erkrankungen des atopischen Formenkreises bei ehemaligen TTN-Patienten, möglicherweise als Folge einer  $\beta$ -adrenergen Fehlfunktion [71]. Auch in anderen Studien wurde die TTN als ein Risikofaktor für das spätere Auftreten obstruktiver Atemwegserkrankungen wie dem Asthma bronchiale in der Kindheit identifiziert [76]. Der Zusammenhang scheint bei Jungen ausgeprägter zu sein als bei Mädchen.

#### 1.7. mögliche Bedeutung des Progesterons und anderer Hormone für die Lungenreifung und in der Pathogenese der transienten Tachypnoe

Progesteron als das Schwangerschaftshormon wirkt während der Gravidität in hoher Konzentration auf das ungeborene Kind ein. Am Ende der Schwangerschaft ist der Plasmagehalt des Feten an Progesteron etwa einhundert Mal höher als am ersten postnatalen Tag [73, 82]. Es ist nahe liegend, dass dieses Hormon nicht nur dem Erhalt der Schwangerschaft dient, sondern auch an der Ausbildung der Organsysteme regulativ beteiligt ist.

Bekannt ist, dass ein Fetus während seiner intrauterinen Entwicklung eine sehr hohe Progesteronkonzentration im Lungengewebe aufweist [7, 43]. Zudem werden pränatal in der Lunge sowohl Progesteron- als auch Östrogenrezeptoren in großer Menge exprimiert. Dies wurde für den Menschen und für verschiedene Tierarten wie Maus, Ratte, Kaninchen und Huhn nachgewiesen [7, 12, 70, 83, 85]. Die hohe pulmonale Expression des Progesteronrezeptors lässt vermuten, dass dieses Hormon eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Säugetierlunge spielt [7, 83].

Experimentelle Untersuchungen demonstrieren, dass beide weiblichen Geschlechtshormone in der fetalen Lunge des Kaninchens den Gehalt an Surfactant-assoziierten Proteinen steigern, die Freisetzung von oberflächenaktiven Phospholipiden fördern und die Bildung von Lamellarkörperchen positiv beeinflussen [7, 82]. Die alleinige Zugabe von Progesteron zu fetalem Lungengewebe des Menschen in der Zellkultur führt ebenfalls zu einer Erhöhung der Menge an

Lamellarkörperchen in den Alveolarzellen und zu einer Akzeleration der Phospholipidsynthese [70]. Die intrauterine Behandlung von Feten des Hausschweins drei Wochen vor der Geburt am Termin mit Östrogen- und Progesteronrezeptorantagonisten führt zu einer reduzierten Expression von Surfactantprotein-C und einer beeinträchtigten Alveolenentwicklung [83]. Dieser Effekt der reduzierten Alveolarisierung findet sich vor allem bei männlichen Feten.

Wie bereits erwähnt fällt der Progesteron-Plasmaspiegel des Neugeborenen am ersten Tag nach der Geburt stark ab. Kein anderes Hormon macht eine so drastische Veränderung nach der Geburt durch. Frühgeborene erleben diesen Abfall von Progesteron, aber auch von Östrogen entsprechend in einem früheren Entwicklungsstadium als Reifgeborene [73, 82, 83].

Weibliche Neugeborene, die vor der vollendeten 29. Schwangerschaftswoche mit einem Gewicht von weniger als 1000 g zur Welt kamen und postnatal im Rahmen einer Studie eine intravenöse oder transdermale Applikation beider Hormone mit dem Ziel erhielten, die für intrauterine Verhältnisse üblichen Plasmakonzentrationen wiederherzustellen, mussten seltener intubiert werden und konnten das Krankenhaus signifikant früher verlassen als vergleichbare Frühgeborene der Kontrollgruppe. Keines der Mädchen, das einen Hormonersatz erhalten hatte, entwickelte eine bronchopulmonale Dysplasie, eine bei Frühgeborenen gefürchtete chronische Lungenerkrankung [82, 83].

Die während der intrauterinen Entwicklung aktiv vom Lungenepithel sezernierte Flüssigkeit muss nach der Geburt aus den Lungen entfernt werden, um einen effizienten Gasaustausch zu ermöglichen, denn je weniger Flüssigkeit in den Alveolen vorhanden ist, desto kürzer ist die Diffusionsstrecke für Sauerstoff und Kohlendioxid. Dazu ist in der Lunge eine Umstellung von Flüssigkeitssekretion auf Flüssigkeitsabsorption notwendig. Wie oben geschildert erfolgt die Entfernung der Flüssigkeit durch aktiven  $\text{Na}^+$ -Transport vom Lumen in das Interstitium und anschließend in die Lymph- und Blutgefäße [49]. Die Wichtigkeit des Natriumtransportes über den epithelialen Natriumkanal wird durch die Beobachtung unterstrichen, dass Mäuse mit inaktiviertem  $\alpha$ -ENaC-Gen kurz nach der Geburt aufgrund von Flüssigkeitsretention in den Lungen versterben [47, 78].

Der Ionentransport durch das pulmonale Epithel wird durch das Stadium der Lungenentwicklung beeinflusst [78]. Da Glukokortikoide die Expression des epithelialen Natriumkanals im Tierexperiment erhöhen, wurde auch die Bedeutung

anderer Steroidhormone untersucht. Swezey et al. demonstrierten, dass postpubertäre weibliche Ratten im Vergleich zu männlichen Ratten über einen höheren Gehalt an mRNA verfügen, die für die  $\alpha$ -Untereinheit des ENaC kodiert [78, 84]. Dieses Ergebnis wird auf das unterschiedliche Level an weiblichen Geschlechtshormonen zurückgeführt, denn frühere Versuche zeigten bereits, dass die kombinierte intraperitoneale Gabe von Östrogen und Progesteron die Mengen eben dieser mRNA auch in sexuell unreifen weiblichen Ratten erhöhen kann [78]. Des Weiteren modulieren die weiblichen Geschlechtshormone auch die Expression von CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), einem Chloridkanal. Sie ist in adulten männlichen Ratten niedriger als in gleichaltrigen weiblichen Artgenossen, und die kombinierte Applikation von Progesteron und Östrogen im Verhältnis 750:1 steigert den Gehalt an CFTR-mRNA in den Lungen unreifer Ratten.

Die Regulation des VEGF (vascular endothelial growth factor) repräsentiert einen möglichen Mechanismus, der erklären könnte, wie Progesteron und Östrogen die morphologische und funktionelle Lungenreifung beeinflussen [83]. VEGF ist als wichtiges Mitogen für die Vaskulogenese und Angiogenese essenziell für die embryonale Entwicklung. Der Verlust eines VEGF-Allels ist mit einem letalen Ausgang assoziiert. Das Fehlen bestimmter Isoformen des VEGF stört die Entwicklung des pulmonalen Gefäßnetzes und interferiert so mit der Lungenreifung bei der fetalen Maus [83]. Progesteron und Östrogen induzieren die Transkription des VEGF-Gens. Die intrauterine Behandlung von fetalen Schweinen mit Östrogenrezeptor- und Progesteronrezeptorantagonisten resultiert in einer reduzierten Expression von Surfactantprotein-C und einer gestörten Alveolenausbildung [83]. In der Gruppe der unbehandelten Tiere zeigten männliche Ferkel eine geringere Expression an Surfactantprotein B und an VEGF [83]. Die Behandlung mit den Rezeptorantagonisten hob diesen Unterschied auf. Die alveoläre Flüssigkeitsclearance ist deutlich reduziert nach Gabe von Progesteron- und Östrogenrezeptorantagonisten [83].

Progesteron ist nicht das einzige Hormon mit einem Einfluss auf Entwicklung und Funktion der Lunge.

Seit längerem ist bekannt, dass Stressoren wie eine intrauterine Infektion oder ein vorzeitiger Blasensprung die Lungenreifung eines Fetus durch Ausschüttung von endogenen Glukokortikoiden beschleunigen [42]. 1972 demonstrierten Liggins und Howie erstmals, dass Glukokortikoide, die schwangeren Frauen verabreicht werden, die ein erhöhtes Risiko haben, eine Frühgeburt zu erleiden, die Inzidenz für ein RDS beim Neugeborenen und damit die Morbidität und Mortalität deutlich reduzieren [52]. Die RDS-Prophylaxe mit intramuskulär verabreichten Glukokortikoiden gilt heute als Standard in der Betreuung einer Schwangeren in der 24+0 bis 33+6 SSW mit drohender Frühgeburt. Falls trotz Glukokortikoidtherapie ein Atemnotsyndrom auftritt, ist die Erkrankungsschwere deutlich reduziert [42]. Dies wird verdeutlicht durch einen reduzierten Einsatz einer Surfactantgabe, einen geringeren Bedarf an zusätzlichem Sauerstoff und die seltenere Notwendigkeit einer assistierten Beatmung [52].

Glukokortikoide bewirken zum einen eine Akzeleration in der morphologischen Reifung des Lungengewebes, indem sie die Zelldifferenzierung fördern und eine Ausdünnung der Alveolarsepten bewirken, und zum anderen eine Induktion von Enzymen der Phospholipidsynthese im Sinne einer biochemischen Reifung [52, 75]. Zusätzlich zu dem bekannten Effekt auf die Surfactantproduktion scheinen pränatal verabreichte Glukokortikoide auch durch Förderung der Expression des ENaC und der Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase die pulmonale Natrium- und somit Wasserabsorption zu stimulieren [47, 52, 56, 59]. Neuere Studien belegen auch eine Wirksamkeit der pränatalen Glukokortikoidtherapie in Bezug auf die Senkung der Inzidenz einer TTN nach der 37. SSW: In der 2005 veröffentlichten ASTECS-Studie (antenatal steroids for term cesarean section) erhielten fast 1000 Schwangere vor der Geburt am Termin per primärer Sectio caesarea entweder Glukokortikoide oder ein Placebo. Die Inzidenz des RDS und der TTN war in der Verumgruppe signifikant geringer als in der Placebogruppe [75].

Einige Studien zeigten einen synergistischen Effekt von Glukokortikoiden und Schilddrüsenhormonen. In der Promotorregion des  $\alpha$ -ENaC-Gens wurden Bindungsstellen für beide Hormone gefunden [59]. 1979 demonstrierte Hitchcock, dass die Gabe von Thyroxin (T4) bei fetalen Ratten zu einer Beschleunigung der Lungenreifung und Stimulation der Surfactantsynthese führt [42]. TRH (Thyreotropin-Releasing-Hormon), das im Gegensatz zu Trijodthyronin (T3) und T4 die Plazenta problemlos passieren kann, stimuliert im Tierexperiment die Sekretion, nicht aber die

Produktion von Surfactant [42]. Mäuse mit einem Hypothyreoidismus zeigen im Fetal- und Neonatalalter eine verzögerte Lungenreifung [42, 59, 84].

Frühgeborene mit einem RDS weisen niedrigere Werte von T3 auf im Vergleich zu gesunden Altersgenossen [41]. Umgekehrt weisen Kinder mit einer Hypothyreose häufiger respiratorische Störungen nach der Geburt auf [59]. TRH und Betamethason als kombinierte Gabe reduzieren signifikant die Entwicklung chronischer Lungenerkrankungen bei Neugeborenen mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1500 g. Die alleinige Verabreichung von TRH zeigte dahingehend keinen Effekt [42]. Die kombinierte Gabe von Glukokortikoiden und Schilddrüsenhormonen induziert darüber hinaus die Fähigkeit zur Natriumabsorption im fetalen Lungengewebe [47, 52].

Viele Aspekte der Lungenentwicklung weisen einen sexuellen Dimorphismus auf. Dazu gehören die Differenzierung der Typ-II-Alveolarzellen, die Kommunikation zwischen Epithelzellen und Fibroblasten, die Surfactantproduktion und die ENaC-Expression [58]. Weibliche Feten weisen im Allgemeinen eine beschleunigte Reifung auf. Die Mechanismen, die diese Geschlechtsunterschiede bewirken, sind nicht abschließend geklärt. Testosteron scheint aber beteiligt zu sein.

In mehreren Studien erwies sich Testosteron als Inhibitor der Lungenentwicklung von Kaninchen, Ratten und Mäusen [58]. Im weiblichen Tier muss der Testosterongehalt mindestens auf ein männliches Level erhöht werden, bevor die normale weibliche Surfactantproduktion abgeschwächt wird [58]. Die Blockade der Testosteronsynthese bei männlichen Tieren gleicht die Geschlechtsdifferenzen in der Lungenentwicklung nicht gänzlich aus: So besteht auch nach experimenteller Blockade der Androgenbildung noch immer ein Unterschied im Phosphatidylcholin/Sphingomyelin-Verhältnis in der Amnionflüssigkeit zwischen männlichen und weiblichen Kaninchen als Ausdruck einer verzögerten Lungenreifung beim männlichen Geschlecht [58].

Androgene scheinen neben der hemmenden Wirkung auf die Surfactantsynthese auch die Produktion des FPF (fibroblast pneumocyte factor) durch die Fibroblasten der fetalen Lunge zu blockieren, die bei weiblichen Feten eher als bei männlichen beginnt [58]. FPF spielt eine wichtige Rolle in der interzellulären Kommunikation zwischen mesenchymalen und epithelialen Zellen der Lunge und beeinflusst deren Differenzierung und Entwicklung.



Die genannten geschlechtsspezifischen Unterschiede in der pulmonalen Reifung bewirken, dass Jungen in der Neonatalperiode häufiger an respiratorischen Störungen leiden als Mädchen selben Alters [1, 78, 84]. Männliche Feten sprechen zudem schlechter auf eine pränatale Glukokortikoidgabe an als weibliche Feten [1, 52, 58].

Das Östrogen reguliert eine Reihe von zellulären Funktionen während der ontogenetischen Lungenentwicklung. Die Gabe von Östrogen erhöht bei trächtigen Kaninchen und Ratten die Phospholipidsynthese und steigert so die Surfactantproduktion [1, 7, 11, 82]. Die mRNA-Menge der Surfactantproteine A und B steigt in der fetalen Lunge der Ratte, wenn das Muttertier in der Schwangerschaft zusätzlich Östrogen erhalten hatte [83]. Östrogene beeinflussen im Tierexperiment neben dieser funktionellen auch die morphologische Reifung der Lunge, indem die Alveolarisation und die Anzahl der Typ-II-Alveolarzellen sowie die Menge an Lamellarkörperchen als Speicher- und Sekretionsorganellen für das Surfactant erhöht werden [7, 82, 83]. Bei neugeborenen Ferkeln, die in utero eine Deprivation von Östrogen erfahren haben, findet man eine gestörte Alveolenbildung und Flüssigkeitsclearance [11].

Die fetale Lunge weist mit Ausnahme des Uterus die höchste Dichte an Östrogenrezeptoren aller Körpergewebe auf. Beide bekannten Östrogenrezeptortypen werden in der Lunge exprimiert. Beobachtungen von Östrogenrezeptor-defizienten weiblichen Mäusen belegen, dass beide Rezeptoren für die Ausbildung funktionsfähiger Alveolen notwendig sind [83]. Während der Östrogenrezeptor  $\alpha$  den sexuellen Dimorphismus in Bezug auf die Alveolenformation und damit die Gasaustauschoberfläche vermittelt, ist der Östrogenrezeptor  $\beta$  an der Ausbildung der elastischen Eigenschaften der Lunge beteiligt [11]. Östrogenrezeptor-knock-out-Mäuse verfügen geschlechtsunabhängig über weniger Alveolen [82, 83]. Östrogen reduziert des Weiteren den Widerstand der pulmonalen Gefäße als Vorbereitung für die postnatale funktionelle Lungendurchblutung und reguliert die Expression der Progesteronrezeptoren über ein spezifisches ERE (estrogen response element) in der Promotorregion des Progesteronrezeptorgens [73].

Den genannten Hormonen gemeinsam ist die Regulation der Expression bestimmter Zielgene. In welchem Ausmaß die jeweiligen Hormone an der Lungenreifung und

Pathogenese der respiratorischen Anpassungsstörung des Neugeborenen beteiligt sind, ist unklar.

Es wurden bereits Untersuchungen zum Zusammenhang verschiedener Gene und dem Auftreten der TTN durchgeführt. Diese Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen Polymorphismen im Gen des Surfactantproteins-B oder zwischen Mutationen im  $\alpha$ -ENaC-Gen und der Inzidenz der TTN nachweisen [47, 84]. Eine Assoziation zwischen dem T-47C, A46G, C79G and C491T (TACC) Haplotyp des ADRB2-Gens bzw. Homozygotie für die  $\beta$ 1Gly49 –Variante desselben Gens und der TTN wurde beschrieben [3]. Beide genetische Varianten gehen mit einem Funktionsverlust des Adrenorezeptors B einher.

Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen der TTN und dem Progesteronrezeptorgen liegen bisher nicht vor.

## 1.8. Die Progesteronrezeptoren

Ihre Wirkungen entfalten die Gestagene über die Bindung an spezifische Progesteronrezeptoren (PR) der Zielzellen. Diese nukleären Rezeptoren, die zur Gruppe der ligandenabhängigen Transkriptionsfaktoren gehören, existieren in zwei Isoformen: PR-A und PR-B. Beide sind in ihrer Basensequenz weitgehend identisch; PR-B verfügt lediglich über 164 zusätzliche Aminosäuren am N-Terminus [64]. Die beiden Isoformen des PR stammen vom selben Gen ab und sind das Resultat der Transkription ausgehend von zwei verschiedenen Promotoren [64].

Die Bindung des Hormons an den Rezeptor führt bei diesem zu einer Änderung der Konformation: Es kommt zur Bildung von Hetero- oder Homodimeren. In diesem aktivierten Zustand ist der Hormon-Rezeptor-Komplex in der Lage, an die PRE (progesterone response elements) in den Promotorregionen der Zielgene zu binden, was zu einer Beeinflussung der Transkription der Zielgene führt [5].

Die Wirkungen der Gestagene sind vielfältig und gehen weit über die funktionelle Kontrolle der weiblichen Geschlechtsorgane hinaus (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: biologische Wirkungen des Progesterons

Zielorgan	Wirkungen
Myometrium	Abnahme der kontraktile Bereitschaft und Aktivität durch Stabilisierung der Membranpotenziale -> „Tokolytikum“
Endometrium	sekretorische Transformation und Differenzierung der Drüsen- und Stromazellen zur Vorbereitung einer Schwangerschaft
Cervix uteri	Sekretionsverminderung und Viskositätserhöhung, Verengung des Muttermundes
Vagina	regressive, antiöstrogene Veränderungen: Abschilferung von Superficial- und Intermediärzellen
Vulva	Hemmung der östrogeninduzierten Verhornung des Oberflächenepithels
Tubae uterinae	Hemmung der Sekretion und der Motilität von Zilien und Muskulatur
Mammae	Förderung der Entwicklung des duktales Systems, Ausbildung und Proliferation der Alveoli
Immunsystem	Hemmung der Degranulation der NK-Zellen, der lymphozytären Zytotoxizität und der Freisetzung proinflammatorischer Zytokine [A2], Erhöhung der Interleukin-10-Freisetzung durch T-Helfer-Zellen [A2], zusammenfassend immunsupprimierend
allgemein	<ul style="list-style-type: none"> <li>- thermogenetischer Effekt</li> <li>- katabole Stoffwechsellage</li> <li>- antiöstrogen über Herabregulierung der Östrogenrezeptoren</li> <li>- Verminderung der Sensitivität gegenüber Oxytocin</li> <li>- partiell muskelrelaxierend</li> <li>- natriuretisch</li> <li>- Fettstoffwechsel: TAG ↓, HDL ↓, LDL (↑)</li> <li>- Herabsetzung der Glukosetoleranz</li> <li>- sedierend</li> </ul>

Das humane Progesteronrezeptorgen ist auf Chromosom 11q22-23 lokalisiert und besteht aus 8 Exons und 7 Introns [45, 64].

## 1.9. Der PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens

Einer der wichtigsten Polymorphismen im Progesteronrezeptorgen ist der PROGINS-Polymorphismus (rs1042838). Diese genetische Variante wurde Anfang der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts entdeckt und beinhaltet eine 306 Basenpaare lange HS/PV (human specific/predicted variant)-1-Alu-Insertion im Intron G und zwei Punktmutationen: Die erste befindet sich in Exon 4 und führt zur Substitution der Aminosäure Valin in Leucin (V660L), während die zweite in Exon 5 lokalisiert ist und eine stille Mutation bewirkt (H770H) [19, 64]. Alle drei Aberrationen befinden sich in einem kompletten Kopplungsungleichgewicht [2, 64]. Nur die Alu-Insertion wird mit der unten beschriebenen PCR nachgewiesen.

Die Alu-Elemente wurden erstmals 1978 von Catherine M. Houck entdeckt und nach dem Restriktionsenzym Alu I (aus dem Bakterium *Arthrobacter luteus*), welches seine Schnittstelle in diesem Sequenzabschnitt hat, benannt. Sie gehören zur Gruppe der mittel-repetitiven DNA-Sequenzen mit einer Kopiezahl von ca.  $1,2 \times 10^6$  im humanen haploiden Genom, was in etwa einem Anteil von 5 % der gesamten Masse der DNA entspricht [19, 68]. Die Amplifikation der Alu-Elemente im Genom des Primaten geschieht diskontinuierlich in Wellen seit über 65 Millionen Jahren und resultiert in der Präsenz von Subfamilien dieser Elemente. So werden entsprechend ihres phylogenetischen Alters drei Unterfamilien – alte (J), mittlere (S) und junge (Y) Alu-Familien – unterschieden, die wiederum jeweils aus mehreren Mitgliedern bestehen [19, 68]. Die PV/HS-1-Alu-Insertion der PROGINS-Variante des PR-Gens gehört zur Ya5-Subfamilie und wurde nur beim Menschen nachgewiesen, was darauf hindeutet, dass dieses Alu-Element erst nach der Divergenz von Mensch und Menschenaffen in das Genom integriert wurde, also vor etwa vier bis sechs Millionen Jahren [19].

Alu-Sequenzen gehören zu den Retroelementen, das heißt, sie werden durch einen Retroposition genannten Prozess über ein RNA-Zwischenprodukt durch Vermittlung über die RNA-Polymerase-III im humanen Genom vervielfältigt und in neuen Lokalisationen integriert [15, 64].

Jede Alu-Wiederholung besitzt eine Länge von ca. 300 Basenpaaren und besteht aus zwei nahezu identischen Monomeren, die über einen Oligo-dA-Bereich miteinander verbunden sind, und eine Oligo-dA-Region am 3'-Ende [19].

Alu-Sequenzen sind spezifisch für Primaten; ihre biologische Bedeutung ist bisher nicht abschließend geklärt. Zahlreiche Überlegungen gehen davon aus, dass Alu-Sequenzen in der Evolution des menschlichen Genoms eine Rolle gespielt haben. So kann die Insertion von Alu-Elementen zu ungleichen Rekombinationen führen, was wiederum eine Deletion oder Duplikation von Sequenzen zur Folge haben kann [68]. Die Insertion von Alu-Sequenzen kann zu Erkrankungen wie Leukämie, Zervixkarzinom und Hämophilie führen [68]. Etwa 0,1 % aller bekannten humanen genetischen Erkrankungen werden auf Alu-Elemente zurückgeführt [64, 68].

Der PROGINS-Polymorphismus des PR-Gens wurde für diese Studie ausgewählt, weil er die Rezeptorfunktion negativ beeinflusst: Eine in vitro-Untersuchung an verschiedenen Zell-Linien (humane Zervixkarzinom-Zell-Linie HeLa, humane Ovarialkarzinom-Zell-Linien MDAH:2774 und Skov-3, humane Mammakarzinom-Zell-Linien T47D und MCF7 und die CHO-K1 Ovarial-Zell-Linie vom Hamster) wies eine reduzierte Progesteronaktivität in Anwesenheit der PROGINS-Variante des Progesteronrezeptors im Vergleich zum Wildtyp nach [64]. Zu beobachten waren eine reduzierte Stabilität des PROGINS-PR-Transkripts, eine veränderte posttranslationale Modifikation des Rezeptorproteins, eine abweichende dreidimensionale Proteinstruktur sowie eine weniger effiziente Inhibition der durch Östrogenapplikation angeregten Zellproliferation in der Ovarial-Zell-Linie. Ein Einfluss auf die Gentranskription wird angenommen [5, 15, 64].

Die PROGINS-Variante tritt mit einer Frequenz von ca. 15 % bei Kaukasiern deutlich häufiger auf als bei anderen ethnischen Gruppen wie Asiaten und Afrikanern [36, 51, 64].

Eine Vielzahl epidemiologischer Studien bringt den PROGINS-Polymorphismus mit verschiedensten gut- und bösartigen gynäkologischen, aber auch nicht gynäkologischen Erkrankungen in Zusammenhang. So ist das Vorhandensein des PROGINS-Polymorphismus beispielsweise signifikant assoziiert mit dem Auftreten einer Migräne und besonders überrepräsentiert bei Patientinnen mit einer Migräne-bedingten Übelkeit [51]. Auch unter Patientinnen mit einer Hyperprolaktinämie findet sich eine signifikante Häufung des PROGINS-Allels [36]. Frauen, die den PROGINS-Polymorphismus nicht aufweisen, sind signifikant häufiger von einer Adipositas betroffen als Frauen mit mindestens einem mutierten Allel [87].

Die nahe liegende Korrelation zwischen der PROGINS-Variante und dem Auftreten von Aborten oder einer Frühgeburt wurde in diversen Studien untersucht. Es fand sich jedoch kein eindeutiger Zusammenhang [18, 45].

Von klinischer Bedeutung ist der Progesteronrezeptor vor allem in der Onkologie, da das Wachstum verschiedener Malignome durch Sexualhormone beeinflusst wird. Auch der Zusammenhang zwischen der Mutation des Progesteronrezeptors und der Endometriose sowie dem Auftreten von Myomen ist Gegenstand der Forschung.

### 1.9.1. Mammakarzinom

Therapie und Prognose des Mammakarzinoms, das jede achte bis zehnte Frau in den Industrienationen trifft und somit die häufigste maligne Erkrankung der Frau darstellt, hängen entscheidend vom Hormonrezeptorstatus des Tumorgewebes ab [36]. Der Nachweis des Progesteronrezeptors ist mit einer günstigen Prognose verknüpft: Eine negative Korrelation zwischen dem Progesteronrezeptorproteingehalt und der TumorgroÙe, dem Nodalstatus und dem Grading wurde berichtet [21]. Die Progesteronrezeptorexpression ist ein wichtiger Prädiktor für ein längeres krankheitsfreies Überleben und ein besseres Gesamtüberleben [21].

Der Progesteronrezeptor ist ein wichtiger Regulator des Wachstums und der Differenzierung des Brustdrüsengewebes. PR-A supprimiert die Aktivierung des Östrogenrezeptors und die transkriptionelle Aktivität des PR-B [86]. Eine inadäquate Kontrolle des Östrogenrezeptors durch eine mutationsbedingte Funktionsänderung des Progesteronrezeptors erhöht das Risiko für die Entstehung eines Tumors [21]. Zahlreiche Studien aus verschiedenen Populationen über die Assoziation des PROGINS-Polymorphismus und dem Mammakarzinom fanden eine Risikoreduktion bei Vorhandensein des aberranten Rezeptors, andere eine Zunahme der Erkrankungswahrscheinlichkeit, wieder andere konnten keinen Zusammenhang feststellen [19, 21, 50, 60, 86]. Wie der polymorphe Progesteronrezeptor die Pathogenese des Mammakarzinoms auf molekularer Ebene modifiziert, ist weitgehend unklar.

### 1.9.2. Endometriumkarzinom

Ebenso wie das Mamma- und Ovarialkarzinom weist auch das vom Endometrium ausgehende Karzinom ein geschlechtshormonabhängiges Wachstum auf. Es ist das häufigste Malignom des weiblichen Genitaltraktes. Die Inzidenz dieser Erkrankung steigt. Obwohl als Hauptrisikofaktor die Lebenszeitexposition an Östrogen gilt, scheint auch bei diesem Malignom eine inadäquate Proliferationskontrolle durch das Progesteron und seine Rezeptoren eine Rolle zu spielen. In einigen Fällen progesteronrezeptorpositiver Tumore werden Progesteronderivate auch therapeutisch eingesetzt. Der PROGINS-Polymorphismus konnte in einer Fall-Kontroll-Studie als ein Prädiktor für das Risiko eines Rezidivs des Endometriumkarzinoms identifiziert werden [50, 60].

### 1.9.3. Ovarialkarzinom

Die Inzidenz des Ovarialkarzinoms beträgt 14 pro 100000 Frauen. Aufgrund des symptomarmen Krankheitsverlaufes und der meist relativ spät gestellten Erstdiagnose ist das Ovarialkarzinom die Hauptursache für Todesfälle infolge gynäkologischer Erkrankungen. Obwohl in der Frage nach der Ätiologie noch Vieles offen ist, wird vermutet, dass der Progesteronrezeptor involviert ist [79]. Bekannt ist, dass Progesteron das Wachstum des Ovarialepithels beeinflusst und dass sowohl die Einnahme progesteronhaltiger Kontrazeptiva als auch Schwangerschaften durch Reduktion der stattgehabten Ovulationen das Erkrankungsrisiko senken [79]. Mehrere Studien stellten eine Assoziation zwischen dem PROGINS-Polymorphismus und dem Ovarialkarzinom fest [2, 45, 50, 79]. Beispielsweise wurde bei deutschen und chinesischen Frauen mit Ovarialkarzinom der PROGINS-Polymorphismus 2- bis 4,5-fach häufiger im Vergleich zu gesunden Frauen gleicher ethnischer Herkunft gefunden [2]. In einer brasilianischen Fall-Kontroll-Studie fand man zusätzlich eine signifikante Häufung der polymorphen Variante des PR-Gens unter Patientinnen mit einem familiären Ovarialkarzinom [50]. In den Populationen mit einer großen Häufigkeit der PROGINS-Variante ist auch die Inzidenz des Ovarialkarzinoms am höchsten [2].

Es wird vermutet, dass der mutierte PR-A zu einer inadäquaten Kontrolle von ER und PR-B führt und so durch Überaktivierung der Proliferation das Ovarialkarzinomrisiko erhöht [81].

#### 1.9.4. Endometriose

Die Endometriose ist definiert als eine Erkrankung, bei der Gewebe, das histologisch dem Endometrium entspricht, außerhalb des Cavum uteri angetroffen wird, den typischen zyklischen, hormonabhängigen Veränderungen unterliegt und zu Beschwerden in Form von Dysmenorrhoe, Unterbauchschmerzen und/oder Sterilität führt. Die Lebenszeitprävalenz beträgt 10 %. Es stehen verschiedene pathophysiologische Erklärungsmodelle zur Diskussion. Eine der am meisten akzeptierten Theorien ist die Implantationstheorie, die davon ausgeht, dass während der Menstruation vitale endometriale Zellen retrograd in die Tuben und anschließend in die Bauchhöhle gelangen; dort kann es zur Implantation und Proliferation kommen. Dieses Phänomen ist in gewissem Umfang physiologisch und führt nur bei einer Minderheit der Frauen zur Entstehung einer Endometriose. Daher müssen zusätzliche Faktoren in der Pathogenese eine Rolle spielen.

Es ist schon lange bekannt, dass die Anfälligkeit für die Endometriose vererbt werden kann [48]. Auch weiß man, dass sowohl das normale Endometrium als auch heterotope endometriale Zellen Progesteron- und Östrogenrezeptoren exprimieren. Die Auswertung zweier Fall-Kontroll-Studien an 95 bzw. 131 Endometriosepatientinnen und 107 bzw. 127 gesunden Frauen legt nahe, dass das Vorhandensein des PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens das Risiko für die Entwicklung einer Endometriose erhöht [36, 48, 50, 89].

Der natürliche Antagonist der östrogeninduzierten Proliferation des Endometriums ist das Progesteron. Es wird vermutet, dass die PROGINS-Mutationen die Liganden- oder Hormonbindungsstellen des Rezeptors verändern und so zu einer inadäquaten Kontrolle der Proliferation führen [89]. Die Anwesenheit eines mutierten und in seiner Funktion eingeschränkten Progesteronrezeptors unterstützt auch die Theorie der östrogenen Überaktivierung im Falle einer Endometriose [89].



### 1.9.5. Leiomyome des Uterus

Uterine Leiomyome sind die häufigsten gutartigen Tumore im weiblichen Genitaltrakt und treten bei 30 % der über Dreißigjährigen auf. Die Pathogenese ist nicht abschließend geklärt. Eine familiäre Prädisposition ist in einigen Fällen nachweisbar. Weibliche Geschlechtshormone kontrollieren den Metabolismus der myometrialen Zellen. Neben Östrogen stimuliert auch Progesteron die mitotische Aktivität und das Tumorwachstum [28, 74]. Einer brasilianischen Studie zufolge wirkt der PROGINS-Polymorphismus zumindest bei farbigen Frauen protektiv gegen die Entstehung von Myomen [28].

Der Einfluss der Steroidhormone auf das Myomwachstum ist allerdings komplex. So ist während einer Schwangerschaft das Risiko der Neuentstehung dieser benignen Tumore trotz erhöhter Konzentrationen an Östrogen und Progesteron gering [28, 74].

### 1.10. Zielsetzung

- Ziel dieser Studie ist zunächst die Charakterisierung des Teilnehmerkollektivs anhand der erhobenen und ausgewerteten Daten.
- Es folgt die Analyse der Häufigkeitsverteilung des PROGINS-Polymorphismus bei den teilnehmenden Müttern und deren Kindern.
- Hauptaufgabe der Studie ist die Überprüfung der Frage, ob der PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens mit der Häufigkeit respiratorischer Erkrankungen des Neugeborenen, im Besonderen der transienten Tachypnoe, assoziiert ist.

## 2 MATERIALIEN, GERÄTE UND METHODEN

### 2.1. Materialien

#### 2.1.1. Puffer und Lösungen

TE-Puffer:	10 mM Tris-Cl 1 mM EDTA pH 7,5
TBE-Puffer:	Tris 108 g/l Borsäure 55 g/l 0,5 M EDTA 40 ml/l pH 8,0
K-Puffer:	50 mM KCl 10 mM Tris-Cl 2,5 mM MgCl <sub>2</sub> pH 8,3
Blaumarker :	Bromphenolblau 0,25 % Ficoll (Type 400) 15 % in 1 x TBE lösen
100 bp DNA-Leiter:	320 µl autoklaviertes Wasser 70 µl Blaumarker 10 µl 100 bp DNA-Basenleiter (0,1 mg DNA/ml)
Ethidiumbromidlösung	800 ml TBE-Puffer 50 µl Ethidiumbromid

## 2.1.2. Reagenzien

- Magnesiumchloridlösung:  
Bioron 100 mM MgCl<sub>2</sub>, Cat.-No. L103001
- Desoxyribonukleotide:  
Bioron 200 µl / 100 mmol, dATP Cat.-No. S110003, dCTP S110005, dGTP S110007, dTTP S110009
- 10 x PCR Puffer:  
Bioron "Incomplete", (10 x) Reac. Buffer 1 ml for Taq pol., Lot: PEQ-04024-1
- Primer:

Primer	Sequenz
PROGINS sense	5`-GGC AGA AAG CAA AAT AAA AAG A-3`
PROGINS antisense	5`-AAA GTA TTT TCT TGC TAA ATG TC-3`

- Taq DNA Polymerase:  
Bioron, Cat.-No. 101005, 5000 U/ml, Lot: KOV-1103-1
- Agarose:  
SeaKem® LE Agarose, Biozym Art.-Nr. 840.004
- Basenleiter:  
Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder, 50 µg DNA/µl, Fermentas #SM0241
- EDTA (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>):  
Merck KG aA, Darmstadt
- Bromphenol:  
Carl Roth GmbH, Karlsruhe
- Ethidiumbromid:  
10 mg/ml Amresco Inc., Ohio, USA
- Tris (C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>):  
Tris (hydroxymethyl)-aminomethan, Merck KG aA, Darmstadt
- Borsäure (H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>):  
Merck KG aA, Darmstadt
- Proteinase K:  
Merck KG aA, Darmstadt
- Tween-20:  
Serva feinbiochemica GmbH, Mannheim

## 2.2. Geräte

- Feinwaage: Sartorius BL 600, Sartorius AG, Göttingen
- Zentrifuge: Butterfly Roth Micro Centrifuge, 220 VAC
- Zentrifuge: Biofuge 13 Heraeus Sepatech
- Vortex: Genie 2 TM, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz
- Vortex: IKA® lab dancer, IKA-Werk Staufen
- Thermocycler: Biometra T3 Thermocycler, Whatman biometra GmbH, Tübingen
  
- Gel-Elektrophorese-Kammer: Biometra Standard Power Pack P25, max. 400 V, 1000 mA, 200 W, Whatman biometra GmbH, Tübingen
  
- Wasserbad: 37°C und 56°C GFL
- Mikrowelle: Panasonic NN-3206
- Thermoblock: Test Tube Thermostat TCR 100, Roth
- UV-Transilluminator: Biometra TI1, Göttingen; 230V, 160W, 50Hz
- -20 °C Eisschrank
- Tischautoklav Systemec Tischautoklav Modell 2540 EL, Wettenberg

## 2.3. Methoden

### 2.3.1. Datenerhebung

Im Rahmen dieser klinischen Studie wurden im Zeitraum von Juli 2000 bis Dezember 2004 3194 Frauen interviewt, die in der Frauenklinik der Berliner Charité, Campus Charité Mitte, geboren hatten. Es handelt sich hierbei um eine geburtshilfliche Abteilung mit einem angeschlossenen Perinatalzentrum Level 1 und einer jährlichen Geburtenzahl von ca. 1600. Das Interview erfasste das mütterliche Alter, die Körpergröße, den berechneten Entbindungstermin, das Körpergewicht vor der Entbindung, das Rauchverhalten vor und während der Schwangerschaft, das Vorhandensein von Fettstoffwechselstörungen bzw. deren medikamentöse Behandlung, das Auftreten eines Hypertonus (Definition: systolisch  $\geq 140$  mm Hg

und/oder diastolisch  $\geq 90$  mm Hg, mindestens zweimal auftretend) und eines Diabetes mellitus vor und/oder während der Schwangerschaft inklusive der Frage nach einer medikamentösen Behandlung und der Frage nach einem Auftreten dieser beiden Erkrankungen bei Verwandten ersten Grades und letztlich die Nationalität.

Des Weiteren wurden analoge Daten der Kindesväter zusammengetragen, entweder durch persönliche Auskunft oder - bei deren Abwesenheit - ersetzt durch Angaben der Kindesmütter.

Die Mutterpässe wurden nach Zustimmung fotokopiert. Folgende Angaben wurden aus dem jeweiligen Mutterpass in unsere Datenbank übernommen:

- zur Mutter: Name, Geburtsdatum, Körpergröße, Körpergewicht vor der Schwangerschaft, Anzahl der Schwangerschaften und Geburten
- serologische Untersuchungen: Blutgruppe, Rhesusfaktor, Antikörpersuchtest, Nachweis des HBs-Antigens, Röteln-HAH-Test, LSR
- Terminbestimmung: Zykluslänge und Regelmäßigkeit, erster Tag der letzten Regel, Konzeptionstermin, berechneter Entbindungstermin, korrigierter Entbindungstermin
- Risikofaktoren: Anamnese und Befunde bei der frauenärztlichen Erstuntersuchung und besondere Befunde im Schwangerschaftsverlauf
- Gravidogramm: Fundusstand, Kindslage, Vorhandensein von Ödemen oder Varizen, Körpergewichtsverlauf, Blutdruck, Hämoglobinkonzentration, Urinbefunde, Anzahl der Vorsorgeuntersuchungen
- Befunde der Ultraschalluntersuchungen
- zum Kind: Geburtstermin in Datum und ausgedrückt in Schwangerschaftswoche und -tag, Geschlecht, Körpergewicht, Länge, Kopfumfang, Apgar-Index, Nabelarterien-pH-Wert, Geburt als Ein- oder Mehrling
- zur Geburt: Geburtsmodus

Das Gewicht der Plazenta wurde aus dem Geburtsprotokoll ermittelt.

Neugeborene, die nach der Geburt von Neonatologen betreut werden mussten (ausgenommen konsiliarische Untersuchungen im Kreißsaal z. B. nach abdominal-operativer Entbindung), wurden im Neolink 2000 erfasst. Dies ist ein Datenerfassungsprogramm speziell für neonatologische Stationen im

deutschsprachigen Raum, welches diverse Daten der behandelten Kinder (u. a. Name, Geburtsdatum, anamnestische Informationen, Aufnahme- und Entlassungstag, Vitalparameter im Verlauf, Diagnosen, Prozeduren) subsumiert, um beispielsweise deren spätere statistische Auswertung zu vereinfachen. Aus dieser Datei wurden für die Studie die Kinder herausgesucht, bei denen Erkrankungen des respiratorischen Systems diagnostiziert wurden. Die genauen Diagnosen, weitere Informationen über diese Kinder aus dem Neolink 2000-Programm sowie die entsprechenden Entlassungsbriefe der Kinder wurden genutzt, um unsere Datenbank zu erweitern.

Die Diagnose TTN wurde durch Neonatologen gestellt und richtete sich nach folgenden Kriterien:

- Beginn Tachypnoe innerhalb der ersten sechs Lebensstunden
- Persistenz der Tachypnoe für mindestens 12 Stunden
- Veränderungen im Röntgenbild (siehe oben)
- Ausschluss anderer respiratorischer oder kardialer Erkrankungen [41, 62, 71]

Wurden nicht alle Kriterien erfüllt, so wurde eine respiratorische Anpassungsstörung dokumentiert.

Die respiratorischen Erkrankungen der Neugeborenen wurden aufgrund der teilweise geringen Fallzahlen für die weitere Auswertung in vier Kategorien zusammengefasst:

**I respiratorische Erkrankungen, die mit Frühgeburtlichkeit assoziiert sind**

- Atemnotsyndrom (P22.0)
- Atemantriebsstörungen/Apnoe (P28.4)/Apnoe-Bradykardie-Syndrom
- respiratorische Insuffizienz (P28.5)
- bronchopulmonale Dysplasie (P27.1)

**II respiratorische Erkrankungen, die mit geburtshilflichen Problemen assoziiert sind**

- Mekoniumaspirationssyndrom (P24.0)
- perinatale Asphyxie und Azidose (P21)

**III infektiöse respiratorische Erkrankungen und Folgezustände**

- Pneumonie (P23)
- Pneumothorax (P25.1)

**IV respiratorische Anpassungsstörungen**

- transiente Tachypnoe (P22.1)
- sonstige respiratorische Anpassungsstörung (P22.8)

2.3.2. Materialgewinnung

Sofern den Müttern im Laufe ihres Aufenthaltes im Krankenhaus Blut abgenommen wurde, erfolgte auch die Entnahme von 10 ml EDTA-Vollblut zur Verwendung im Rahmen dieser Studie. Alle mütterlichen Blutproben wurden peripher venös entnommen.

Kindliches Blut wurde nach der Geburt mittels EDTA-Monovetten aus einem der Nabelschnurgefäße entnommen.

Die Ermittlung, Speicherung und wissenschaftliche Auswertung der Daten sowie die Nutzung der Blutproben zu Zwecken der genetischen Analyse als Teil dieser Studie erforderten die Aufklärung und Zustimmung der Studienteilnehmer bzw. ihrer Erziehungsberechtigten. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Charité genehmigt.

### 2.3.3. Isolierung der DNA aus der Vollblutprobe

- Die Blutproben werden bei 3000 Umdrehungen pro Minute (UpM) 5 min lang zentrifugiert. Das überstehende Blutplasma wird anschließend abpipettiert und verworfen. Die verbleibenden Zellen sind im Verhältnis 1:1 mit 0,9 % isotoner NaCl-Lösung zu versetzen und zu mischen.
- Jeweils 50 µl des so hergestellten NaCl-Blutes werden mit 500 µl TE-Puffer versetzt. Es folgt eine erneute Zentrifugation bei 13000 UpM für 3 min.
- Der Überstand wird entfernt, das Pellet wird mit 500 µl TE-Puffer resuspendiert. Es schließt sich wiederum eine Zentrifugation bei 13000 UpM für 1 min an. Dieser Vorgang wird 3-5 Mal wiederholt, wobei der Überstand jeweils verworfen wird.
- Der Rückstand wird in 100 µl K-Puffer/Proteinase K-Lösung resuspendiert. Diese Lösung besteht aus 98,5 µl K-Puffer, 10 µl Proteinase K (100 µg/ml) und 0,5 µl Tween 20 (0,5 %).
- Nun wird für mindestens 90 min bei 56°C im Wasserbad inkubiert. Die Reaktion stoppt bei Erhitzung auf 95°C für 30 min im Thermo block. Es folgt die Abkühlung unter zu Hilfenahme von Eis.
- Die so entstandenen DNA-Isolierungen können bei -20°C gelagert werden.

### 2.3.4. PCR

#### 2.3.4.1. Prinzip

Die Polymerasekettenreaktion ist eine molekulargenetische Methode, die 1983 von Kary Mullis in den USA entwickelt wurde. 1993 erhielt er dafür den Nobelpreis für Chemie. Sie dient der Vervielfältigung von Nukleinsäuren, wobei eine DNA-Polymerase, ausgehend von jeweils spezifischen Startermolekülen, einen neuen DNA-Strang an einer einzelsträngigen Nukleinsäure-Matrize, der Template-DNA, bildet.

Im ersten Schritt wird die Template-DNA (engl. template: Matrize) durch thermische Denaturierung bei etwa 90 °C in einzelsträngige DNA überführt. An diese hybridisieren unter Temperaturabsenkung auf ca. 50 °C die als Startermoleküle eingesetzten synthetischen DNA-Oligonukleotide (Primer). Vom 3'-Ende der Template-DNA aus synthetisiert eine hitzestabile DNA-Polymerase, isoliert aus dem



thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus*, unter Anwesenheit eines Gemisches aller Desoxynukleotidtriphosphate und von Magnesium-Ionen bei Temperaturen um 72 °C den neuen DNA-Doppelstrang. An diesen als Elongation bezeichneten Vorgang schließt sich wiederum die Überführung der doppelsträngigen in einzelsträngige DNA durch Temperaturanpassung an.

Durch die Wahl eines gegenläufig orientierten Oligonukleotid-Primerpaares kann gezielt die DNA-Sequenz zwischen den beiden Primern amplifiziert werden.

Das entscheidende Prinzip der PCR ist die zyklische Wiederholung der einzelnen Reaktionsschritte, wodurch die Matrize exponentiell vervielfältigt werden kann.

Bei der hier genutzten Variante der PCR wurden die Primer derart ausgewählt, dass je nach zugesetzter zu untersuchender Template-DNA verschieden lange Reaktionsprodukte entstehen, so dass nachfolgend eine Identifizierung des Progesteronrezeptorsubtyps ermöglicht wurde.

#### 2.3.4.2. Durchführung

Zuerst erfolgt die Herstellung einer Stammlösung, des sog. Master-Mixes, der die Komponenten enthält, die in allen Reaktionsansätzen vorhanden sein müssen. Zuletzt gibt man das Enzym hinzu.

Tabelle 3: Zusammensetzung Mastermix

Zusatz	Konzentration	Menge in µl
destilliertes Wasser	-	752,4
10 x PCR Puffer	160 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 670 mM Tris-HCl pH 8,8 0,1 % Tween-20	110,0
MgCl <sub>2</sub>	100 mM	22,0
dNTPs (Mix)	jeweils 25 mM	22,0
Progins sense (Primer)	10 nmol/l	44,0
Progins antisense (Primer)	10 nmol/l	44,0
Taq DNA Polymerase	5000 U/ml	6,6

Ab der Zugabe des Enzyms wird auf Eis gearbeitet.

Nachdem der fertig gestellte Master-Mix gut gemischt wurde, verteilt man ihn auf die vorbereiteten, ebenfalls auf Eis gelagerten 48 Reaktionsgefäße. In die ersten 46 Reaktionsgefäße erfolgt nun die Zugabe von jeweils 2 µl der zu analysierenden DNA-Probe, die aus der Vollblutprobe der jeweiligen Studienteilnehmerin bzw. aus dem jeweiligen Nabelschnurblut isoliert wurde. Das 47. Gefäß beinhaltet die Positivkontrolle. Sie dient dem Nachweis, dass die Reaktion ordnungsgemäß stattgefunden hat. Genutzt werden DNA-Proben, die bekanntermaßen zwei mutierte Allele im Bereich des Progesteronrezeptorgens aufweisen. Dem letzten Reaktionsgefäß wird keine DNA zugesetzt; es wird folglich als Negativkontrolle mitgeführt, um eine Kontamination mit fremder DNA auszuschließen.

Es schließt sich ein erneutes sorgfältiges Vermischen und eine Zentrifugation an. Durchgeführt wird die PCR in Thermocyclern. Ein solcher Thermocycler besteht aus mehreren temperierbaren Reaktionsräumen, in die die PCR-Probengefäße gestellt werden. Eine automatische Steuerung regelt das zyklische Temperaturprogramm, wobei die jeweilige Temperatur und Zeit pro Reaktionsschritt sowie die Zyklenzahl individuell programmierbar sind. Das PCR-Programm wird gestartet.

Tabelle 4: PCR-Protokoll

Schritt	Temperatur in °C	Zeit in min
1	94	Pause
2	94	6
3	52	30
4	72	2
5	94	30
6	52	30
7	72	10
8	10	Pause

Nach Beendigung des Programms werden die Produkte entweder direkt gelelektrophoretisch analysiert oder bei -20 °C gelagert.

## 2.3.5. Gelelektrophorese

### 2.3.5.1. Prinzip

Die Wanderung geladener Teilchen im elektrischen Feld wird zur Trennung komplexer Gemische ausgenutzt. Bei den trägergebundenen Elektrophoresesystemen, zu denen auch die hier verwendete Gelelektrophorese gehört, erfolgt die Separierung der Substanzen nicht nur durch die Ladung der Moleküle, sondern zusätzlich durch einen Siebeffekt des Trägermaterials aufgrund von Größe und Gestalt der zu trennenden Moleküle in Abhängigkeit von der Porengröße. Zudem wird die Beweglichkeit der Teilchen auch von den Eigenschaften des Puffers und von der elektrischen Feldstärke bestimmt.

Unter elektrophoretischen Bedingungen sind die Phosphatgruppen der Nukleinsäuren ionisiert und die Polydesoxynukleotide liegen als Polyanion vor. Sie bewegen sich somit im elektrischen Feld von der Kathode zur Anode.

Agarose-Gelsysteme sind die Standardmethode für die Trennung und Identifizierung von DNA-Fragmenten. Agarose ist ein Polysaccharid und wird aus roten Meeresalgen hergestellt.

Zur Größenbestimmung und zur Zuordnung von Nukleinsäurefragmenten müssen bei der elektrophoretischen Trennung stets Größenstandards mit aufgetrennt werden.

### 2.3.5.2. Durchführung

#### ▪ Herstellung des Gels

Es wird Agarosepulver in TBE-Puffer suspendiert, wobei die Mengen so zu wählen sind, dass das entstehende Gel Agarose in einer Konzentration von 1,5 % enthält. Die Suspension wird vorsichtig in einem Mikrowellengerät aufgeköcht. Hierbei sind der Flüssigkeitsverlust und damit die Konzentrierung der Pufferlösung bei zu langem bzw. zu starkem Kochen zu beachten.

Die flüssige, homogene Agaroselösung wird in den Gelschritten gegossen, in den zuvor eine Taschenschablone eingesetzt wurde. Die Taschen sollten sich später ca. 10 mm vom oberen Gelrand entfernt befinden und zwischen den Taschen und dem Gelboden sollte sich eine 1-2 mm dicke Agaroseschicht ausgebildet haben.

Die Lösung soll nun bei Raumtemperatur abkühlen und gelieren. Dabei bilden sich Doppelhelices aus, die sich in Gruppen parallel zu Fäden zusammenlagern. Anschließend wird die Taschenschablone vorsichtig aus dem ca. 5 mm dicken Gel entfernt. Gelschlitten samt Gel wird in die Gelkammer des Gelelektrophorese-Apparates gelegt und mit TBE-Puffer überschichtet.

- **Probenauftragung**

Im nächsten Schritt wird jedes der Reaktionsgefäße mit 2 µl Blaumarker versetzt. 10 µl des DNA-Blaumarker-Gemisches werden jeweils entnommen und in eine der Probenaschen des Gels eingebracht. Für die spätere Identifizierung der DNA-Banden wird als Größenstandard ein 100 bp-DNA-Leiter mitgeführt.

- **Elektrophorese**

Nach der Probenauftragung wird die Elektrophoresekammer mit dem Stromgeber verbunden. Die Elektrophorese wird bei 100 Volt ca. 25 min durchgeführt, wobei die DNA-Fragmente in Richtung Anode wandern und die erforderliche Trennstrecke zurücklegen.

### 2.3.6. Anfärbung und Visualisierung

Das Gel wird aus der Elektrophoresekammer genommen und in eine mit Ethidiumbromid versetzte Lösung gelegt. Nach etwa 45 min hat sich der interkalierende Farbstoff in ausreichender Menge in die DNA eingefügt, so dass das Gel aus der Färbelösung genommen, und das Reaktionsergebnis unter Zuhilfenahme eines UV-Transilluminators sichtbar wird und dokumentiert werden kann. Beim Wildtyp-Allel (im folgenden T1-Allel genannt) stellt sich eine Bande bei 149 bp dar, beim mutierten Allel (T2-Allel) bei 455 bp.

Alle DNA-Untersuchungen erfolgten als Doppelbestimmungen.

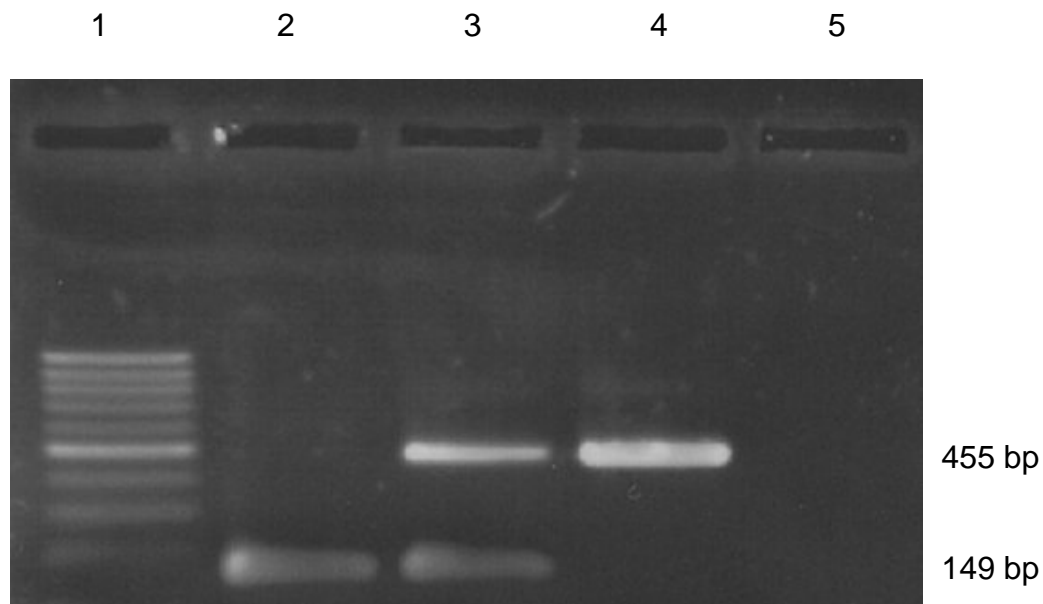


Abb. 5: Gelelektrophorese

- 1 100 bp Basenleiter
- 2 homozygoter Wildtyp T1/T1
- 3 heterozygot T1/T2
- 4 homozygot mutierter Typ T2/T2
- 5 Negativkontrolle

### 2.3.7. statistische Auswertung

Die Daten wurden mithilfe der Statistiksoftware SPSS, Version 11.5 analysiert. Deskriptive Ergebnisse kontinuierlicher Variablen wurden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler angegeben. P-Werte kleiner als 0,05 galten als statistisch signifikant. Der Pearson's goodnes-of-fit  $\chi^2$ -Test wurde genutzt, um Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zu untersuchen. Um quantitative Parameter zwischen den verschiedenen Genotyp-Gruppen zu vergleichen, wurde die Varianzanalyse ANOVA angewandt. Der T-Test wurde genutzt, um jeweils zwei Gruppen einander gegenüber zu stellen. Häufigkeiten wurden mithilfe Pearson's  $\chi^2$ -Test verglichen. Gestationsalter bei der Geburt, Geburtsmodus, Mehrlingsgravidität und fetales Geschlecht sind bekannte Risikofaktoren für die TTN. Die multivariate Regressionsanalyse wurde genutzt, um diese relevanten Confounder auszuschließen.

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1. Beschreibung der Studienpopulation

3194 Frauen, die im Zeitraum von Juli 2000 bis Dezember 2004 in der Frauenklinik der Charité, Campus Charité Mitte, Universitätsklinikum der Humboldt-Universität Berlin entbunden hatten, nahmen an dieser Studie teil. Etwa 5 % der Frauen lehnten ein Mitwirken an der Studie ab. Von 2720 Frauen standen Blutproben für die Genanalyse zur Verfügung. 2573 (94,6 %) Frauen waren Kaukasierinnen, 27 (1,0 %) Frauen waren afrikanischer und 64 (2,4 %) Frauen waren asiatischer Abstammung. Bei 56 (2,1 %) Frauen konnte die Nationalität nicht erfasst werden. Aufgrund der deutlich variierenden Allelhäufigkeiten in den verschiedenen ethnischen Gruppen wurden für die weitere Auswertung der Daten nur kaukasische Frauen berücksichtigt. Nachfolgend betrachtet wurden 2352 Mutter-Kind-Paare, die als weitere Bedingung erfüllten, dass sowohl der mütterliche als auch der kindliche Genotyp für den PROGINS-Polymorphismus bestimmt werden konnten. Im Falle von Mehrlingsschwangerschaften wurde jeweils nur das erst geborene Kind betrachtet.

Wie Tabelle 5 zu entnehmen ist, beläuft sich das mittlere Alter der Mütter auf 30,1 Jahre, wobei die Mütter zwischen 14 und 49 Jahre alt waren. Die Größe betrug 167,3 cm mit einer Schwankungsbreite von 136 bis 188 cm. Im Durchschnitt wogen die Frauen vor der Schwangerschaft 64,0 kg (38 bis 140 kg) und nahmen im Verlauf der Gravidität 15,5 kg zu. Für den mittleren Body Mass Index vor der Schwangerschaft wurde ein Wert von  $22,8 \text{ kg/m}^2$  errechnet mit einem Schwankungsbereich von  $15,2 \text{ kg/m}^2$  bis  $46 \text{ kg/m}^2$ .

94,2 % der betrachteten Graviditäten waren Einlingsschwangerschaften, 5,7 % waren Zwillingschwangerschaften und 0,1 % Drillingsschwangerschaften. Für 44,2% der Frauen war es die erste Schwangerschaft. 56,1 % brachten ihr erstes Kind/ihre ersten Kinder zur Welt.

Eine Hypertonie wurde bei 6,1 % der Schwangeren diagnostiziert. Bei 4,1 % der Frauen lag in der Schwangerschaft ein Diabetes mellitus vor. 2,0 % litten bereits vor ihrer Schwangerschaft an Diabetes mellitus. Die Familienanamnese für den arteriellen Hypertonus war für 36,9 % der Frauen positiv und diejenige für Diabetes

mellitus für 34,4 % positiv. 40,3 % der Frauen rauchten vor Feststellung der Gravidität, 17,5 % setzten dieses Verhalten auch während der Schwangerschaft fort.

Tabelle 5: deskriptive Daten der Mütter kaukasischer Abstammung  
Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozent

Kriterium	Zahlenwert
Anzahl der Mütter	2352
Alter der Mutter (Jahre)	30,1 $\pm$ 5,6
Größe der Mutter (cm)	167,3 $\pm$ 6,5
Gewicht der Mutter vor der Schwangerschaft (kg)	64,0 $\pm$ 12,5
BMI vor der Schwangerschaft (kg/m <sup>2</sup> )	22,8 $\pm$ 4,0
Einlingsschwangerschaften (%)	94,2
Zwillingsschwangerschaften (%)	5,7
Drillingsschwangerschaften (%)	0,1
Primigravida (%)	44,2
Primipara (%)	56,1
Hypertonie in der Schwangerschaft (%)	6,1
Hypertonie in der Familienanamnese (%)	36,9
Diabetes mellitus vor der Schwangerschaft (%)	2,0
Diabetes mellitus während der Schwangerschaft (%)	4,1
Diabetes mellitus in der Familienanamnese (%)	34,4
Rauchen vor der Schwangerschaft (%)	40,3
Rauchen während der Schwangerschaft (%)	17,5

Von den 2352 Kindern, deren Nabelschnurblut zur Genotypisierung zur Verfügung stand, waren 47,3 % weiblich und 52,7 % männlich. Das Geburtsgewicht betrug im Mittel 3324 g, wobei die Kinder zwischen 605 g und 5650 g schwer waren. Die durchschnittliche Körperlänge lag bei 50,6 cm und der Kopfumfang bei 34,6 cm. Die Berechnung des Ponderalindex, einer Maßzahl zur Beurteilung des Körpergewichts in Relation zur Körpergröße, ergab einen mittleren Wert von 25,4 kg/m<sup>3</sup>. Im Durchschnitt fand die Entbindung nach 38,7 SSW statt. 64,5 % der Frauen

erlebten eine Spontangeburt, 6,7 % entbanden vaginal-operativ. Die Sectorate lag bei 28,8 %. Die in Tabelle 6 zusätzlich enthaltende Auswertung der deskriptiven Daten nach dem Geschlecht des Kindes ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Mädchen und Jungen.

Tabelle 6: deskriptive Daten der Kinder gesamt und nach Geschlecht  
Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozent

Kriterium	gesamt	männlich	weiblich
Geburtsgewicht (g)	3324 $\pm$ 646	3391 $\pm$ 643	3249 $\pm$ 643
Körperlänge bei Geburt (cm)	50,6 $\pm$ 3,1	51,1 $\pm$ 3,1	50,2 $\pm$ 3,1
Kopfumfang bei Geburt (cm)	34,6 $\pm$ 2,3	34,8 $\pm$ 2,4	34,3 $\pm$ 2,1
Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	25,4 $\pm$ 3,2	25,4 $\pm$ 3,5	25,5 $\pm$ 2,8
Nabelschnur-pH-Wert, arteriell	7,28 $\pm$ 0,1	7,28 $\pm$ 0,1	7,28 $\pm$ 0,1
APGAR-Wert nach 5 min	9,3 $\pm$ 1,0	9,3 $\pm$ 1,0	9,4 $\pm$ 1,0
APGAR-Wert nach 10 min	9,7 $\pm$ 0,6	9,6 $\pm$ 0,7	9,7 $\pm$ 0,6
Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,7 $\pm$ 2,3	38,8 $\pm$ 2,3	38,7 $\pm$ 2,2
<u>Geburtsmodus</u> (%)			
spontan	64,5	62,9	66,2
vaginal-operativ	6,7	7,8	5,6
abdominal-operativ	28,8	29,3	28,2

### 3.2. Häufigkeit und Verteilung des PROGINS-Allels

Der homozygote Wildtyp-Genotyp war erwartungsgemäß in der mütterlichen und der kindlichen Kohorte mit 72,9 % bzw. 74,4 % am häufigsten vertreten. Zwei polymorphe Allele wiesen 2,0 % der Mütter und 1,5 % der Kinder auf. 25,1 % der



Mütter und 24,1% der Kinder verfügten über beide Varianten des betrachteten Allels (T1/T2; siehe Tabelle 7).

Die Genotypverteilung des PROGINS-Polymorphismus beider Kohorten entspricht der Hardy-Weinberg-Verteilung ( $p > 0,05$ ).

Tabelle 7: Häufigkeit und Verteilung der mütterlichen und kindlichen Genotypen sowie Allelhäufigkeiten

Genotyp/Allel	Mutter		Kind	
	Anzahl (n)	Häufigkeit (%)	Anzahl (n)	Häufigkeit (%)
Wildtyp (T1/T1)	1715	72,9	1750	74,4
heterozygot (T1/T2)	590	25,1	567	24,1
homozygot (T2/T2)	47	2,0	35	1,5
T1-Allel	4020	85,5	4067	86,5
T2-Allel	684	14,5	637	13,5

### 3.3. Analyse der Studienpopulation nach mütterlichem PROGINS-Genotyp

Die Tabellen 8 bis 10 enthalten die erfassten und ermittelten Daten der Mütter, Kinder und Geburt unter Berücksichtigung des mütterlichen Genotyps für den PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens. In den Tabellen 9 und 10 wird zusätzlich zwischen den kindlichen Geschlechtern unterschieden. Ein statistisch signifikanter Unterschied findet sich lediglich für den APGAR-Wert nach 10 Minuten bei der Betrachtung aller Neugeborenen ( $p=0,048$ ).

Tabelle 8: deskriptive Daten der Mütter in Abhängigkeit vom mütterlichen Genotyp

FA = Familienanamnese, beinhaltet Verwandte 1. Grades

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

<b>Genotyp der Mutter</b>	<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>p</b>
Alter der Mutter (Jahre)	30,0 $\pm$ 5,5	30,3 $\pm$ 5,8	29,8 $\pm$ 5,8	0,579
Größe der Mutter (cm)	167,2 $\pm$ 6,5	167,5 $\pm$ 6,4	166,8 $\pm$ 6,9	0,782
Gewicht der Mutter vor der Schwangerschaft (kg)	63,9 $\pm$ 12,2	64,6 $\pm$ 13,3	62,2 $\pm$ 10,4	0,376
BMI vor Schwangerschaft (kg/m <sup>2</sup> )	22,8 $\pm$ 4,0	23,0 $\pm$ 4,3	22,4 $\pm$ 3,4	0,563
Einlingsschwangerschaften (%)	94,2	93,7	97,9	0,624
Zwillingsschwangerschaften (%)	5,6	6,3	2,1	
Drillingsschwangerschaften (%)	0,2	0,0	0,0	
Primigravida (%)	43,5	45,7	48,7	0,906
Primipara (%)	54,6	60,2	60,0	0,590
Hypertonie in Schwangerschaft (%)	5,8	7,2	0,0	0,931
Hypertonie in FA* (%)	37,7	35,0	35,9	0,583
Diabetes mellitus vor Schwangerschaft (%)	2,1	1,7	2,6	0,859
Diabetes mellitus während Schwangerschaft (%)	4,3	3,6	5,1	0,773
Diabetes mellitus in FA* (%)	33,8	36,1	33,3	0,652
Rauchen vor Schwangerschaft (%)	40,5	39,1	46,2	0,656
Rauchen vor und während der Schwangerschaft (%)	18,1	16,2	15,4	0,675

Tabelle 9: deskriptive Daten der Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Genotyp;  
Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

	<b>Genotyp der Mutter</b>	<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>p</b>
<b>gesamt</b>	Geburtsgewicht (g)	3472,0 $\pm$ 604,3	3331,2 $\pm$ 624,7	3318,0 $\pm$ 654,2	0,269
	Körperlänge bei Geburt (cm)	51,4 $\pm$ 3,2	50,8 $\pm$ 2,9	50,6 $\pm$ 3,2	0,205
	Kopfumfang bei Geburt (cm)	34,7 $\pm$ 1,7	34,5 $\pm$ 2,7	34,6 $\pm$ 2,1	0,785
	Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	25,5 $\pm$ 2,6	25,4 $\pm$ 2,5	25,5 $\pm$ 3,4	0,844
	APGAR-Wert 5 min	9,5 $\pm$ 0,7	9,3 $\pm$ 0,9	9,3 $\pm$ 1,0	0,279
	APGAR-Wert 10 min	9,8 $\pm$ 0,4	9,7 $\pm$ 0,6	9,7 $\pm$ 0,7	0,048
<b>männlich</b>	Geburtsgewicht (g)	3683,0 $\pm$ 574,4	3367,8 $\pm$ 648,7	3393,4 $\pm$ 641	0,113
	Körperlänge bei Geburt (cm)	51,9 $\pm$ 3,0	51,1 $\pm$ 2,9	51,0 $\pm$ 3,2	0,466
	Kopfumfang bei Geburt (cm)	35,2 $\pm$ 1,3	34,7 $\pm$ 3,4	34,9 $\pm$ 1,9	0,388
	Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	26,3 $\pm$ 2,9	25,1 $\pm$ 2,3	25,4 $\pm$ 3,8	0,204
	APGAR-Wert 5 min	9,5 $\pm$ 0,6	9,3 $\pm$ 1,0	9,3 $\pm$ 1,0	0,610
	APGAR-Wert 10 min	9,8 $\pm$ 0,5	9,7 $\pm$ 0,6	9,6 $\pm$ 0,7	0,318
<b>weiblich</b>	Geburtsgewicht (g)	3322,9 $\pm$ 589,7	3285,7 $\pm$ 593,4	3235,0 $\pm$ 660,1	0,451
	Körperlänge bei Geburt (cm)	51,0 $\pm$ 3,4	50,3 $\pm$ 2,9	50,2 $\pm$ 3,2	0,321
	Kopfumfang bei Geburt (cm)	34,3 $\pm$ 1,9	34,3 $\pm$ 1,6	34,2 $\pm$ 2,2	0,923
	Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	24,9 $\pm$ 2,3	25,7 $\pm$ 2,6	25,5 $\pm$ 2,8	0,361
	APGAR-Wert 5 min	9,6 $\pm$ 0,8	9,4 $\pm$ 0,8	9,4 $\pm$ 0,9	0,481
	APGAR-Wert 10 min	9,9 $\pm$ 0,4	9,8 $\pm$ 0,5	9,7 $\pm$ 0,6	0,167

Tabelle 10: deskriptive Daten zur Entbindung der Kinder in Abhängigkeit vom mütterlichen Genotyp; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

	<b>Genotyp der Mutter</b>	<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>p</b>
<b>gesamt</b>	Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,7 $\pm$ 2,3	38,7 $\pm$ 2,3	39,0 $\pm$ 1,8	0,522
	<u>Geburtsmodus (%)</u>				
	spontan	64,5	64,3	65,2	
	vaginal-operativ	5,9	8,9	8,7	0,130
	abdominal-operativ	29,5	26,7	26,1	
<b>männlich</b>	Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,8 $\pm$ 2,2	38,8 $\pm$ 2,5	38,6 $\pm$ 1,9	0,948
	<u>Geburtsmodus (%)</u>				
	spontan	63,6	60,9	63,2	
	vaginal-operativ	6,5	11,4	10,5	0,090
	abdominal-operativ	30,0	27,7	26,3	
<b>weiblich</b>	Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,7 $\pm$ 2,3	38,5 $\pm$ 2,1	39,3 $\pm$ 1,6	0,181
	<u>Geburtsmodus (%)</u>				
	spontan	65,3	68,7	66,7	
	vaginal-operativ	5,4	6,1	7,4	0,754
	abdominal-operativ	29,3	25,2	25,9	

#### 3.4. Analyse der Studienpopulation nach kindlichem PROGINS-Genotyp

Analog zur Darstellung bei den Müttern zeigen die Tabellen 11 bis 13 die ermittelten und errechneten deskriptiven Angaben für den kindlichen Genotyp des PROGINS-Polymorphismus, in den Tabellen 12 und 13 mit Unterteilung nach dem kindlichen Geschlecht. Signifikante Unterschiede für die dargestellten deskriptiven Daten bestehen nicht.

Tabelle 11: deskriptive Daten der Mütter in Abhängigkeit vom kindlichen Genotyp

\*FA = Familienanamnese, beinhaltet Verwandte 1. Grades

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

<b>Genotyp des Kindes</b>	<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>p</b>
Alter der Mutter (Jahre)	30,1 $\pm$ 5,5	30,1 $\pm$ 5,9	31,7 $\pm$ 5,4	0,265
Größe der Mutter (cm)	167,2 $\pm$ 6,5	167,3 $\pm$ 6,5	169,8 $\pm$ 6,7	0,082
Gewicht der Mutter vor der Schwangerschaft (kg)	64,2 $\pm$ 12,6	63,4 $\pm$ 12,2	64,5 $\pm$ 11,4	0,449
BMI vor Schwangerschaft (kg/m <sup>2</sup> )	22,9 $\pm$ 4,1	22,6 $\pm$ 3,9	22,5 $\pm$ 3,7	0,344
Einlingsschwangerschaften (%)	94,2	93,8	97,1	0,938
Zwillingsschwangerschaften (%)	5,7	6,0	2,9	
Drillingsschwangerschaften (%)	0,1	0,2	0,0	
Primigravida (%)	43,5	47,0	32,1	0,482
Primipara (%)	54,8	60,8	50,0	0,167
Hypertonie in Schwangerschaft (%)	6,4	4,7	9,1	0,665
Hypertonie in FA* (%)	37,7	34,3	40,0	0,415
Diabetes mellitus vor Schwangerschaft (%)	1,7	2,9	0,0	0,219
Diabetes mellitus während Schwangerschaft (%)	4,0	4,7	0,0	0,468
Diabetes mellitus in FA* (%)	34,9	32,9	32,0	0,717
Rauchen vor Schwangerschaft (%)	39,6	42,6	36,0	0,487
Rauchen vor und während der Schwangerschaft (%)	17,6	17,3	16,0	0,936

Tabelle 12: deskriptive Daten der Kinder in Abhängigkeit vom kindlichen Genotyp;  
Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

	<b>Genotyp des Kindes</b>	<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>p</b>
<b>gesamt</b>	Geburtsgewicht (g)	3323,2 $\pm$ 640,8	3315,8 $\pm$ 653,9	3517,8 $\pm$ 759,1	0,198
	Körperlänge bei Geburt (cm)	50,6 $\pm$ 3,2	50,7 $\pm$ 3,1	51,4 $\pm$ 3,5	0,307
	Kopfumfang bei Geburt (cm)	34,6 $\pm$ 2,3	34,5 $\pm$ 2,2	35,1 $\pm$ 2,3	0,348
	Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	25,5 $\pm$ 3,3	25,3 $\pm$ 2,9	25,5 $\pm$ 2,4	0,337
	APGAR-Wert 5 min	9,3 $\pm$ 0,9	9,4 $\pm$ 1,0	9,4 $\pm$ 0,8	0,622
	APGAR-Wert 10 min	9,7 $\pm$ 0,6	9,7 $\pm$ 0,6	9,7 $\pm$ 0,4	0,224
<b>männlich</b>	Geburtsgewicht (g)	3396,6 $\pm$ 628,1	3362,4 $\pm$ 677,0	3578,7 $\pm$ 785,8	0,325
	Körperlänge bei Geburt (cm)	51,0 $\pm$ 3,1	51,1 $\pm$ 3,1	51,6 $\pm$ 3,2	0,755
	Kopfumfang bei Geburt (cm)	34,8 $\pm$ 2,3	34,8 $\pm$ 2,6	35,7 $\pm$ 2,5	0,292
	Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	25,4 $\pm$ 3,8	25,1 $\pm$ 2,6	25,7 $\pm$ 2,2	0,325
	APGAR-Wert 5 min	9,3 $\pm$ 1,0	9,3 $\pm$ 1,1	9,4 $\pm$ 0,8	0,739
	APGAR-Wert 10 min	9,6 $\pm$ 0,7	9,7 $\pm$ 0,7	9,7 $\pm$ 0,5	0,378
<b>weiblich</b>	Geburtsgewicht (g)	3239,4 $\pm$ 647,2	3268,2 $\pm$ 622,8	3445,5 $\pm$ 744,8	0,385
	Körperlänge bei Geburt (cm)	50,2 $\pm$ 3,2	50,3 $\pm$ 3,0	51,3 $\pm$ 3,8	0,305
	Kopfumfang bei Geburt (cm)	34,3 $\pm$ 2,2	34,2 $\pm$ 1,7	34,4 $\pm$ 1,9	0,869
	Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	25,6 $\pm$ 2,6	25,5 $\pm$ 3,2	25,3 $\pm$ 2,6	0,844
	APGAR-Wert 5 min	9,4 $\pm$ 0,9	9,4 $\pm$ 0,9	9,4 $\pm$ 0,7	0,778
	APGAR-Wert 10 min	9,7 $\pm$ 0,6	9,7 $\pm$ 0,6	9,8 $\pm$ 0,4	0,520

Tabelle 13: deskriptive Daten zur Entbindung der Kinder in Abhängigkeit vom kindlichen Genotyp; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

	<b>Genotyp des Kindes</b>	<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>p</b>
<b>gesamt</b>	Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,7 $\pm$ 2,3	38,6 $\pm$ 2,3	39,4 $\pm$ 2,5	0,127
	<u>Geburtsmodus</u> (%)				
	spontan	65,8	61,1	54,3	0,053
	vaginal-operativ	6,3	8,5	2,9	
abdominal-operativ	27,9	30,4	42,9		
<b>männlich</b>	Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,8 $\pm$ 2,2	38,7 $\pm$ 2,6	39,7 $\pm$ 3,1	0,155
	<u>Geburtsmodus</u> (%)				
	spontan	65,3	55,7	57,9	0,054
	vaginal-operativ	7,2	9,9	5,3	
abdominal-operativ	27,5	34,4	36,8		
<b>weiblich</b>	Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,7 $\pm$ 2,3	38,7 $\pm$ 2,0	39,1 $\pm$ 1,5	0,746
	<u>Geburtsmodus</u> (%)				
	spontan	66,2	67,3	50,0	0,175
	vaginal-operativ	5,2	7,1	0,0	
abdominal-operativ	28,6	25,6	50,0		

### 3.5. respiratorische Erkrankungen des Neugeborenen

209 der 2352 an der Studie teilnehmenden Neugeborenen (8,9 %) wurden im Neolink-Programm erfasst, da sie aufgrund von respiratorischen Störungen auf die neonatologische Station der Charité aufgenommen oder über die Zeit im Kreißsaal hinaus auf der Wöchnerinnenstation von Neonatologen mitbetreut werden mussten.

Tabelle 14: deskriptive Daten der an Atemstörungen leidenden Kinder und ihrer Mütter; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

<b>deskriptive Angaben</b>	<b>respiratorisch erkrankte Kinder</b>	<b>restliche Kinder</b>	<b>p</b>
Alter der Mutter (Jahre)	29,5 $\pm$ 5,4	30,1 $\pm$ 5,6	0,145
Größe der Mutter (cm)	166,9 $\pm$ 6,5	167,3 $\pm$ 6,5	0,415
Gewicht der Mutter vor der Schwangerschaft (kg)	66,7 $\pm$ 15,5	63,8 $\pm$ 12,1	0,005
BMI vor der Schwangerschaft (kg/m <sup>2</sup> )	23,7 $\pm$ 4,6	22,8 $\pm$ 4,0	0,008
Einlingsschwangerschaften (%)	88,5	94,7	0,0001
Zwillingsschwangerschaften (%)	10,0	5,3	
Drillingsschwangerschaften (%)	1,4	0,0	
Primigravida (%)	44,8	44,1	0,617
Primipara (%)	53,7	56,4	0,24
Hypertonie in der Schwangerschaft (%)	5,4	6,1	0,177
Hypertonie in der Familienanamnese (%)	32,0	37,4	0,189
Diabetes mellitus vor der Schwangerschaft (%)	5,2	1,7	0,03
Diabetes mellitus während der Schwangerschaft (%)	6,5	3,9	0,127
Diabetes mellitus in der Familienanamnese (%)	36,2	34,2	0,622
Rauchen vor der Schwangerschaft (%)	44,5	39,9	0,263
Rauchen vor und während der Schwangerschaft (%)	18,7	17,4	0,686
Geburtsgewicht (g)	2817,8 $\pm$ 921,3	3374,8 $\pm$ 589,0	0,0001
Körperlänge bei Geburt (cm)	48,3 $\pm$ 4,9	50,9 $\pm$ 2,8	0,0001
Kopfumfang bei Geburt (cm)	33,5 $\pm$ 2,8	34,7 $\pm$ 2,2	0,0001
Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	24,6 $\pm$ 3,1	25,5 $\pm$ 3,2	0,0001
APGAR-Wert nach 5 min	8,2 $\pm$ 1,3	9,4 $\pm$ 0,8	0,0001
APGAR-Wert nach 10 min	8,9 $\pm$ 0,9	9,7 $\pm$ 0,6	0,0001
Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	36,4 $\pm$ 3,7	39,0 $\pm$ 1,9	0,0001
<u>Geburtsmodus</u> (%)			
spontan	46,6	66,3	0,0001
vaginal-operativ	5,3	6,9	
abdominal-operativ	48,1	26,8	



Das Kollektiv der Neugeborenen mit respiratorischen Problemen unterschied sich bezüglich mütterlicher, kindlicher und die Geburt betreffender Eigenschaften in folgenden Parametern signifikant von den übrigen an der Studie teilnehmenden Mutter-Kind-Paaren (siehe Tabelle 14): Kinder mit respiratorischen Störungen entstammen mit höherer Wahrscheinlichkeit Mehrlingsgraviditäten; sie werden häufiger mit einem geringeren Gestationsalter mittels Sectio caesarea geboren und haben ein schlechteres unmittelbar postnatales Outcome (APGAR-Werte). Die betroffenen Kinder sind im Durchschnitt leichter und kleiner. Ihre Mütter weisen ein höheres Gewicht vor der Schwangerschaft auf und leiden häufiger an einem präexistenten Diabetes mellitus.

Stellt man die Kinder mit einer respiratorischen Anpassungsstörung allen anderen Kindern (Kinder ohne respiratorische Auffälligkeiten und Kinder mit Erkrankungen der Kategorien I-III) gegenüber, so finden sich folgende signifikante Unterschiede (siehe Tabelle 15): Körpergewicht und BMI der Mütter sind vor der Schwangerschaft höher. Sie haben häufiger einen vorbestehenden Diabetes mellitus und bekommen häufiger Mehrlinge bzw. entbinden sie eher mittels Sectio caesarea. Die Kinder weisen mit höherer Wahrscheinlichkeit niedrigere APGAR-Werte und ein geringeres Geburtsgewicht auf bzw. sind im Vergleich kleiner. Das Gestationsalter zum Zeitpunkt der Geburt ist signifikant geringer.

Tabelle 15: deskriptive Daten der an einer TTN leidenden Kinder und ihrer Mütter im Vergleich zu allen anderen Kindern (ohne respiratorische Erkrankung + Kategorie I-III); Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

<b>deskriptive Angaben</b>	<b>Kinder Kategorie IV</b>	<b>restliche Kinder</b>	<b>p</b>
Alter der Mutter (Jahre)	29,1 $\pm$ 5,3	30,1 $\pm$ 5,6	0,059
Größe der Mutter (cm)	166,9 $\pm$ 6,8	167,3 $\pm$ 6,5	0,527
Gewicht der Mutter vor der Schwangerschaft (kg)	69,1 $\pm$ 16,7	63,8 $\pm$ 12,1	0,0001
BMI vor der Schwangerschaft (kg/m <sup>2</sup> )	24,5 $\pm$ 5,0	22,7 $\pm$ 4,0	0,0001
Einlingsschwangerschaften (%)	85,2	94,7	0,0001
Zwillingschwangerschaften (%)	13,3	5,2	
Drillingsschwangerschaften (%)	1,5	0,05	
Primigravida (%)	42,4	44,2	0,316
Primipara (%)	52,1	56,4	0,601
Hypertonie in der Schwangerschaft (%)	6,7	6,0	0,425
Hypertonie in der Familienanamnese (%)	37,1	36,9	0,969
Diabetes mellitus vor der Schwangerschaft (%)	5,2	1,8	0,022
Diabetes mellitus während der Schwangerschaft (%)	6,1	4,0	0,314
Diabetes mellitus in der Familienanamnese (%)	38,5	34,1	0,376
Rauchen vor der Schwangerschaft (%)	41,8	40,2	0,749
Rauchen vor und während der Schwangerschaft (%)	17,3	17,5	0,961
Geburtsgewicht (g)	2919,5 $\pm$ 839,9	3349 $\pm$ 623,7	0,0001
Körperlänge bei Geburt (cm)	49,0 $\pm$ 4,3	50,8 $\pm$ 3,0	0,0001
Kopfumfang bei Geburt (cm)	33,8 $\pm$ 2,5	34,6 $\pm$ 2,2	0,0001
Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	24,6 $\pm$ 3,1	25,5 $\pm$ 3,2	0,003
APGAR-Wert nach 5 min	8,3 $\pm$ 1,3	9,4 $\pm$ 0,9	0,0001
APGAR-Wert nach 10 min	9,0 $\pm$ 0,8	9,7 $\pm$ 0,6	0,0001
Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	37,0 $\pm$ 3,0	38,8 $\pm$ 2,2	0,001
<u>Geburtsmodus</u> (%)			0,0001
spontan	47,0	65,6	
vaginal-operativ	3,7	6,9	
abdominal-operativ	49,3	27,5	

Tabelle 16: absolute Häufigkeiten der einzelnen respiratorischen Störungen und deren Einteilung in Kategorien (siehe oben); mehrere Diagnosen pro Kind sind möglich

Kategorie	respiratorische Störung	Anzahl
I	Atemnotsyndrom (P22.0)	14
	Atemantriebsstörungen/Apnoe (P28.4)/Apnoe-Bradykardie-Syndrom	24
	respiratorische Insuffizienz (P28.5)	9
	bronchopulmonale Dysplasie (P27.1)	6
II	Mekoniumaspirationssyndrom (P24.0)	12
	perinatale Asphyxie und Azidose (P20/P21)	35
III	Pneumonie (P23)	16
	Pneumothorax (P25.1)	15
IV	transiente Tachypnoe (P22.1)/ sonstige respiratorische Anpassungsstörung (P22.8)	135

Die Darstellung der absoluten Häufigkeiten der einzelnen Diagnosen belegt, dass die respiratorische Anpassungsstörung, im Besonderen die TTN, die größte Entität bildet (Tabelle 16).

Als nächstes wurde analysiert, ob es Unterschiede zwischen den in die genannten vier Kategorien respiratorischer Erkrankungen eingeteilten Kindern gab (Tabelle 17).

Auf eine Berechnung von signifikanten Unterschieden wurde verzichtet, da es zwischen den Gruppen zu mehreren Überschneidungen kommt, das heißt, vielen Kindern wurde mehr als eine Diagnose von den Neonatologen zugeordnet.

Tabelle 17: deskriptive Daten der respiratorisch erkrankten Kinder, unterteilt in die oben erläuterten (S. 33), an der Ätiologie orientierte Kategorien  
Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung bzw. Prozentangaben

<b>deskriptive Angaben</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
Alter der Mutter (Jahre)	30,3 $\pm$ 6,0	29,0 $\pm$ 5,3	30,4 $\pm$ 4,9	29,1 $\pm$ 5,3
Größe der Mutter (cm)	166,2 $\pm$ 5,5	167,4 $\pm$ 6,4	167,0 $\pm$ 5,2	166,9 $\pm$ 6,8
Gewicht der Mutter vor Schwangerschaft (kg)	64,6 $\pm$ 13,4	62,7 $\pm$ 12,8	62,2 $\pm$ 12,5	69,1 $\pm$ 16,7
BMI vor der Schwangerschaft (kg/m <sup>2</sup> )	23,1 $\pm$ 4,3	22,3 $\pm$ 4,2	22,0 $\pm$ 3,8	24,5 $\pm$ 5,0
Einlingsschwangerschaften (%)	92,5	95,7	93,5	85,2
Zwillingsschwangerschaften (%)	5,7	4,3	3,2	13,3
Drillingsschwangerschaften (%)	1,9	0,0	3,2	1,5
Primigravida (%)	41,7	46,8	36,4	42,4
Primipara (%)	47,2	48,9	42,9	52,1
Hypertonie in der Schwangerschaft (%)	5,3	4,3	0,0	6,7
Hypertonie in der Familienanamnese (%)	27,8	28,9	15,0	37,1
Diabetes mellitus vor/während Schwangerschaft (%)	8,6/5,7	0,0/5,3	0,0/0,0	5,2/6,1
Diabetes mellitus in der Familienanamnese (%)	44,4	21,6	35,0	38,5
Rauchen vor Schwangerschaft (%)	50,0	36,8	47,6	41,8
Rauchen während Schwangerschaft (%)	33,3	10,5	14,3	17,3
Geburtsgewicht (g)	2209,6 $\pm$ 868,0	3143,1 $\pm$ 874,2	2574,1 $\pm$ 1012,3	2919,5 $\pm$ 839,9
Körperlänge bei Geburt (cm)	45,1 $\pm$ 5,4	50,1 $\pm$ 3,8	47,4 $\pm$ 5,5	49,0 $\pm$ 4,3
Kopfumfang bei Geburt (cm)	31,6 $\pm$ 3,1	34,5 $\pm$ 2,6	33,3 $\pm$ 3,0	33,8 $\pm$ 2,5
Ponderalindex (kg/m <sup>3</sup> )	23,8 $\pm$ 2,7	25,1 $\pm$ 3,6	24,8 $\pm$ 2,9	24,6 $\pm$ 3,1
APGAR-Wert nach 5 min	7,9 $\pm$ 1,4	7,7 $\pm$ 1,6	8,4 $\pm$ 0,9	8,3 $\pm$ 1,3
APGAR-Wert nach 10 min	8,6 $\pm$ 1,1	8,6 $\pm$ 1,2	8,8 $\pm$ 0,6	9,0 $\pm$ 0,8
Nabelschnur-pH-Wert arteriell	7,28 $\pm$ 0,1	7,15 $\pm$ 0,1	7,27 $\pm$ 0,1	7,27 $\pm$ 0,1
Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	33,5 $\pm$ 4,0	38,1 $\pm$ 3,1	35,3 $\pm$ 3,9	37,0 $\pm$ 3,0

Diese Arbeit konzentriert sich auf Säuglinge mit Erkrankungen der Kategorie IV. Da die Differenzialdiagnose TTN/sonstige respiratorische Anpassungsstörung schwierig ist, ihre Pathogenese aber auf sehr ähnlichen Vorgängen beruht, wurden sie in der statistischen Auswertung zusammen betrachtet.

135 Neugeborene (52 Mädchen und 83 Jungen) litten an einer respiratorischen Anpassungsstörung. 63 (46,7 %) von diesen Kindern kamen spontan zur Welt, 66 (48,9 %) wurden per Kaiserschnitt entbunden (primäre Sectiones: 33, sekundäre Sectiones: 33, davon Cito-Sectiones: 7), 5 (3,7 %) Entbindungen wurden mittels Vakuumextraktion durchgeführt, 1 (0,7 %) per Forzeps. 48 (35,6 %) Kinder waren Frühgeborene, 87 Kinder kamen am Termin zur Welt (31+2 bis 41+5 SSW). Das Geburtsgewicht lag in einem Bereich von 655 g bis 5160 g. Unter den Kindern befanden sich 18 als Zwillinge und 2 als Drillinge geborene Kinder. 115 Kinder mussten in ihrer Atmung unterstützt werden. Der Beatmungszeitraum bzw. die Sauerstoffbedürftigkeit variierte von wenigen Minuten bis zu acht Tagen. Die Auswertung ergab, dass bei 5,9 % der untersuchten Kinder eine Lungenreifeinduktion erfolgte. Ein Kind erhielt postnatal Surfactant; bei 34,1 % wurde eine antibiotische Therapie durchgeführt. Bei acht Kindern komplizierte ein Pneumothorax den klinischen Verlauf.

Die Inzidenz der TTN bzw. einer respiratorischen Anpassungsstörung liegt in unserem Studienkollektiv bei 5,7 %. Sie ist unter männlichen Neugeborenen signifikant größer als unter weiblichen (7,0 % vs. 4,8 %,  $p = 0,03$ ). Frühgeborene Kinder erkranken häufiger als Reifgeborene (18,6 % versus 4,4 %). 14,6 % der Mehrlinge wiesen eine TTN auf.

Nun folgt die Analyse des möglichen Zusammenhanges zwischen der respiratorischen Anpassungsstörung des Neugeborenen und dem PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens. Dazu sind in den Tabellen 18 und 19 zunächst die absoluten Häufigkeiten der TTN in Abhängigkeit vom mütterlichen und kindlichen Genotyp dargestellt.

Tab. 18: absolute Häufigkeit der TTN (Kategorie IV) in Abhängigkeit vom mütterlichen Genotyp

		<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>gesamt</b>
<b>IV</b>	<b>nein</b>	1605	566	46	2217
<b>IV</b>	<b>ja</b>	110	24	1	135
<b>gesamt</b>		1715	590	47	2352

Tab. 19: absolute Häufigkeit der TTN (Kategorie IV) in Abhängigkeit vom kindlichen Genotyp

		<b>T1/T1</b>	<b>T1/T2</b>	<b>T2/T2</b>	<b>gesamt</b>
<b>IV</b>	<b>nein</b>	1640	542	35	2217
<b>IV</b>	<b>ja</b>	110	25	0	135
<b>gesamt</b>		1750	567	35	2352

Tabelle 20: Inzidenz der TTN in Abhängigkeit vom mütterlichen PR-Genotyp; inkl.

Subgruppenanalyse: Früh-, Reifgeborene, Mehrlingsgraviditäten

T1 dom T1-dominantes Model (T1/T1+T1/T2 versus T2/T2)

T2 dom T2-dominantes Model (T1/T1 versus T1/T2+T2/T2)

Geschlecht	T1/T1	T1/T2	T2/T2	p	T1 dom p	T2 dom p
<b>Häufigkeit der TTN bei allen Neugeborenen (%)</b>						
<b>insgesamt</b>	6,6	4,3	2,3	0,03	0,24	<0,01
<b>männlich</b>	7,8	5,0	5,3	0,16	0,66	0,05
<b>weiblich</b>	5,3	3,5	0,0	0,14	0,22	0,07
<b>Häufigkeit der TTN bei reif geborenen Kindern (%)</b>						
<b>insgesamt</b>	5,0	2,5	2,5	0,03	0,52	<0,01
<b>männlich</b>	6,3	2,6	5,9	0,04	0,96	0,02
<b>weiblich</b>	3,6	2,3	0,0	0,41	0,38	0,23
<b>Häufigkeit der TTN bei früh geborenen Kindern (%)</b>						
<b>insgesamt</b>	19,8	16,7	0,0	0,42	0,30	0,31
<b>männlich</b>	20,4	22,2	0,0	0,78	0,50	0,94
<b>weiblich</b>	19,0	11,1	0,0	0,25	0,42	0,11
<b>Häufigkeit der TTN bei Neugeborenen aus Mehrlingsschwangerschaften (%)</b>						
<b>insgesamt</b>	14,1	16,2	0,0	0,89	0,69	0,84

Das Auftreten der TTN ist mit dem maternalen T2-Allel assoziiert (Tabelle 20). Die Inzidenz für diese Erkrankung ist mit 2,3 % im Vergleich zu den anderen möglichen maternalen Genotypen signifikant geringer, wenn die Mutter des Patienten homozygote Trägerin des T2-Allels ist. Betrachtet man ausschließlich die Kinder mit einem Gestationsalter bei Geburt  $\geq 37$  SSW, so findet sich dieser signifikante Zusammenhang zusätzlich in der Subgruppe der männlichen Neugeborenen. Ein noch stärkerer Zusammenhang wird deutlich, verwendet man ein T2-dominantes Model (T1/T1 versus T1/T2 + T2/T2). Es wurde kein Zusammenhang zwischen dem PROGINS-Polymorphismus und der TTN in der Untergruppe der Frühgeborenen und der Kinder aus Mehrlingsschwangerschaften gefunden.

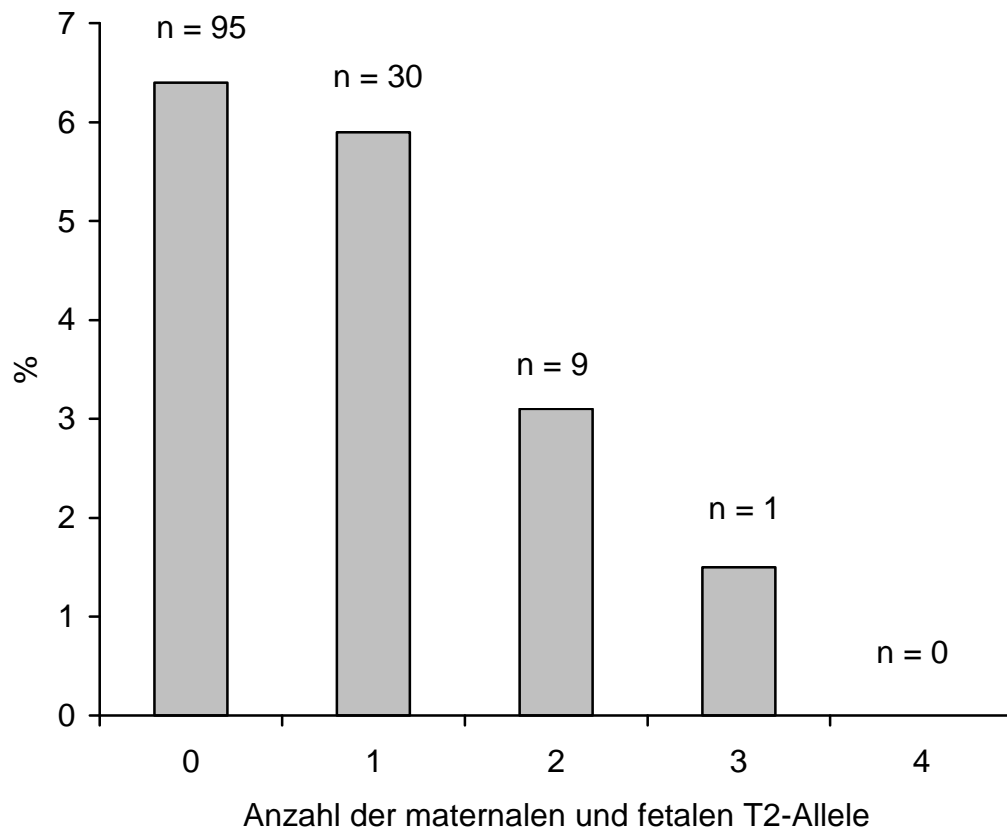
Tabelle 21: Inzidenz der TTN in Abhängigkeit vom kindlichen PR-Genotyp; inkl. Subgruppenanalyse: Früh-, Reifgeborene, Mehrlingsgraviditäten  
T1 dom T1-dominantes Model (T1/T1+T1/T2 versus T2/T2)  
T2 dom T2-dominantes Model (T1/T1 versus T1/T2+T2/T2)

Geschlecht	T1/T1	T1/T2	T2/T2	p	T1 dom p	T2 dom p
<b>Häufigkeit der TTN bei allen Neugeborenen (%)</b>						
insgesamt	6,5	4,7	0,0	0,05	0,13	0,03
männlich	7,6	5,8	0,0	0,25	0,23	0,17
weiblich	5,3	3,5	0,0	0,22	0,33	0,11
<b>Häufigkeit der TTN bei reif geborenen Kindern (%)</b>						
insgesamt	5,1	2,4	0,0	0,01	0,20	<0,01
männlich	6,2	2,9	0,0	0,07	0,30	0,02
weiblich	3,8	1,8	0,0	0,21	0,45	0,09
<b>Häufigkeit der TTN bei früh geborenen Kindern (%)</b>						
insgesamt	17,8	21,2	0,0	0,77	0,52	0,82
männlich	18,9	25,7	0,0	0,70	0,63	0,54
weiblich	16,7	16,1	0,0	0,90	0,67	0,81
<b>Häufigkeit der TTN bei Neugeborenen aus Mehrlingsschwangerschaften (%)</b>						
insgesamt	14,9	14,3	0,0	0,91	0,69	0,93

Das Auftreten der TTN ist ebenfalls mit dem kindlichen T2-Allel assoziiert (Tabelle 21). In unserem Kollektiv gab es keinen Fall einer TTN bei einem Kind, das homozygot für den polymorphen Typ des Progesteronrezeptorgens ist. Die Inzidenz der Erkrankung ist am höchsten, wenn das Kind homozygoter Träger des Wildtyp-Allels ist. Betrachtet man ausschließlich die reif geborenen Kinder, so findet sich bei Anwendung des T2-dominantes Modells dieser signifikante Zusammenhang zusätzlich in der Subgruppe der männlichen Neugeborenen. Für die gemeinsame Betrachtung aller Neugeborenen ergibt sich lediglich ein Trend ( $p = 0,05$ ). Es wurde kein Zusammenhang zwischen dem kindlichen PROGINS-Polymorphismus und der TTN in der Untergruppe der Frühgeborenen und der Kinder aus Mehrlingsschwangerschaften gefunden.



Abb. 6: Häufigkeit der TTN in Abhängigkeit von der Gesamtanzahl maternalen und fetaler PROGINS-T2-Allele pro Mutter-Kind-Paar  
absolute Zahlen über den Balken



Es scheint einen Gendosis-abhängigen protektiven Effekt des polymorphen PR-Allels zu geben, unabhängig von dessen Lokalisation im mütterlichen oder kindlichen Genom. Die Auswertung nach der Anzahl der T2-Allele pro Mutter-Kind-Paar (0-4) wird in Abb. 6 dargestellt. Sind Mutter und Kind homozygot für das Wildtyp-Allel, so ist die Inzidenz für eine respiratorische Anpassungsstörung mit 6,4 % am höchsten. Die Inzidenz sinkt mit zunehmender Anzahl an T2-Allelen pro Mutter-Kind-Paar. Wir fanden keinen Fall einer TTN, bei dem Mutter und Kind homozygot für das T2-Allel sind. Die multivariate Regressionsanalyse bestätigt dieses Ergebnis (Tab. 22, 23;  $p < 0,01$ ).

### 3.6. Regressionsanalyse

Die multivariate Regressionsanalyse wurde genutzt, um relevante Confounder, die das Auftreten der TTN beeinflussen, zu betrachten: Gestationsalter, Geburtsmodus, Mehrlingsgravidität, fetales Geschlecht (siehe Tabelle 22). Das Geburtsgewicht wurde nicht separat betrachtet, da es stark mit dem Gestationsalter korreliert (Korrelationskoeffizient  $r = 0,69$ ,  $p < 0,0001$ ). Die Regressionsanalyse bestätigte die Assoziation zwischen dem maternalen bzw. fetalen PROGINS-Genotyp und der TTN (Tabellen 22 und 23). Die Subgruppenanalyse der reif geborenen Kinder erbrachte ebenfalls dieses Ergebnis, während die separate Auswertung für die Frühgeborenen kein signifikantes Ergebnis ergab (Daten werden nicht gezeigt).

Das Gestationsalter bei Geburt, der Entbindungsmodus Sectio caesarea sowie das männliche Geschlecht bei der ausschließlichen Betrachtung der reif Geborenen bestätigen sich als Risikofaktoren für das Auftreten einer respiratorischen Anpassungsstörung (Modell A). Mütterlicher und kindlicher Genotyp des Progesteronrezeptorgens können ebenso wie die Anzahl der T2-Allele pro Mutter-Kind-Paar als unabhängige Risikofaktoren für eine respiratorischen Anpassungsstörung sowohl bei der Berücksichtigung aller Neugeborenen als auch im Kollektiv der Neugeborenen  $\geq 37$  SSW festgehalten werden (Modell B-D,  $p < 0,05$  und  $t > 2$ ).

Tabelle 22: multivariate Regressionsanalyse für alle Neugeborenen: Assoziation zwischen dem maternalen und fetalen Genotyp und der respiratorischen Anpassungsstörung als abhängige Variable. Bekannte Confounder, die das Risiko für eine TTN unabhängig voneinander beeinflussen, werden separat betrachtet (A), unter Berücksichtigung des mütterlichen (B), des kindlichen Genotyps (C) und der Gesamtanzahl aller T2-Allele pro Mutter-Kind-Paar (D).  $R^2$  = Bestimmtheitsmaß

Modell ( $R^2$ )	unabhängige Variablen	Regressionskoeffizient	Konfidenzintervall (95%)	Standardfehler	t-Wert	p
<b>A</b> (0,037)	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,06	-0,07 - -0,04	0,01	-7,30	<0,0001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,12	0,04 – 0,19	0,04	3,05	<0,01
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,15	0,001 – 0,29	0,07	1,95	0,05
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,07	-0,002 – 0,13	0,03	1,89	0,06
<b>B</b> (0,046)	maternaler Genotyp (T1/T1, T1/T2, T2/T2)	-0,10	-0,017 - -0,02	0,04	-2,60	<0,01
	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,06	-0,08 - -0,05	0,01	-7,30	<0,0001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,14	0,06 – 0,22	0,04	3,32	<0,001
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,18	0,02 – 0,34	0,08	2,21	0,03
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,08	0,01 – 0,15	0,04	2,10	0,04
<b>C</b> (0,044)	fetaler Genotyp (T1/T1, T1/T2, T2/T2)	-0,09	-0,17 - -0,02	0,04	-2,37	0,02
	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,07	-0,08 - -0,05	0,01	-7,42	<0,0001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,12	0,04 – 0,20	0,04	2,79	<0,01
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,17	0,01 – 0,33	0,08	2,03	0,04
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,08	0,01 – 0,16	0,04	2,18	0,03
<b>D</b> (0,051)	Gesamtanzahl der T2-Allele (0-4)	-0,06	-0,11 - -0,01	0,02	-2,58	<0,01
	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,07	-0,09 - -0,05	0,01	-7,58	<0,0001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,14	0,05 – 0,23	0,04	3,11	<0,01
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,20	0,03 – 0,37	0,09	2,33	0,02
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,09	0,02 – 0,17	0,04	2,38	0,02

Tabelle 23: multivariate Regressionsanalyse für alle reif Geborenen: Assoziation zwischen dem maternalen and fetalen PROGINS-Polymorphismus und der TTN als abhängige Variable. Bekannte Confounder, die das Risiko für eine TTN unabhängig voneinander beeinflussen, werden separat betrachtet (A), unter Berücksichtigung des mütterlichen (B), des kindlichen Genotyps (C) und der Gesamtanzahl aller T2-Allele pro Mutter-Kind-Paar (D).  $R^2$  = Bestimmtheitsmaß

Modell (R <sup>2</sup> )	unabhängige Variablen	Regressionskoeffizient	Konfidenzintervall (95%)	Standardfehler	t-Wert	p
<b>A</b> (0,011)	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,04	-0,06 - -0,02	0,01	-3,30	<0,001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,08	0,01 – 0,15	0,04	2,21	0,03
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,04	-0,14 – 0,22	0,09	0,42	0,67
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,08	0,02 – 0,14	0,03	2,43	0,02
<b>B</b> (0,016)	maternaler Genotyp (T1/T1, T1/T2, T2/T2)	-0,09	-0,16 - -0,02	0,04	-2,56	0,01
	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,04	-0,07 - -0,02	0,01	-3,38	<0,001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,09	0,01 – 0,17	0,04	2,33	0,02
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,04	-0,15 – 0,24	0,10	0,44	0,66
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,09	0,02 – 0,16	0,03	2,57	0,01
<b>C</b> (0,017)	fetaler Genotyp (T1/T1, T1/T2, T2/T2)	-0,11	-0,18 - -0,04	0,04	-2,95	<0,01
	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,05	-0,07 - -0,02	0,01	-3,37	<0,001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,09	0,01 – 0,17	0,04	2,27	0,02
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,06	-0,14 – 0,25	0,10	0,56	0,58
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,08	0,01 – 0,15	0,04	2,14	0,03
<b>D</b> (0,018)	Gesamtanzahl der T2-Allele (0-4)	-0,07	-0,11 - -0,02	0,02	-2,99	<0,01
	Gestationsalter bei Geburt (SSW)	-0,05	-0,08 - -0,02	0,01	-3,46	<0,001
	Sectio caesarea (ja/nein)	0,10	0,02 – 0,18	0,04	2,36	0,02
	Anzahl der Neugeborenen (1/2/3)	0,06	-0,15 – 0,26	0,10	0,56	0,57
	fetales Geschlecht (männlich/weiblich)	0,08	0,01 – 0,16	0,04	2,29	0,02

## 4 DISKUSSION

### 4.1. Interpretation der Ergebnisse

Morbidität und Mortalität in der Neonatalperiode sind bei Reifgeborenen und besonders bei Frühgeborenen häufig zurück zu führen auf respiratorische Störungen. Die TTN ist die häufigste Form der postnatalen Atemstörungen. Sie ist für etwa die Hälfte der neonatalen respiratorischen Störungen verantwortlich und stellt bei reifen Neugeborenen mit einer Atemstörung die häufigste Diagnose dar [41, 84]. 1 bis 3 % aller Neugeborenen sind betroffen [9, 35, 41, 54, 55, 76, 84]. Der klinische Verlauf einer TTN ist in den meisten Fällen selbst limitierend und nicht schwerwiegend, dennoch bedeutet diese Diagnose häufig eine längere Hospitalisation der betroffenen Kinder, auch verbunden mit zusätzlichen Kosten. Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass auch Spätfolgen möglich sind. Kinder, die eine TTN durchgemacht haben, zeigen eine gesteigerte Anfälligkeit für ein Asthma bronchiale im späteren Leben [67, 71].

Im Rahmen der hier erläuterten klinisch-experimentellen Studie wurde für eine Kohorte von 2352 Kindern kaukasischer Mütter erstmals gezeigt, dass der PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens das Risiko für das Auftreten einer TTN reduziert. Die protektive Wirkung der polymorphen Variante des Progesteronrezeptorgens ist unabhängig davon, ob das Allel im mütterlichen oder kindlichen Genom lokalisiert ist und wird zudem von bekannten Confoundern nicht beeinflusst. Darüber hinaus scheint es sich um einen von der Gendosis abhängigen Effekt zu handeln. Je mehr PROGINS-Allele in einem Mutter-Kind-Paar gefunden wurden, desto geringer war die Inzidenz einer respiratorischen Anpassungsstörung. Die Inzidenz war am höchsten beim vollständigen Fehlen der polymorphen Variante.

Die deskriptiven Charakteristika der Studienpopulation entsprechen weitgehend denen anderer europäischer Studien [14, 29, 63, 92]. Daher ist davon auszugehen, dass es sich bei der untersuchten Kohorte um eine repräsentative Stichprobe handelt.

Weder der maternale noch der kindliche Genotyp des PR-Gens hatten in unserer Studie einen Einfluss auf die folgenden Parameter der erfassten deskriptiven Daten: Alter, Größe, Gewicht und BMI der Mutter, Anzahl der vorausgegangenen

Schwangerschaften und Geburten, Hypertonie/Diabetes mellitus in der Schwangerschaft, Rauchgewohnheiten, Einlings- oder Mehrlingsgravidität, Geburtsgewicht, Körperlänge, Kopfumfang und Ponderalindex des Kindes, Gestationsalter bei Geburt, Nabelschnur-pH-Wert und Geburtsmodus. Es fand sich lediglich ein Unterschied im APGAR-Wert nach 10 Minuten bei der Betrachtung des mütterlichen Genpolymorphismus. Dieser Zusammenhang fiel bei der Unterteilung nach dem kindlichen Geschlecht nicht mehr auf und auch der APGAR-Wert nach 5 Minuten sowie der Nabelschnur-pH-Wert zeigten keinen entsprechenden Zusammenhang. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um sagen zu können, ob es sich um mehr als ein zufälliges Ergebnis handelt.

8,9 % der erfassten Kinder entwickelten respiratorische Symptome, die eine Mitbetreuung durch Neonatologen erforderlich machten. In vergleichbaren Studien lag die Inzidenz zwischen 2,8 % und 5,0 % [29, 65, 85]. Somit traten Atemprobleme in unserer Stichprobe häufiger auf. Die Inzidenz der TTN liegt in unserer Studie – berücksichtigt man alle Neugeborenen - bei 5,7 %. Sie ist bei reif geborenen Kindern niedriger als bei Frühgeborenen (4,4 % versus 18,6 %). Der Hauptgrund für das gehäufte Auftreten respiratorischer Probleme dürfte sein, dass die Untersuchung in einer Universitätsklinik mit einem Perinatalzentrum Level 1 vorgenommen wurde und dementsprechend mehr Risikoschwangerschaften einbezogen wurden.

Die Mortalität respiratorischer Erkrankungen beläuft sich in ähnlichen Untersuchungen auf ca. 4 % [29]. Keines der von uns betrachteten Kinder verstarb perinatal aufgrund von Atemproblemen.

Es sind einige Risikofaktoren für die respiratorische Anpassungsstörung bekannt, die in der vorliegenden Studie Bestätigung fanden. Das Kollektiv aller respiratorisch erkrankten Kinder und ihre Mütter bzw. der an einer respiratorischen Anpassungsstörung leidenden Neugeborenen und ihren Müttern weisen zum Teil deutliche Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe auf.

Das Risiko für postnatale respiratorische Probleme war signifikant größer, wenn die Mutter einen höheren BMI bzw. ein höheres Gewicht vor der Schwangerschaft aufwies. Bekannt ist, dass übergewichtige Frauen häufiger von Komplikationen in der Schwangerschaft betroffen sind als normalgewichtige Frauen. Dazu zählen:

Frühgeburtlichkeit, intrauteriner Fruchttod, Präeklampsie, Diabetes mellitus, Amnioninfektionssyndrom, Entbindung per Kaiserschnitt [14, 61, 63]. Ihre Kinder werden im Durchschnitt mit einem niedrigeren APGAR-Score bewertet, haben ein höheres Risiko, auf eine neonatologische Station verlegt zu werden, und weisen eine höhere perinatale Mortalität auf [61]. Diese geschilderten Komplikationen, die bei Müttern mit einem höheren Gewicht auftreten, sind auch mit einem höheren Risiko für respiratorische Störungen beim Neugeborenen assoziiert.

In unserer Studie finden sich im Kollektiv der Mütter von Kindern mit respiratorischen Problemen signifikant mehr Fälle eines vor der Schwangerschaft, nicht aber neu in der Schwangerschaft diagnostizierten Diabetes mellitus.

Ein Diabetes mellitus in der Schwangerschaft geht mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen bei Mutter und Kind einher. Es handelt sich dabei um einen anerkannten Risikofaktor für neonatale respiratorische Störungen. Die Inzidenz einer TTN oder eines RDS bei Kindern diabetischer Mütter ist zwei- bis fünffach erhöht [26, 40]. Tierexperimente und Untersuchungen in der Zellkultur weisen auf eine gestörte fetale Lungenreifung im Sinne einer relativen funktionellen Unreife der Lunge mit einem quantitativen Defizit in der Synthese und der Sekretion von Surfactant sowie einem Mangel an Typ-II-Alveolarepithelzellen als Ausdruck einer abnormalen morphologischen Entwicklung hin [26, 40, 84]. Diese Inzidenzsteigerung wird auch auf die höhere Rate an operativen Entbindungen und die gesteigerte Frühgeburtlichkeit bei Kindern diabetischer Mütter zurückgeführt [63, 84].

Die in ähnlich großen Studien beobachtete Häufung respiratorischer Störungen bei Kindern aus Zwillings- und Drillingsschwangerschaften konnte in unserer Studie nachvollzogen werden [34, 65]. Der Hauptgrund dafür dürfte die vermehrte Frühgeburtlichkeit dieser Kinder sein.

In Übereinstimmung mit Daten früherer Studien hatten auch die von uns untersuchten Neugeborenen mit einer respiratorischen Anpassungsstörung ein signifikant niedrigeres Geburtsgewicht [29, 65, 84]. Auch Körperlänge, Kopfumfang und Ponderalindex waren signifikant geringer bei Kindern mit einer respiratorischen Anpassungsstörung. Im Gegensatz dazu gilt auch ein Geburtsgewicht über 4500 g als Risikofaktor für pulmonale Probleme [55].

Im Allgemeinen ist erst nach termingerechter Geburt die intrauterin flüssigkeitsgefüllte Lunge morphologisch reif und zum suffizienten Gasaustausch fähig. Die Lungenreife korreliert im Wesentlichen mit dem Gestationsalter. In unserer Untersuchung fand sich wie auch in zahlreichen anderen Studien eine Häufung der respiratorischen Anpassungsstörung bei Frühgeborenen [29, 32, 65, 85]. Das Gestationsalter wurde als wesentlicher Risikofaktor für die TTN bestätigt.

Die APGAR-Werte nach 5 und 10 Minuten waren bei respiratorisch erkrankten Kindern im Durchschnitt niedriger. Auch sie gelten als Risikofaktor für pulmonale Erkrankungen in der Neugeborenenperiode [29, 32, 65]. Ein Apgar-Score von weniger als 7 nach einer Minute erhöht unabhängig von anderen Einflussfaktoren das Risiko für eine TTN [67].

Eine Geburt mittels Sectio caesarea – vor allem ohne vorhergehende Wehentätigkeit - scheint eine inadäquate bzw. verlangsamte pulmonale Flüssigkeitsabsorption zu begünstigen [60, 65]. Kinder, die per Sectio caesarea zur Welt kommen, leiden häufiger an einer TTN oder einem RDS [10, 22, 31, 65, 76, 84]. Die fehlende Thoraxkompression beim Durchtritt durch den Geburtskanal im Rahmen einer vaginalen Geburt, die anfangs als alleinige Ursache für das Verschwinden der pulmonalen Flüssigkeit angesehen wurde, reicht als Begründung hierfür nicht aus, denn zum einen sind auch Kinder nach primärem Kaiserschnitt oder experimentell Tiere mit einer okkludierten Trachea in der Lage, die Flüssigkeit aus ihren Lungen zu entfernen, zum anderen weisen Neugeborene nach sekundärer Sectio ähnliche Lungenfunktionswerte auf wie Kinder, die vaginal geboren wurden [10, 22, 59]. Favorisiert wird daher der geringere Anstieg der Katecholaminkonzentration bei fehlender Wehentätigkeit [31, 76, 85]. Es ist lange bekannt, dass Adrenalin die pulmonale Flüssigkeitssekretion inhibiert und die Flüssigkeitsabsorption fördert [8]. Die Aktivierung des sympathiko-adrenergen Systems im Rahmen des perinatalen pulmonalen Anpassungsvorganges führt zu einer Steigerung des transepithelialen Flüssigkeitstransportes über epitheliale Natriumkanäle [85].

Die Katecholaminkonzentration im kindlichen Plasma korreliert mit der Ausprägung und Dauer der Wehentätigkeit [84]. Die vollständige Belüftung der Lungen von Kindern, die mittels Sectio geboren werden, dauert länger als bei Neugeborenen nach vaginaler Geburt, und Neugeborene nach primärer Sectio caesarea weisen eine höhere Inzidenz an pulmonalen Störungen auf als Neugeborene nach



Spontanpartus und nach sekundärer Sectio caesarea [8, 10, 35, 40, 54, 76, 84]. Der Flüssigkeitsgehalt der Lungen von Kaninchen, die vaginal oder per sekundärer Sectio geboren wurden, ist deutlich geringer als bei Tieren, die mittels primärer Sectio geboren wurden [8, 22].

Der Einfluss des Entbindungsmodus auf das Auftreten einer TTN wurde vielfach untersucht und bestätigt [85]. Unser Ergebnis mit einer signifikant höheren Sectionhäufigkeit bei Neugeborenen, die eine respiratorische Anpassungsstörung entwickeln (49,3 % versus 27,5 % bei nicht betroffenen Kindern), findet sich im Einklang mit diesen Beobachtungen: 8,8 % der Kinder, die mittels Sectio caesarea zur Welt kamen, aber lediglich 3,8 % der vaginal geborenen Kinder wiesen eine TTN auf ( $p = 0,02$ ). Bei einer Sectorate von aktuell 31 % in Deutschland, findet sich in einer weiteren deutschen Studie zum Auftreten der TTN eine Sectionhäufigkeit von 70 % bei den betroffenen Kindern [17, 84]. Eine epidemiologische Auswertung zum Einfluss des Entbindungsmodus auf das Auftreten der TTN auf der Basis der hessischen Peri- und Neonatalerhebung aus dem Jahr 2007 mit einer Fallzahl von ca. 230.000 ermittelte eine Sectorate von 44 % im Kollektiv der erkrankten Kinder [85].

Als weiterer Risikofaktor für das Auftreten einer respiratorischen Anpassungsstörung bestätigte sich in unserer Studie das kindliche Geschlecht [29, 49, 55, 62, 65, 67, 84]. Jungen sind signifikant anfälliger für respiratorische Erkrankungen als Mädchen. Beispielsweise leiden Mädchen seltener als Jungen selben Alters an einem RDS [1, 49, 78, 84]. Das männliche Geschlecht ist gerade bezogen auf Frühgeburtlichkeit mit einer größeren neonatalen Mortalität und Langzeitmorbidity, unter anderem in Form einer chronischen respiratorischen Erkrankung, assoziiert [20, 49]. Die pränatale Glukokortikoidgabe zur Prävention eines RDS wird Müttern von Jungen häufiger verabreicht als Müttern mit weiblichem Nachwuchs [20]. Jungen werden bei respiratorischen Störungen früher intubiert und erhalten eher Surfactant als Mädchen [20]. Jungen scheinen zudem auch schlechter auf diese therapeutischen Maßnahmen anzusprechen [49].

Die Unterschiede in der Inzidenz respiratorischer Störungen und in deren Behandlung sind zurück zu führen auf geschlechtsspezifische Differenzen in der Lungenentwicklung: Die Lungen weiblicher Feten sind im Durchschnitt morphologisch reifer als die von männlichen Feten gleichen Alters [11, 42]. Mädchen

scheinen 1,2 bis 2,5 Wochen in der pulmonalen Reifung vor den Jungen zu liegen [49]. Die einzelnen Surfactantbestandteile werden bei weiblichen Feten früher gebildet [1, 58]. Männliche Feten produzieren insgesamt weniger Surfactantprotein-C und weisen einen niedrigeren Level an VEGF auf, einem Angiogenesefaktor, der essenziell für die ontogenetische Entwicklung ist [83]. Weibliche Individuen exprimieren mehr ENaC in ihren Lungen und haben daher einen Vorteil bei der Flüssigkeitsclearance [77]. Im Tierexperiment kann man eine beschleunigte Alveolenformation und einen höheren Gehalt an Lamellarkörperchen bei weiblichen Ratten beobachten [1, 83]. Differenzierte Typ-II-Alveolarzellen finden sich bei weiblichen Ratten ebenfalls früher als bei männlichen [1].  $\beta$ -Agonisten stimulieren unter anderem die Sekretion von Surfactant.  $\beta$ -Rezeptoren finden sich in der weiblichen fetalen Lunge früher [1]. Die frühere Reifung der Lungen weiblicher Individuen ist auch in der erhöhten interzellulären Kommunikation zu finden [1].

Es ist folglich von einer Retardierung in der Lungenreifung bei Jungen im Vergleich zu den Mädchen auszugehen [58]. Die Gründe für die Unterschiede in der Reifung der Lunge zwischen weiblichen und männlichen Feten sind unklar. Dieser Unterschied könnte auf Differenzen in den Plasmakonzentrationen verschiedener Hormone, auf einen unterschiedlichen Metabolismus der Hormone oder auf Unterschiede in der Rezeptorverteilung zurück zu führen sein [58]. Ein signifikanter Unterschied in der Dichte bzw. der Verteilung von Progesteron, Östrogen- und Androgenrezeptoren im Lungengewebe zwischen weiblichen und männlichen Feten wurde nicht gefunden [58]. Gleiches gilt für die pulmonalen Glukokortikoidrezeptoren. Auch der Plasmagehalt an Progesteron und Östrogen weist in der Fetalperiode bei noch funktionell unreifen Ovarien keinen geschlechtsabhängigen Unterschied auf [12, 42, 58]. Der einzige bisher bekannte Unterschied liegt in der größeren Menge an zirkulierendem Testosteron bei männlichen Feten [11, 12, 58]. Die Gabe von Androgenen bewirkt bei schwangeren Kaninchen eine Verzögerung in der pulmonalen Reifung, während das Antiandrogen Flutamid zu einer Steigerung der Surfactantproduktion auf ein weibliches Niveau führt [11, 58]. Die Androgenisierung einer weiblichen neugeborenen Ratte hat keinen Einfluss auf die Gasaustauschoberfläche. Androgenrezeptor-defiziente Mäuse haben eine vergleichbare Gasaustauschoberfläche wie männliche Wildtypmäuse, so dass Androgene nicht die alleinigen Regulatoren der Lungenentwicklung und -funktion sein können [11].

Die für die Auswertung genutzte multivariate Regressionsanalyse, die die oben genannten Confounder berücksichtigt, zeigt für unser Studienkollektiv eine Assoziation zwischen dem maternalen und fetalen PROGINS-Polymorphismus und der TTN, betrachtet man alle bzw. nur die reif geborenen Kinder.

## 4.2. Der PROGINS-Polymorphismus des humanen Progesteronrezeptorgens

### 4.2.1. molekulare Ebene

Der PROGINS-Polymorphismus ist der bekannteste Polymorphismus des PR-Gens. Wie durch Experimente an PR-knock-out-Mäusen demonstriert werden konnte, sind die physiologischen Effekte des Progesterons komplett abhängig vom Vorhandensein der beiden PR-Subtypen [17]. Drei verschiedene Mutationen, eine Alu-Insertion und zwei Punktmutationen, werden zusammen vererbt. Die biologische Funktion des PROGINS-Polymorphismus war lange Zeit unklar [79]. Vermutungen reichten von Aktivitätssteigerung bis hin zu eingeschränkter Funktionsfähigkeit des Rezeptorproteins [21]. Eine in ihrer Methodik überzeugende Untersuchung an verschiedenen Zell-Linien bestätigt die Hypothese einer reduzierten Progesteronaktivität in Anwesenheit der PROGINS-Variante des Progesteronrezeptors im Vergleich zum Wildtyp durch Reduktion der Stabilität des PROGINS-PR-Transkripts, durch eine Veränderung der posttranslationalen Modifikation des Rezeptorproteins, eine abweichende dreidimensionale Proteinstruktur sowie eine weniger effiziente Inhibition der Effekte des Östrogens [64].

Bekannt ist, dass das Vorkommen des PROGINS-Polymorphismus starke Unterschiede zwischen den Populationen aufweist. So liegt die Häufigkeit des polymorphen T2-Allels bei weißen Nordamerikanern und griechischen Zyprioten bei ca. 21 %, während das PROGINS-Allel bei 2 % der Afroamerikaner und lediglich 0,4 % der Chinesen zu finden ist [2, 18, 19]. Aus diesem Grund flossen in unsere statistische Auswertung nur kaukasische Mütter ein. Die ermittelte Genotypverteilung des PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens (T2-Häufigkeit 14 %) ist vergleichbar mit den in früheren Studien für Kaukasier gefundenen Genotyphäufigkeiten [21, 45, 48, 86, 89].

Der PROGINS-Polymorphismus wurde für diese Studie ausgewählt, da er einerseits bereits als Risikomodulator für verschiedene gynäkologische Erkrankungen bekannt ist und weil er andererseits die Funktion des Hormonrezeptors beeinflusst.

#### 4.2.2. Studienlage

Epidemiologische Studien weisen auf eine Risiko adaptierende Rolle des PROGINS-Polymorphismus bei verschiedenen gynäkologischen und nicht gynäkologischen Erkrankungen wie der Migräne hin. Progesteron ist der natürliche Antagonist der östrogeninduzierten Proliferation im weiblichen Genitaltrakt [37, 64, 79]. Das Zusammenspiel beider Hormone ist wichtig für die Kontrolle eines normalen Zellwachstums. Veränderungen in der Struktur des PR und eine konsekutive Funktionseinschränkung können eine gestörte Wachstums- und Differenzierungskontrolle bewirken. Frauen, die das PROGINS-Allel tragen, scheinen ein erhöhtes Risiko zu haben, Erkrankungen zu entwickeln, in deren Pathogenese Progesteron einen protektiven Effekt ausübt. Dies trifft für das Ovarial- und Endometriumkarzinom ebenso zu wie für die Endometriose [64]. Die Daten für das Mammakarzinom sind dagegen kontrovers [19].

In der Vorstellung, Progesteron als das Schwangerschaftshormon unterstütze den Erhalt einer Gravidität, wurde auch ein Zusammenhang des PROGINS-Polymorphismus mit der Inzidenz habitueller Aborte untersucht, der sich allerdings nicht finden ließ [45].

Nach unserem Wissen gab es bisher keine Untersuchungen darüber, ob der PROGINS-Polymorphismus des PR auch einen Einfluss auf die Inzidenz neonatologischer Atemstörungen hat.

#### 4.3. Zusammenhang zwischen Progesteron, der pulmonalen Physiologie und Pathophysiologie

Steroidhormone sind unerlässlich für die Reifung und Funktion der Lunge, einem der am spätesten ausreifenden Organe in der Ontogenese [37]. Die Glukokortikoideffekte auf die sich entwickelnde Lunge wurden hinreichend

untersucht, weniger ist jedoch bekannt über die Bedeutung des Progesterons in diesem Zusammenhang. Einige Autoren berichten über eine antagonistische Wirkung des Progesterons zu den Glukokortikoiden bezüglich der Wirkung auf die Lungenreifung, andere Experimente zeigen einen glukokortikoidähnlichen Effekt [27].

Progesteron - aber auch Östrogen - spielt nicht nur in der prä- und postnatalen Entwicklung der Lunge eine Rolle, sondern beeinflusst die respiratorische Funktion über die gesamte Lebensspanne und hat zudem eine Bedeutung bei verschiedenen respiratorischen Pathologien [33].

Die weiblichen Geschlechtshormone fungieren beim Erwachsenen als potenzielle respiratorische Stimulanzien, indem sie sowohl die peripheren als auch die zentralen Regulatoren beeinflussen [24, 33]. Speziell Progesteron erhöht die Sensitivität der respiratorischen Zentren [39, 72]. Die genauen Mechanismen sind weitgehend unbekannt, vermutet wird aber ein direkter Einfluss auf die Chemorezeptoraktivität mit der Folge einer Atemantriebssteigerung [12]. Bei der Ratte wurden Geschlechtsunterschiede bei der Expression von Geschlechtshormonrezeptoren in den respiratorischen Neuronen des Hirnstammes beobachtet [73]. Männliche und weibliche Katzen, die im Rahmen einer tierexperimentellen Untersuchung einen Progesteronrezeptoragonisten erhielten, zeigten eine erhöhte Aktivität des Nervus phrenicus und in der Folge eine gesteigerte Atemfrequenz [43, 73]. Progesteron und Östrogen reduzieren darüber hinaus die Kontraktilität der bronchialen Muskelzellen und ermöglichen somit deren Relaxation in vitro [12, 33].

Die weiblichen Geschlechtshormone regulieren die Atmung sowohl bei Frauen als auch bei Männern [12, 39, 43]. Bei Frauen wird der stimulierende Einfluss des Progesterons im Verlauf des Menstruationszyklus deutlich: In der lutealen Phase, die mit einem hohen Plasmalevel an Progesteron einhergeht, kommt es in Vergleich zur östrogendominanten folliculären Phase infolge einer Hyperventilation zu einem Absinken des  $p\text{CO}_2$  [12, 24]. Auch die Einnahme gestagenhaltiger oraler Kontrazeptiva erhöht signifikant das Atemminutenvolumen im Vergleich zu Frauen ohne Kontrazeptivaeinnahme [12].

Im Verlauf einer Schwangerschaft kommt es ebenfalls zu respiratorischen Veränderungen. 1912 wurden erstmals erniedrigte Werte des  $\text{PCO}_2$  in der

Schwangerschaft gemessen [73]. Das Atemminutenvolumen in Ruhe ist bereits in der Frühschwangerschaft erhöht mit einem konsekutiven Abfall des  $\text{PCO}_2$ , so dass eine hormonelle Regulierung wahrscheinlicher ist als eine mechanische Ursache [12, 24]. Die respiratorischen Neurone im ZNS verändern im Verlauf einer Schwangerschaft ihre Sollwerte. Dies bewirkt eine Atemantriebssteigerung mit Tendenz zur Hyperventilation, was auf die steigende Progesteronkonzentration zurückgeführt wird [12, 24, 73].

Die hormonelle Kontrolle der Atmung im Rahmen der physiologischen Anpassung des Organismus an die Schwangerschaft generiert eine Konzentrationsdifferenz der Atemgase zwischen mütterlichem und kindlichem Blut und sichert so die kindliche Versorgung [73].

Frauen in der Menopause, die eine Hormonersatztherapie in Form einer kombinierten Gabe von Progesteron und Östrogen erhalten, weisen ein höheres forciertes Minutenvolumen ( $\text{FEV}_1$ ) und eine geringere Prävalenz an obstruktiven Atemwegserkrankungen auf als Frauen ohne einen Hormonersatz [12].

Verschiedene respiratorische Störungen wie die Schlafapnoe und das SIDS (Sudden Infant Death Syndrome) zeigen Geschlechtsunterschiede in ihrer Prävalenz [12]. Die Schlafapnoe ist bei Männern häufiger als bei Frauen. Dieser Unterschied verschwindet nach der Menopause. Frauen mit Schlafapnoe weisen geringere Plasmakonzentrationen an Progesteron und Östrogen auf [73]. In einer Studie führte die Gabe von Progesteron an gesunde, männliche und weibliche Freiwillige zu einer Erhöhung des Atemminutenvolumens und einem Absinken des  $\text{pCO}_2$  [12, 72]. Gleiches konnte man bei Patienten mit chronischer respiratorischer Insuffizienz beobachten [73]. Die klinische Anwendung von Progesteron beispielsweise in der Behandlung der Schlafapnoe erbrachte jedoch uneinheitliche Resultate [73].

Der Einfluss der weiblichen Geschlechtshormone wird auch am Beispiel des Asthma bronchiale deutlich. Die Prävalenz dieser obstruktiven Atemstörung ist in der präpubertären Phase bei Jungen höher als bei Mädchen. In der Altersgruppe der 20- bis 50-jährigen sind dagegen Asthmaanfälle bei Frauen dreimal häufiger als bei Männern [12, 33]. Einige Studien berichten von einer Minderung von Asthmasymptomen und pulmonalen Funktionstests vor und während des

Menstruationszyklus. Die Einnahme oraler Kontrazeptiva verringert den Bedarf an Medikamenten und verbessert signifikant die Ergebnisse der Lungenfunktionstests bei an Asthma bronchiale erkrankten Frauen [12, 33]. Bei alleiniger Verabreichung von Östrogenen zeigte sich dieser Effekt nicht. Die Resultate legen nahe, dass der positive Effekt des Hormonersatzes auf die Lungenfunktion entweder durch den Synergismus von Progesteron und Östrogen oder durch die Wirkung von Progesteron allein zustande kommt. Einige Patientinnen erleben eine Verbesserung der Symptome in der Schwangerschaft [33]. Progesteron soll die Antwort auf eine Histaminfreisetzung reduzieren [33]. In mehreren Studien wurde demonstriert, dass die Anfälligkeit für allergische Atemwegserkrankungen bei weiblichen Tieren größer ist als bei männlichen. Dies äußert sich beispielsweise in einem höheren Serum-IgE-Gehalt. Nach Kastration hebt sich dieser Unterschied auf, so dass auch von einem protektiven Effekt der Androgene auszugehen ist [11].

Die idiopathische Lungenfibrose und andere interstitielle Lungenerkrankungen weisen ebenfalls geschlechtsspezifische Unterschiede auf [11].

Das Bronchialkarzinom ist einer der Hauptgründe für karzinombedingte Todesfälle weltweit [37]. PR wurden in Gewebe verschiedener Entitäten des Bronchialkarzinoms gefunden. Eine hohe PR-Expression war in einer Studie mit einem niedrigen TNM-Stadium und mit einer hohen Tumordifferenzierung, folglich mit einem besseren klinischen Outcome signifikant assoziiert und stellt somit einen unabhängigen Prognosefaktor dar [37].

Über den Zusammenhang zwischen neonatalen respiratorischen Erkrankungen und dem Progesteron ist bisher wenig bekannt. Das Progesteron übt nicht nur einen direkten Effekt auf bestimmte Zielgene aus, sondern wirkt auch durch Regulierung der Östrogenexpression [7]. Experimentelle Studien wiederum konnten zeigen, dass Östrogen eine Reihe von zellulären Funktionen während der ontogenetischen Lungenentwicklung reguliert [7]. Zudem wurde beobachtet, dass Kinder mit einem RDS in den ersten 72 Lebensstunden eine höhere Konzentration an Progesteron im Lungengewebe aufweisen als Neugeborene ohne respiratorische Symptome. Die Progesteron- und Östrogenkonzentration im Blut war dagegen bei diesen Kindern signifikant geringer als bei gesunden Säuglingen [7, 38, 42, 43]. Dass die postnatale Zufuhr von Progesteron und Östrogen bei Frühgeborenen, die in einem früheren

Entwicklungsstadium als Reifgeborene auf die mütterliche Zufuhr weiblicher Geschlechtshormone verzichten müssen, die Wahrscheinlichkeit eines Atemnotsyndroms verringern kann, ist seit den 1970er Jahren bekannt [7, 83, 88].

#### 4.4. Zusammenhang zwischen dem PROGINS-Polymorphismus und der respiratorischen Anpassungsstörung

Neben Umweltfaktoren (z. B. Geburtsmodus) und konstitutionellen Faktoren (z. B. Geschlecht) können auch genetische Faktoren in der Pathogenese einer respiratorischen Anpassungsstörung eine Rolle spielen. Einige Studien haben den Zusammenhang zwischen verschiedenen Genen und dem Auftreten der TTN untersucht. Genetische Polymorphismen des ENaC und des Surfactantproteins-B, dem einzigen Surfactantprotein, das essenziell für die postnatale pulmonale Adaptation und damit das Überleben ist, zeigten entgegen den Erwartungen keine Assoziation mit der TTN [83]. Es gibt Hinweise für einen Zusammenhang zwischen der TTN und polymorpher Varianten des ADRB2-Gens, die die Funktion des  $\beta_2$ -adrenergen Rezeptors reduzieren [3]. Unsere Untersuchung zeigt einen protektiven Effekt der PROGINS-Variante des PR-Gens auf das Auftreten einer respiratorischen Anpassungsstörung. Die reduzierte Inzidenz der TTN in Anwesenheit eines PROGINS-Allels bzw. mehrerer PROGINS-Allele könnte auf eine Beeinflussung der ENaC-Aktivität zurückgehen.

Das pulmonale Epithel sezerniert in der Fetalperiode aktiv Flüssigkeit in die zukünftigen Luftwege. Dies ist für die morphologische Entwicklung der Lunge von größter Bedeutung. Peri- und postnatal muss das Lungenepithel große Flüssigkeitsmengen resorbieren, um durch Reduktion der Diffusionsstrecken einen ungestörten Gasaustausch nach der Geburt zu gewährleisten [47]. Eine Reihe von apikalen und basolateralen Ionenkanälen wurde in den Lungenepithelzellen gefunden. Dazu zählen der amilorid-sensitive epitheliale Natriumkanal (ENaC), ein Chloridtransporter, die Aquaporine sowie das ubiquitär vorkommende Membranprotein Natrium-Kalium-ATPase, welches allgemein eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der zellulären elektrochemischen Homöostase spielt [47, 71]. Der Ionenkanal, dem in diesem Prozess die größte Bedeutung zugesprochen wird,



ist der ENaC, der sich auch in diversen anderen Epithelien finden lässt [59]. Eine reduzierte Expression oder Dysfunktion des ENaC und die damit einhergehende verzögerte Resorption der pulmonalen Flüssigkeit wird als wichtigster pathogenetischer Faktor in der Entstehung einer TTN bzw. einer respiratorischen Anpassungsstörung verantwortlich gemacht [47]. Aber auch Kinder mit einem RDS scheinen eine Beeinträchtigung im alveolären Natriumtransport aufzuweisen [47, 83].

Sowohl die pharmakologische Blockade der amiloridsensitiven ENaC-Kanäle als auch genetische Knock-out-Experimente an Mäusen belegen die Bedeutung des Natriumtransportes bei der pulmonalen Adaptation des Neugeborenen [41, 76]. Ein ineffektiver Natriumtransport führt zu Atemstörungen bis hin zum Tod. Die experimentelle Messung der Nasenpotenzialdifferenz erlaubt aufgrund ähnlicher biochemischer und histologischer Charakteristika des nasalen und des alveolären Epithels Rückschlüsse auf die Ionentransportvorgänge in den technisch schwer zugänglichen tiefen Atemwegen [30, 88]. Diese bioelektrischen Untersuchungen der Nasenpotenzialdifferenz zeigen, dass bei der TTN, aber auch beim RDS der amiloridsensitive Natriumtransport gestört ist [76]. Der Ionentransport über das Lungenepithel wird von verschiedenen Faktoren reguliert. Neben dem Stand der Lungenentwicklung, die im Wesentlichen mit dem Gestationsalter korreliert, beeinflussen auch Hormone die Funktion des Alveolarepithels. So erhöhen beispielsweise Glukokortikoide – endogen produziert oder von außen appliziert – die Expression des ENaC [78]. Die Präsenz weiblicher Geschlechtshormone im Kulturmedium verändert das Ausmaß des Ionentransportes von trachealen Epithelzellen [78].

Die Aktivität des Ionenkanals wird zum einen reguliert über die Anzahl der Kanalproteine auf der Zelloberfläche, zum anderen über die Permeabilität oder elektrische Leitfähigkeit des Kanals [25].

Frühere Untersuchungen über den Einfluss von Progesteron und Östrogen auf den ENaC erbrachten kontroverse Ergebnisse. Die Expression der einzelnen Untereinheiten des ENaC scheint von den beiden weiblichen Geschlechtshormonen reguliert zu werden [78]. Es konnte für Alveolarepithel- und Nierenepithelzellen der Ratte gezeigt werden, dass die Untereinheiten in unterschiedlichem Maße,

unabhängig voneinander und gewebespezifisch von den weiblichen Geschlechtshormonen beeinflusst werden [25, 78]. Reife weibliche Tiere verfügen über mehr ENaC-mRNA als männliche [25, 78]. Nach Ovariectomie findet sich dieser Unterschied nicht mehr [25]. Männliche und weibliche Ratten weisen eine quantitativ unterschiedliche Expression der einzelnen Untereinheiten des ENaC auf: Die Lungen postpubertärer weiblicher Ratten verfügen im Vergleich zu männlichen Ratten über einen höheren Gehalt an  $\alpha$ -ENaC-mRNA [78]. Dies lässt vermuten, dass weibliche Individuen ein geringeres Risiko für eine verzögerte pulmonale Flüssigkeitsresorption aufweisen, was in diversen Studien und auch für unsere Kohorte bestätigt werden konnte.

Nicht schwangere weibliche Ratten wiesen im Experiment das höchste Level an  $\alpha$ -ENaC-mRNA auf. Die Expression der  $\beta$ -Untereinheit des Natriumkanals erhöht sich in der Schwangerschaft und in der östrogendominanten Phase des Menstruationszyklus. Die Bildung der  $\gamma$ -Untereinheit wird im Tierexperiment nicht durch Geschlecht, Schwangerschaft oder Menstruationszyklus beeinflusst [78]. Weder Progesteron noch Östrogen allein beeinflussten die Transkription einer der Untereinheiten des ENaC.

Eine weitere tierexperimentelle Studie zeigte, dass Progesteron und Östrogen in Kombination zu einer gesteigerten Expression der  $\alpha$ - und der  $\gamma$ -Untereinheit sowie des CFTR in der Lunge führen [25]. Während Östrogen allein die Expression der  $\alpha$ -Untereinheit des renalen ENaC erhöht, wird dieser Effekt durch die Kombination mit Progesteron inhibiert. Die alleinige Gabe von Progesteron bewirkt eine gesteigerte Expression der  $\gamma$ -Untereinheit ohne Einfluss auf die anderen beiden Untereinheiten [25]. Ursache für diese teilweise widersprüchlichen Befunde kann das gewählte Verhältnis von Progesteron zu Östrogen sein (250:1 bzw. 100:1), wobei das zuletzt genannte Verhältnis eher die Verteilung beim Menschen repräsentiert [25]. Die Effekte von Progesteron und Östrogen auf die ENaC-Expression sind abhängig von den Konzentrationen beider Hormone: Die höchste ENaC-Aktivität wurde bei einer bestimmten Konzentration der Hormone beobachtet, während der Effekt sich bei ansteigenden Konzentrationen wieder reduziert [13]. Die physiologische Bedeutung der Veränderungen der Level an mRNA, die für die Untereinheiten des ENaC kodiert, ist nicht bekannt. Im Experiment kann die  $\alpha$ -Untereinheit allein einen Natriumkanal bilden; Veränderungen im relativen Verhältnis der einzelnen Untereinheiten könnten

zu Unterschieden in der Kanalfunktion beispielsweise bezüglich der Leitfähigkeit, der Ionenselektivität und der Amiloridsensitivität und ihrer Regulation führen [25].

Oozyten des Krallenfrosches (*Xenopus laevis*) werden experimentell aufgrund ihrer leichten Zugänglichkeit genutzt, um elektrophysiologische Prozesse zu untersuchen. Mit Hilfe dieses Modells konnte gezeigt werden, dass Progesteron die Kanalöffnungseigenschaft des ENaC verändert und so den Natriumtransport um 80% reduzieren kann [57]. Die Expression des ENaC an der Zelloberfläche wurde in diesem Experiment durch Progesteron nicht beeinflusst. Demnach könnte die Regulation der Kanalöffnungseigenschaften durch Progesteron die Erklärung für den suppressiven Effekt des Hormons auf den ENaC sein [57]. Dies zeigt, dass die Regulation der Kanalfunktion durch Steroidhormone vielfältig ist und nicht auf die Beeinflussung von Transkriptionsraten und Expression reduziert werden kann. Die Ergebnisse der Experimente mit den *Xenopus*-Oozyten sind limitiert durch die Tatsache, dass es in Säugetierzellen möglicherweise andere Signaltransduktionswege als in diesem Modell. Weitere Forschung auf diesem Gebiet ist notwendig, um die Rolle des Progesterons bzw. des PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens in der Regulation des ENaC und in der Pathogenese der TTN verstehen zu können. Dennoch bestätigen diese Ergebnisse unser Resultat des protektiven Effektes bezüglich des Auftretens einer respiratorischen Maladaptation durch einen gestörten durch Progesteron induzierten Signaltransduktionsweg. Diese Herangehensweise erklärt jedoch nur den PROGINS-Effekt im kindlichen Genom, nicht aber im mütterlichen.

Der Mechanismus, der vom Polymorphismus des PR-Gens zur klinisch relevanten Risikoreduktion für das Auftreten einer TTN führt, bleibt zu identifizieren. Möglich wäre ein Ursprung dieses Effektes in der Plazenta, denn hier interagieren maternale und fetale Gene und Genprodukte. Zudem ist die Plazenta auch ein Zielorgan des Progesterons [69]. Die reduzierte PR-Aktivität, welche auf den PROGINS-Polymorphismus zurück zu führen ist, könnte zu einer veränderten plazentaren Progesteronproduktion führen [69]. Das wiederum könnte über die Beeinflussung der Reabsorption der pulmonalen Flüssigkeit das Risiko für eine TTN modifizieren. Der Progesterongehalt von Müttern und Kindern im Serum wurde in unserer Studie nicht ermittelt.

#### 4.5. Methodenkritik

Alle DNA-Analysen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt. Ergab eine Doppelbestimmung ein widersprüchliches Ergebnis, so wurde eine weitere PCR der entsprechenden Probe vorgenommen. Darüber hinaus wurden bei jeder PCR eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt.

Die von uns verwendeten Diagnosekriterien für die TTN entsprechen denen, die in anderen Studien Anwendung fanden [41, 84]. Unter dem Begriff der respiratorischen Anpassungsstörung wurden im Gegensatz zu früheren Publikationen zusätzlich noch die klinischen Zustände zusammengefasst, bei denen nicht alle Diagnosekriterien einer TTN erfüllt waren. In Anbetracht der Tatsache, dass es sich bei der TTN um das Vollbild einer postnatalen pulmonalen Adaptationsstörung handelt und mutmaßlich beiden Diagnosen die selbe Pathogenese zugrunde liegt, erfolgte eine gemeinsame Auswertung der klinischen Entität der respiratorischen Anpassungsstörung (P22.1 und P22.8). Auch die Abgrenzung zu den anderen respiratorischen Erkrankungen ist schwierig, da die Übergänge oft fließend sind. Beispielsweise können eine neonatale Pneumonie oder ein RDS ähnliche Symptome aufweisen. Im Unterschied zu anderen Studien haben wir Kinder mit Infektionen nicht ausgeschlossen [84, 85]. Nebendiagnosen der an einer respiratorischen Anpassungsstörung leidenden Kinder wurden nicht berücksichtigt.

Die untersuchte Kohorte entstammt einem Universitätsklinikum, so dass Repräsentativität angezweifelt werden könnte.

#### 4.6. Ausblick

Da die Verteilung der Allelhäufigkeiten zwischen verschiedenen Populationen variiert, wurden in dieser Auswertung nur Kaukasier berücksichtigt, folglich ist keine Verallgemeinerung für andere ethnische Gruppen möglich. Auch wäre es sinnvoll, den von uns beschriebenen protektiven Einfluss des PROGINS-Polymorphismus des PR-Gens auf die Inzidenz einer respiratorischen Anpassungsstörung in Studien mit größeren Fallzahlen zu untersuchen. Der +331G/A Polymorphismus des PR-Gens bewirkt eine gesteigerte Expression des PR-B [79]. Interessant wäre zu überprüfen,

ob es eine Assoziation zwischen diesem funktionellen Polymorphismus und der TTN gibt. In diesem Zusammenhang bleibt auch die Rolle des Östrogens bzw. der Östrogenrezeptoren zu klären.

Epidemiologie kann keine Kausalität erklären. Untersuchungen zum Einfluss des PROGINS-Polymorphismus auf die Funktion des ENaC stehen aus.

Bestätigt sich der von uns gefundene Zusammenhang zwischen dem PROGINS-Polymorphismus und der Inzidenz der respiratorischen Anpassungsstörung, so könnte der mütterliche PR-Genotyp als Prädiktor für das respiratorische Outcome des Neugeborenen dienen. Möglicherweise könnten durch den gezielten Einsatz von Glukokortikoiden, die auch die Inzidenz einer TTN senken können bzw. durch Vermeidung anderer Risikofaktoren (z. B. primäre Sectio caesarea auf Wunsch der Mutter) die perinatale Morbidität und Mortalität reduziert werden [65, 75].

Da die primäre Sectio caesarea erneut als unabhängiger Risikofaktor für eine respiratorische Anpassungsstörung ermittelt wurde, sollte dieser Fakt vor dem Hintergrund der steigenden Rate an Schnittenbindungen in die Beratung der Eltern bezüglich des geplanten Entbindungsmodus einbezogen werden [85].

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Pulmonale Störungen gehören zu den häufigsten Pathologien in der Neugeborenenperiode. In der hier vorgestellten klinisch-experimentellen Studie wurde für ein Kollektiv kaukasischer Mütter, das in der Frauenklinik der Berliner Charité, Campus Charité Mitte, entbunden hatte, und deren Kinder ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens und dem Auftreten einer neonatalen respiratorischen Anpassungsstörung demonstriert.

Intrauterin ist das gesamte tracheo-broncho-alveoläre System mit einer vom Lungenepithel sezernierten Flüssigkeit gefüllt, was entscheidend ist für die normale fetale Lungenentwicklung. Perinatal muss diese pulmonale Flüssigkeit resorbiert werden, um einen effektiven Gasaustausch in der Lunge zu gewährleisten. Diese Flüssigkeitsresorption wird in erster Linie von epithelialen Natriumkanälen (ENaC) realisiert, die die Reabsorption von Natrium-Ionen ermöglichen, wobei Wasser passiv folgt. Störungen oder Verzögerungen im perinatalen Prozess der Flüssigkeitsresorption durch das Lungenepithel werden als Ursache für die Entstehung einer respiratorischen Anpassungsstörung, im Besonderen der transienten Tachypnoe des Neugeborenen, angesehen.

Das Steroidhormon Progesteron reguliert die Entwicklung, die Differenzierung und die Funktion der weiblichen Fortpflanzungsorgane. Das ontogenetische Verteilungsmuster der Progesteronrezeptoren unterstützt zudem die Annahme, dass dieses Hormon auch eine Bedeutung in der Entwicklung der Lunge spielt, denn Progesteronrezeptoren können in hoher Konzentration besonders im fetalen Lungengewebe nachgewiesen werden.

Der PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens beinhaltet eine 306 bp große PV/HS-1 Alu-Insertion im Intron G, eine stumme Punktmutation im Exon 5 (H770H) und eine Punktmutation mit Aminosäureaustausch in Exon 4 (V660L). Diese genetische Variante des Progesteronrezeptors tritt in der kaukasischen Population mit einer Häufigkeit von 15% auf und bewirkt eine reduzierte Aktivität des Rezeptors im Vergleich zum Wildtyp. Eine Vielzahl epidemiologischer Studien bringt den PROGINS-Polymorphismus mit verschiedensten gynäkologischen, aber auch nicht gynäkologischen Erkrankungen in Zusammenhang. Wir konnten zeigen, dass diese genetische Variante des humanen Progesteronrezeptorgens auch einen

Einfluss auf die postnatale respiratorische Anpassung des Neugeborenen zu haben scheint.

Mittels PCR wurde im Rahmen dieser Studie für 2352 Mutter-Kind-Paare der jeweilige Genotyp des Progesteronrezeptorgens bestimmt. Unsere Daten bestätigen zum einen bereits beschriebene Genotypverteilungen, zum anderen bekannte Risikofaktoren der TTN: Neben dem Geburtsmodus, dem Gestationsalter zum Zeitpunkt der Geburt, dem Geburtsgewicht und dem kindlichen Geschlecht begünstigen eine Mehrlingsschwangerschaft und mütterliche Faktoren wie Gewicht bzw. BMI vor der Schwangerschaft oder ein Diabetes mellitus in der Schwangerschaft die Entstehung des Krankheitsbildes einer respiratorischen Anpassungsstörung. Das Vorhandensein der polymorphen Variante des Progesteronrezeptorgens reduzierte in unserer Studien die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer respiratorischen Anpassungsstörung. Die protektive Wirkung des PROGINS-Polymorphismus ist unabhängig davon, ob das Allel im mütterlichen oder im kindlichen Genom lokalisiert ist und wird zudem von bekannten Confoundern nicht beeinflusst. Darüber hinaus scheint es sich um einen von der Gendosis abhängigen Effekt zu handeln. Es wird vermutet, dass die Expression und die Kanalöffnungseigenschaften des ENaC konzentrationsabhängig durch Progesteron reguliert werden, und dass der durch den PROGINS-Polymorphismus in seiner Aktivität eingeschränkte Progesteronrezeptor die Resorption der pulmonalen Flüssigkeit und somit die Inzidenz der respiratorischen Anpassungsstörung beeinflusst.

Respiratory disorders are one of the most common problems during the neonatal period. In this clinical study we investigated a cohort of infants born to Caucasian women at the Obstetrics Department of the Charité. We found an association between the PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor gene and the incidence of respiratory maladaptation, especially the transient tachypnoea of the newborn.

During intrauterine life, the whole lung is filled with a fluid, produced by pulmonary epithelial cells, which is important for the normal pulmonary development. Perinatal lung fluid clearance is essential for an effective pulmonary gas exchange. Epithelial sodium channels (ENaC) play a crucial role in reabsorption of sodium, whereas water follows passively. Delayed resorption of fetal lung fluid caused by deficient pulmonary epithelial sodium transport is the most important factor in pathogenesis of the transient tachypnoea of the newborn (TTN).

Progesterone regulates the development, the differentiation and the function of the female reproductive system. The ontogenetic distribution of the progesterone receptors supports the hypothesis, that this hormone also plays a role in the development of the lung, because high concentrations of progesterone receptors were found in the fetal lung tissue.

The PROGINS polymorphism of the progesterone receptor gene consists of a 306 bp PV/HS-1 alu insertion in intron G, a silent mutation in exon 5 (H770H) and a mutation with amino acid exchange in exon 4 (V660L). This genetic variant of the progesterone receptor has a prevalence of about 15 % in Caucasian populations and in vitro experiments showed a reduced progesterone activity when signal transduction is mediated by the polymorphous receptor. Several epidemiological surveys suggest a risk modulating role of the PROGINS polymorphism in several gynecological and non-gynecological disorders. We were able to demonstrate for the first time that this polymorphism influences the occurrence of the pulmonary maladaptation of the newborn.

Using PCR, 2352 mothers and their children were genotypes for the PROGINS progesterone receptor polymorphism. Our data confirm the previously described frequency of the PROGINS polymorphism and risk factors for the TTN such as mode of delivery, gestational age at birth, birth weight, fetal sex, multiple pregnancies, maternal weight and BMI before pregnancy and maternal diabetes.



The present study shows that the PROGINS polymorphism of the progesterone receptor reduces the risk of TTN in a gene dose-dependent manner probably because of the inadequate regulation of the ENaC's expression and activity. The protective effect of the PROGINS allele does not depend on whether it is located in the maternal or fetal genome and is independent of known confounding factors.

## 6 ABKÜRZUNGEN

ADRB	Adrenorezeptor B
ANOVA	analysis of variance
bp	Basenpaare
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
Cl <sup>-</sup>	Chlorid-Ionen
CPAP	continuous positive airway pressure
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ENaC	epithelialer Natriumkanal
ERE	estrogen response element
FEV <sub>1</sub>	forciertes expiratorisches Volumen in einer Sekunde
FPF	fibroblast pneumocyte factor
H	Histidin
HBs-Antigen	Hepatitis-B-Surface-Antigen
HDL	High-Density-Lipoprotein
HS/PV	human specific/predicted variant
ICD	international classification of diseases
K <sup>+</sup>	Kalium-Ionen
L	Leucin
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LSR	Lues-Such-Reaktion
Na <sup>+</sup>	Natrium-Ionen
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
PR	Progesteronrezeptor
PRE	progesterone response element
RDS	respiratorisches Distress-Syndrom
Röteln-HAH-Test	Röteln-Hämagglutinationshemmungstest
SIDS	Sudden Infant Death Syndrome
SSW	Schwangerschaftswoche
T1 dom	T1 dominantes Model (T1/T1+T1/T2 versus T2/T2)
T2 dom	T2 dominantes Model (T1/T1 versus T1/T2+T2/T2)
TAG	Triacylglyceride

TRH	Thyreotropin-Releasing-Hormon
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
TTN	transiente Tachypnoe des Neugeborenen
V	Valin
VEGF	vascular epithelial growth factor

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Adamson IYR, King GM: Sex differences in development of fetal rat lung. *Laboratory investigation* 1984; 50: 456-40
- 2 AgoulNIK IU, Tong X-W, Fischer D-C, Körner K, Atkinson NE, Edwards DP, Headon DR, Weigel NL, Kieback DG: A germline variation in the progesterone receptor gene increases transcriptional activity and may modify ovarian cancer risk. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89(12): 6340-6347
- 3 Aslan SE, Tutdibi E, Martens S, Han Y, Monz D, Gortner L: Transient tachypnea of the newborn (TTN): a role for polymorphisms in the beta-adrenergic receptor (ADRB) encoding genes? *Acta Paediatr* 2008; 1346-1350
- 4 Avery ME, Baghdassarian Gatewood O, Brumley G: Transient tachypnea of newborn. *American Journal of Disease in Childhood* 1966; 111: 380-384
- 5 Batzer MA, Arcot SS, Phinney JW, Alegria-Hartman M, Kass DH: Genetic Variation of Recent Alu Insertions in Human Populations. *Journal of Molecular Evolution* 1996; 42:22-29
- 6 Benninghoff: Anatomie. Band 1; 15. Auflage. Urban & Schwarzenberg 1994
- 7 Beyer C, Küppers E, Karolczak M, Trotter A: Ontogenetic expression of estrogen and progesterone receptors in the mouse lung. *Biology of the Neonate* 2003; 84: 59-63
- 8 Bland RD, Bressack MA, McMillan DD: Labor decreases the lung water content of newborn rabbits. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1979; 135 (5): 364-367
- 9 Brice JEH, Walker CHM: Changing pattern of respiratory distress in newborn. *The Lancet* 1977; 8: 752-754

- 10 Brown MJ, Olver RE, Ramsden CA, Strang LB, Walters DV: Effects of adrenaline and of spontaneous labour on the secretion and absorption of lung liquid in the fetal lamb. *Journal of Physiology* 1983; 344: 137-152
- 11 Carey AM, Card JW, Voltz JW, Germolec DR, Korach KS, Zeldin DC: The impact of sex and sex hormones on lung physiology and disease: lessons from animal studies. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: 272-278
- 12 Cevrioglu AS, Fidan F, Unlu M, Yilmazer M, Orman A, Fenkci IV, Serteser M: The effects of hormone therapy on pulmonary function tests in postmenopausal women. *Maturitas - The European Menopause Journal* 2004; 49: 221-227
- 13 Chang C-T, Sun C-Y, Pong C-Y, Chen Y-C, Lin G-P: Interaction of estrogen and progesterone in the regulation of sodium channels in collecting tubular cells. *Division of Nephrology* 2007; 30 (4): 305-311
- 14 Cnattingius S, Bergström R, Lipworth L, Kramer MS: Prepregnancy weight and the risk of adverse pregnancy outcomes. *The New English Journal of Medicine* 1998; 338: 147-153
- 15 Deininger PL, Batzer MA: Mammalian Retroelements. *Genome Research* 2002; 12: 1455-1465
- 16 *Deutsches Ärzteblatt* 2009; Jg. 106, Heft 36, 1485
- 17 De Vivo I, Hankinson SE, Colditz GA, Hunter DJ: A functional polymorphism in the progesterone receptor gene is associated with an increase in breast cancer risk. *Cancer Research* 2003; 63: 5236-5238
- 18 Diaz-Cueto L, Dominguez-Lopez P, Cantillo-Cabarcas J, Perez-Figueroa G, Arechavaleta-Velasco M, Arechavaleta-Velasco F: Progesterone receptor gene polymorphisms are not associated with preterm birth in a Hispanic

- population. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 2008; 103: 153-157
- 19 Donaldson CJ, Crapanzano JP, Watson JC, Levine EA, Batzer MA: PROGINS Alu insertion and human genomic diversity. *Mutation Research* 2002; 501: 137-141
- 20 Elsmén E, Pupp ICH; Hellström-Westas L: Preterm male infants need more initial respiratory and circulatory support than female infants. *Acta Paediatr* 2004; 93: 529-533
- 21 Fabjani G, Tong D, Czerwenka K, Schuster E, Speiser P, Leodolter S, Zeillinger R: Human progesterone receptor gene polymorphism PROGINS and risk for breast cancer in Austrian women. *Breast Cancer Research and Treatment* 2002; 72: 131-137
- 22 Faxelius G, Hägnevik K, Lagercrantz H, Lundell B, Irestedt L: Catecholamine surge and lung function after delivery. *Archives of Disease in Childhood* 1983; 58: 262-266
- 23 Finley N, Norlin A, Baines DL, Folkesson HG: Alveolar epithelial fluid clearance is mediated by endogenous catecholamines at birth in guinea pigs. *Journal of Clinical Investigation* 1998; 101(5): 972-980
- 24 Funai EF, Gillen-Goldstein J, Roque H: Changes in the respiratory tract during pregnancy. 2007; [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
- 25 Gambling L, Dunford S, Wilson CA, McArdle HJ, Baines DL: Estrogen and progesterone regulate  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  ENaC subunit mRNA levels in female rat kidney. *Kidney International* 2004; 65: 1774-1780
- 26 Gewolb IH, Unger ME, Merdian W, Deutsch J, Cavalieri RL: High glucose causes delayed fetal lung maturation as measured by fluorescence anisotropy.

- Biochemical and Biochemical Research Communications 1993; 193 (2): 794-800
- 27 Giannopoulos G, Phelps DS, Munowitz P: Heterogeneity and ontogenesis of progestin receptors in rabbit lung. *J steroid Biochem* 1982; 17: 503-510
- 28 Gomes MTV, de Aquino Castro R, Villanova FE, da Silva IDC, Baracat EC, Girao MJBC: The progesterone receptor gene polymorphism, PROGINS; may be a factor related to the development of uterine fibroids. *Fertility and Sterility* 2007; 87(5): 1116-1120
- 29 Gouyon J-B, Ribakovsky C, Ferdynus C, Quantin C., Sagot P, Gouyon B: Severe respiratory disorders in term neonates. *Pediatric and Perinatal Epidemiology* 2007; 22: 22-30
- 30 Gowen CW, Lawson EE, Gingras J, Boucher RC, Gatzky JT, Knowles MR: Electrical potential difference and ion transport across nasal epithelium of term neonates: Correlation with mode of delivery, transient tachypnea of the newborn, and respiratory rate. *The Journal of Pediatrics* 1988; 113: 121-127
- 31 Greenough A, Lagercrantz H: Catecholamine abnormalities in transient tachypnoea of the premature newborn. *Journal of Perinatal Medicine* 1992; 20: 223-226
- 32 Gross TL, Sokol RJ, Kwong MS, Wilson M, Kuhnert PM: Transient tachypnea of the newborn: the relationship to preterm delivery and significant neonatal morbidity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1983; 146: 236-241
- 33 Haggerty CL, Ness RB, Kelsey S, Waterer GW: The impact of estrogen and progesterone on asthma. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 2003; 90: 284-289
- 34 Hjalmarson O: Epidemiology and classification of acute, neonatal respiratory disorders. *Acta Paediatr Scand* 1981; 70: 773-783

- 35 Hook B, Kiwi R, Amini SB, Fanaroff A, Hack M: Neonatal morbidity after elective repeat caesarean section and trial of labor. *Pediatrics* 1997; 100: 348-353
- 36 Hsieh Y-Y, Chan I-P, Wang H-I, Chang C-C, Huang C-W, Lin C-S: PROGINS Alu sequence insertion is associated with hyperprolactinaemia but not with leiomyoma susceptibility. *Clinical Endocrinology* 2005; 62: 492-497
- 37 Ishibashi H, Suzuki T, Suzuki S, Niikawa H, Lu L, Miki Y, Moriya T, Hayashi S, Handa M, Kondo T, Sasano H: Progesterone receptor in non-small cell lung cancer – a prognostic factor and possible target for endocrine therapy. *Cancer Research* 2005; 65 (14): 6450-6459
- 38 Joensuu H, Kero P, Pulkkinen MO: Lung tissue progesterone in the human fetus and neonate. *Biology of the neonate* 1981; 40: 183-186
- 39 Johnson DC, Kazemi H: Disorders of ventilatory control. 2007; [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
- 40 Johnson KE: Transient tachypnea of the newborn. 2007; [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
- 41 Karabayir N, Kavuncuoglu S: Intravenous furosemide for transient tachypnoea of the newborn: A randomised controlled trial. *Journal of Paediatrics and Child Health* 2006; 42: 640-642
- 42 Keijzer R, Tuyl M, Tibboel D: Hormonal modulation of fetal pulmonary development: relevance for the fetus with diaphragmatic hernia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology* 2000; 92: 127-133
- 43 Kero PO, Pulkkinen MO: Plasma Progesterone in the Respiratory Distress Syndrome. *European Journal of Pediatrics* 1979; 132: 7-10
- 44 Kiess, Braun: *Kinderheilkunde systematisch*. 2. Auflage. unimed 2002
- 45 Kurz Ch, Tempfer CB, Boescoer S, Unfried G, Nagele F, Hefler LA: The



- PROGINS progesterone receptor gene polymorphism and idiopathic recurrent miscarriage. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8: 295-298
- 46 Koletzko B: *Kinderheilkunde und Jugendmedizin*. 12. Auflage. Springer-Verlag; 2004
- 47 Landmann E, Schmidpott M, Tutdibi E, Gortner L: Is transient tachypnoea of the newborn associated with polymorphisms in the epithelial sodium channel encoding gene? Investigation of the second transmembrane spanning domain of the  $\alpha$  subunit. *Acta Paediatrica* 2005; 94: 317-323
- 48 Lattuada D, Somigliana E, Vigano P, Pardi G, Di Blasio AM: Genetics of endometriosis: a role for the progesterone receptor gene polymorphism PROGINS? *Clinical Endocrinology* 2004; 61: 190-194
- 49 Lauterbach MD, Raz S: Neonatal hypoxic risk in preterm birth infants: The influence of sex and severity of respiratory distress on cognitive recovery. *Neuropsychology* 2001; 15 (3): 411-420
- 50 Leite DB, Junqueira MG, de Carvalho CV, Massad-Costa AM, Gonçalves WJ, Nicolau SM: Progesterone receptor (PROGINS) polymorphism and the risk of ovarian cancer. *Steroids* 2008; 73: 676-680
- 51 Lee H, Slinger L, Jen JC, Cha Y-H, Baloh RW, Nelson SF: Association of progesterone receptor with migraine associated vertigo. *Neurogenetics* 2007
- 52 Liggins GC, Howie RN: A Controlled trial of antepartum glucocorticoids treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics* 1972; 50 (4): 515-525
- 53 Leroy C, Privé A, Bourret JC, Berthiaume Y, Ferraro P, Brochiero E: Regulation of ENaC and CFTR expression with  $K^+$  channel modulators and effect on fluid absorption across alveolar epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 291: 1207-1219

- 54 Levine EM, Ghai V, Barton JJ, Strom CM: Mode of delivery and risk of respiratory diseases in newborns. *Obstetrics and Gynecology* 2001; 97 (3): 439 -441
- 55 Liem JJ, Huq SI, Ekuma O, Becker AB: Transient tachypnea of the newborn may be an early clinical manifestation of wheezing symptoms. *Pediatrics* 2008; 122: S 205
- 56 Matalon S, Lazrak A, Jain L, Eaton DC: Lung edema clearance: 20 years of progress invited review: Biophysical properties of sodium channels in lung alveolar epithelial cells. *Journal of Applied Physiology* 2002; 93: 1852-1859
- 57 Michlig S, Harris M, Loffing J, Dossier BC: Progesterone down-regulates the open probability of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel via a Nedd4-2-dependent mechanism. *Journal of Biological Chemistry* 2005; 280 (46): 38264-38270
- 58 Nielsen HC: Testosterone regulation of sex differences in fetal lung development. *P. S. E. B.M.* 1992; 199: 446-453
- 59 Olver RE, Walters DV, Wilson SM: Developmental regulation of lung liquid transport. *Annual Review of Physiology* 2004; 66: 77-101
- 60 Pijnenborg JMA, Romano A, Dam-de Veen GC, Dunselman GAJ, Fischer DC, Groothuisn PG, Kieback DG: Aberrations in the progesterone receptor gene and the risk of recurrent endometrial carcinoma. *Journal of Pathology* 2005; 205: 597-605
- 61 Raatikainen K, Heiskanen N, Heinonen S: Transition from overweight to obesity worsens pregnancy outcome in a BMI-dependent manner. *Obesity* 2006; 14: 165-171

- 62 Rawlings JS, Smith FR: Transient tachypnea of the newborn. *American Journal of Disease in Childhood* 1984; 138: 869-871
- 63 Ricart E, López J, Mozas J, Pericot A, Rancho MA, Gonzáles N: Body mass index has a greater impact on pregnancy outcomes than gestational hyperglycaemia. *Diabetologica* 2005; 48: 1736-1742
- 64 Romano A, Delvoux B, Fischer DC, Groothuis P: The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone. *Journal of Molecular Endocrinology* 2007; 38: 331-350
- 65 Rubaltelli FF, Bonafè L, Tangucci M, Spagnolo A, Dani C: Epidemiology of neonatal acute respiratory disorders. *Biology of the neonate* 1998; 74: 7-15
- 66 Sandberg K, Sjöqvist A, Hjalmarson O, Olsson T: Efficiency of ventilation in neonatal pulmonary maladaptation. *Acta of Paediatrics of Scandinavia* 1987; 76: 30-36
- 67 Schatz M, Zeiger RS, Hoffman CP, Saunders BS, Harden KM, Forsythe AB: Increased transient tachypnea of the newborn in infants of asthmatic mothers. *American Journal of Diseases of Children* 1991; 145: 156-158
- 68 Schneider T: Humane Alu-Sequenzen als Surrogat-Marker für die Metastasierung in humanen Xenograft-Tiermodellen. Dissertation der Fakultät für Biologie der Ludwig-Maximilian-Universität München, 2002
- 69 Shanker YG, Rao AJ: Progesterone receptor expression in the human placenta. *Molecular Human Reproduction* 1998; 5 (5): 481-486
- 70 Shao R, Egecioglu E, Weijdegard B, Ljungström K, Ling C, Billig H: Developmental and hormonal regulation of progesterone receptor A-form expression in female mouse lung in vivo: interaction with glucocorticoid receptors. *Journal of Endocrinology* 2006; 190: 857-870

- 71 Shohat M, Levy G, Levy I, Schonfeld T, Merlob P: Transient tachypnea of the newborn and asthma. *Archives of Disease in Childhood* 1989; 64: 277-279
- 72 Singhi SC, Chookang E: Maternal fluid overload during labour; transplacental hyponatraemia and risk of transient neonatal tachypnoea in term infants. *Archives of Disease in Childhood* 1984; 59: 1155-1158)
- 73 Soliz J, Joseph V: Perinatal steroid exposure and respiratory control during early postnatal life. *Respiratory Physiology and Neurobiology* 2005; 149: 111-122
- 74 Walker CL, Cesen-Cummings K, Houle C, Baird D, Barrett JC: Protective effect of pregnancy for development of uterine leiomyoma. *Carcinogenesis* 2001; 22 (12): 2049-2052
- 75 Stutchfield P, Whitaker R, Russell I: Antenatal betamethasone and incidence of neonatal respiratory distress after elective caesarean section: pragmatic randomised trial. *BMJ* 2005; 331
- 76 Subramanian KNS, Bahri M, Kicklighter SD: Transient Tachypnea of the Newborn. *eMedicine Pediatrics* 2006, Update: Sep 16, 2009
- 77 Sundell H, Garrott j, Blankenship WJ, Shepard FM: Studies on infants with type II respiratory distress syndrome. *The Journal of Pediatrics* 1971; 78 (5): 754-764
- 78 Sweezey N, Tchepichev S, Gagnon S, Fertuck K, O`Brodovich H: Female gender hormones regulate mRNA levels and function of the rat lung epithelial Na channel. *American Journal of Physiology and Cellular Physiology* 1998; 274: 379-386
- 79 Terry KL, De Vivo I, Titus-Ernstoff L, Sluss PM, Cramer DW: Genetic variation in the progesterone receptor gene and ovarian cancer risk. *American Journal of Epidemiology* 2005; 161: 442-451

- 80 Thomas CP, Liu KZ, Vats HS: Medroxyprogesteron acetate binds the glucocorticoids receptor to stimulate  $\alpha$ -ENaC and sgk1 expression in renal collecting duct epithelia. *American Journal of Physiology and Renal Physiology* 2006; 290: F306-F312
- 81 Tong D, Fabiani G, Heinze G, Obermair A, Leodolter S, Zeillinger R: Analysis of the human progesterone receptor gene polymorphism PROGINS in Austrian ovarian carcinoma patients. *International Journal of Cancer* 2001; 95: 394-397
- 82 Trotter A, Maier L, Grill H-J, Kohn T, Heckmann M, Pohlandt F: Effects of postnatal estradiol and progesterone replacement in extremely preterm infants. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84 (12): 4531 – 4535
- 83 Trotter A, Hilgendorff A, Kipp M, Beyer C, Küppers E, Kiossis E, Stuplich J, Pohlandt F, Thome U: Gender-related effects of prenatal administration of estrogen and progesterone receptor antagonists on VEGF and surfactant-proteins and on alveolarisation in the developing piglet lung. *Early Human Development* 2009
- 84 Tutdibi E: Transiente Tachypnoe des Neugeborenen: Sind Polymorphismen des Surfactantprotein B auslösend? Inauguraldissertation der Justus-Liebig-Universität Gießen 2005
- 85 Tutdibi E, Gries K, Misselwitz B, Gortner L: Transiente Tachypnoe des Neugeborenen und primäre Sectio caesarea: eine epidemiologische Studie. *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie* 2007; 211
- 86 Wang-Gohrke S, Chang-Claude J, Becher H, Kieback DG, Runnebaum IB: Progesterone receptor gene polymorphism is associated with decreased risk for breast cancer by age 50. *Cancer Research* 2000; 60: 2348-2350
- 87 Wasserman L, Flatt SW, Natarajan L, Laughlin G, Matusalem M, Faerber S, Rock CL: Correlates of obesity in postmenopausal women with breast cancer:

- comparison of genetic, demographic, disease-related, life history and dietary factors. *International Journal of Obesity* 2004; 28: 49-56
- 88 Winkler, A.: Der Einfluss von Östradiol und Progesteron auf die Nasenpotenzialdifferenz von Frühgeborenen. Dissertation der medizinischen Fakultät der Universität Ulm 2006
- 89 Wieser F, Schneeberger C, Tong D, Tempfer C, Huber JC, Wenzl R: PROGINS receptor gene polymorphism is associated with endometriosis. *Fertility and Sterility* 2002; 77(2): 309-12
- 90 statistisches Bundesamt: [www.destatis.de](http://www.destatis.de) 2006
- 91 [www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd.htm](http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd.htm)
- 92 Zanardo V, Simbi AK, Franzoi M, Soldà G: Neonatal respiratory morbidity risk and mode of delivery at term: influence of timing of elective caesarean delivery. *Acta Paediatr* 2004; 93: 643-647

## **8      LEBENSLAUF**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 9 PUBLIKATIONSLISTE

Alter M, Pfab T, Guthmann F, Burdack A, Kempiners N, Kalk P, Chen Y-P, Hocher B: Maternal and fetal PROGINS progesterone receptor polymorphism reduces the risk for transient tachypnea of the newborn. Clin. Lab. 2010; 56

Hocher B, Chen Y-P, Schlemm L, Burdack A, Li J, Halle H, Pfab T, Kalk P, Lang F, Godes M: Fetal sex determines the impact of maternal PROGINS progesterone receptor polymorphism on maternal physiology during pregnancy. Pharmacogenetics and Genomics 2009; 19: 710-718



## 10 ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, Aline Burdack, geboren am 24.03.1981 in Berlin, an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Einfluss des PROGINS-Polymorphismus des Progesteronrezeptorgens auf die respiratorische Anpassungsstörung des Neugeborenen“ von mir selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde, auch in Teilen keine Kopie von anderen Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Aline Burdack

Berlin, im November 2010

## 11 DANKSAGUNG

An dieser Stelle gilt mein Dank all denen, die in den letzten Jahren durch ihre Unterstützung zur Entstehung dieser Dissertation beigetragen haben.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Berthold Hoher für die Bereitstellung dieses Themas und die Betreuung meiner Arbeit sowie bei den Mitarbeitern unserer Arbeitsgruppe, im Besonderen Dr. med. Kathrin Krause, Dr. rer. medic. Katharina Krause-Relle, Dr. med. Markus Alter, für die freundliche Zusammenarbeit und Hilfe bei der Lösung aufgetretener Probleme.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden für die bedingungslose Begleitung und unermüdliche Motivation in dieser viel zu langen und nicht immer leichten Zeit.