

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

DISSERTATION

**Zusammenhänge zwischen der plazentaren Peroxisom-
Proliferator-aktivierten Rezeptor gamma Konzentration
und biologischen Parametern von Mutter und Kind**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ewelina Sceplik

aus Opole

Datum der Promotion: 17.09.2021

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	4
Abbildungsverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	6
Zusammenfassung	7
Abstract	9
1 Einleitung.....	10
1.1 Fetale Programmierung	10
1.1.1 Die Mechanismen der fetalen Programmierung.....	14
1.2 Die Plazenta und ihre Rolle in der Schwangerschaft.....	16
1.3 Advanced Fetal Programming Hypothese	16
1.4 PPAR	18
1.4.1 PPAR γ	20
1.4.2 PPAR γ und Schwangerschaft.....	21
1.5 Fragestellung.....	24
2 Materialien und Methoden.....	25
2.1 Studienplanung und Durchführung.....	25
2.1.1 Datengewinnung.....	25
2.1.2 Untersuchungsmaterial:	26
2.1.3 Ausschlusskriterien und Probenzahl.....	26
2.2 Materialien.....	26
2.2.1 Geräte und Verbrauchsmaterial.....	26
2.2.2 Chemikalien	27
2.2.3 Lösungen.....	28
2.2.4 Antikörper	31
2.3 Methoden.....	31
2.3.1 Proteinextraktion.....	31
2.3.2 Western Blot	32
2.3.3 Proteinidentifikation	33
2.3.4 Auswertung.....	34

2.3.5 Statistik	35
3 Ergebnisse	36
3.1 Charakteristika der Studienpopulation	36
3.2 Zusammenhang zwischen plazentarer PPAR γ -Konzentration und mütterlichen Parametern.....	38
3.2.1 PPAR γ und Rauchen	38
3.2.2 PPAR γ und Diabetes mellitus	39
3.2.3 PPAR γ und systolischer/diastolischer Blutdruck	39
3.2.4 PPAR γ und BMI.....	42
3.2.5 PPAR γ und Alter.....	43
3.3 PPAR-Gamma und die Korrelation mit kindlichen Parametern.....	45
3.3.1 PPAR γ und Geburtsgewicht.....	45
3.3.2 PPAR γ und Gestationsalter	46
3.3.3 PPAR γ und weitere kindliche Parameter.....	47
4 Diskussion.....	48
4.1 Plazentare PPAR γ -Konzentration und Parameter der Mutter	48
4.1.1 Tabakkonsum der Mutter	48
4.1.2 Diabetes mellitus der Mutter	50
4.1.3 BMI der Mutter	52
4.1.4 Blutdruck der Mutter	54
4.2 Plazentare PPAR γ -Konzentration und kindliche Parameter.....	56
4.2.1 Geburtsgewicht.....	56
4.2.2 Gestationsalter und andere kindliche Parameter	57
4.3 Limitationen der Arbeit	58
Literaturverzeichnis.....	60
Eidesstattliche Erklärung	79
Lebenslauf.....	81
Danksagung	82

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Liste der verwendeten Geräte.....	26
Tabelle 2. Liste der verwendeten Verbrauchsmaterialien.	27
Tabelle 3. Liste der verwendeten Chemikalien.....	27
Tabelle 4. Liste der verwendeten Antikörper.	31
Tabelle 5. Charakteristika der Mütter.	36
Tabelle 6. Charakteristika der Kinder.....	37
Tabelle 7. Proteinkonzentration der Plazenten.....	37

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Programmierungsfaktoren der kardiovaskulären Erkrankungen des Erwachsenen (Visentin et al., 2014).....	13
Abbildung 2. Advanced Fetal Programming Hypothese (Modifiziert nach Hocher, 2014).....	17
Abbildung 3. Schematische Darstellung der Domänen des PPAR (Oates et al., 2002).....	18
Abbildung 4. Regulatorische Rolle des PPAR γ in der Schwangerschaft und mögliche Mechanismen die zu einer pathologischen Schwangerschaft führen (Kadam et al., 2015).....	23
Abbildung 5. Beispielbild des PPAR γ	34
Abbildung 6. Beispielbild des Aktins.	34
Abbildung 7. Relative plazentare PPAR γ -Konzentration abhängig vom Raucherstatus der Mutter.....	38
Abbildung 8. Relative plazentare PPAR γ -Konzentration abhängig vom Leiden an Diabetes mellitus der Mutter.	39
Abbildung 9. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration und der systolische Blutdruck im 3. Trimenon in Quintilen dargestellt.	40
Abbildung 10. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration und der diastolische Blutdruck im 3. Trimenon in Quintilen dargestellt.....	41
Abbildung 11. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration in Quintilen dargestellt, in denen die Mütter nach BMI-Wert vor der Schwangerschaft eingruppiert sind.	42
Abbildung 12. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration in Quintilen dargestellt, in denen die Mütter nach BMI-Wert im 3. Trimenon eingruppiert sind.	43
Abbildung 13. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration in Quintilen dargestellt, in denen die Mütter nach Alter eingruppiert sind.....	44
Abbildung 14. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration bei verschiedenen Geburtsgewichten.....	45
Abbildung 15. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration abhängig vom Gestationsalter.....	46

Abkürzungsverzeichnis

15dPGJ ₂	15deoxy $\Delta^{12,14}$ Prostaglandin J ₂
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung
AGA	appropriate for gestational age
APGAR	Punkteschema: Atmung, Puls, Grundtonus, Aussehen, Reflexe
BMI	Body Mass Index = Körpergewicht/(Körpergröße in m) ²
CO	Kohlenstoffmonoxid
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DNA	deoxyribonucleic acid
FATP	fatty acid transport protein
HDL	high-density Lipoprotein
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
iNOS	induzierbare NO-Synthase
KHK	koronare Herzkrankheit
LGA	large for gestational age
mRNA	messenger RNA
ncRNAs	nicht-codierende RNAs
NO	Stickstoffmonoxid
PPAR	Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor
PPRE	PPAR-response-element
ROS	reactive oxygen species
RNA	ribonucleic acid
RNS	nitrogen oxygen species
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
SGA	small for gestational age
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α

Zusammenfassung

Zu den häufigsten Todesursachen von Erwachsenen in Industrieländern gehören kardiovaskuläre Erkrankungen. Die Auslöser für Letztere sind multifaktoriell. Zu den wichtigsten Risikofaktoren gehören Diabetes, Übergewicht und arterielle Hypertonie. Die Ursprünge dieser Erkrankungen können schon vor unserer Geburt „einprogrammiert“ sein. Die Hypothese der fetalen Programmierung besagt, dass sich der in der Entwicklung befindliche Embryo/Fetus an ungünstige intrauterine Bedingungen mittels Adaptationsmechanismen anpassen kann. Solche Adaptionsmechanismen dienen dem unmittelbaren postnatalen Überleben, können sich jedoch im späteren Leben maladaptiv erweisen. Adaptionsmechanismen können die Stressantwort, Organfunktionen und die metabolischen Prozesse des Fetus betreffen und so den Grundstein für die Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen im späteren Leben legen. Initial wurde vor allem die Ernährung der Mutter als Ursache für fetale Programmierung untersucht. Neuere Hypothesen gehen davon aus, dass auch gewisse Gene der Mutter trotz fehlender Weitergabe an den Fetus durch eine ungünstige Beeinflussung des intrauterinen Milieus fetale Adaptionsmechanismen induzieren können. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob es Assoziationen zwischen der plazentaren Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptor gamma (PPAR γ) - Proteinkonzentration und mütterlichen und kindlichen Parametern gibt. Der PPAR γ ist an Prozessen, welche unmittelbar mit Diabetes, kardiovaskulären Erkrankungen und Adipositas verbunden sind, beteiligt. Des Weiteren nimmt PPAR γ unmittelbar an der Plazenta-Entwicklung teil und beeinflusst somit die Versorgung des Fetus.

Aus 325 Plazenta-Proben wurde mittels Western Blot die plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration bestimmt. Diese Werte wurden mit mütterlichen und kindlichen Parametern, welche dem Mutterpass oder einem standardisierten Interview entnommen wurden, verglichen.

Die statistische Auswertung ergab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration und mütterlichen und kindlichen Parametern. Eine der möglichen Erklärungen wäre, dass in unserer Studie nur eine Messung der PPAR γ -Proteinkonzentration zum Zeitpunkt der Geburt und nur eine Bestimmung der Konzentration des PPAR γ in der Plazenta erfolgte.

Obwohl in dieser Arbeit keine Assoziationen zwischen der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration und mütterlichen und kindlichen Parametern gefunden werden konnten, deutet der heutige Stand der Forschung auf solche hin. Bis jetzt weiß man, dass es Hinweise auf Zusammenhänge zwischen dem plazentaren PPAR γ und Diabetes, Hypertonus oder BMI der Mutter und dem Geburtsgewicht des Kindes gibt. Es fehlt jedoch an einem eindeutigen Erklärungsmodell.

Abstract

The most frequent cause of death among adults in developed countries are cardiovascular diseases. The pathogenesis of cardiovascular diseases is complex, however, obesity and diabetes play a central role. It was shown that the origins of these diseases can be „programmed“ before we are born. The fetal programming hypothesis states that a developing fetus can adapt to disadvantageous environments through different mechanisms. Immediately after birth this can enhance the chance of survival but later on could prove as maladaptive. These adaptation mechanisms can affect the stress response, organ function or metabolic processes of the fetus and thereby may lay the foundation for the development of cardiovascular diseases in later life. Initially, studies were investigating maternal nutrition as the cause of the fetal programming. A new hypothesis assumes that also certain maternal genes can induce the fetal adaptation mechanisms by an unfavorable influence of the intrauterin environment and without their inheritance to the offspring. In this thesis the association between the placental peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) protein concentration and maternal and neonatal parameters was analysed. PPAR γ takes part in many processes that are connected to diabetes, cardiovascular diseases and obesity. Moreover, the receptor is involved in placenta development from early stages on and in this way may affect the supply of the fetus. The placental PPAR γ protein concentration was determined in 325 placenta samples by the Western Blot procedure. Afterwards statistical analyses regarding potential associations with maternal and neonatal parameters were performed. Maternal and neonatal data were obtained via standardised interview or the maternal health passport.

No statistically significant correlation between the placental PPAR γ protein concentration and maternal and neonatal parameters could be made. One explanation for the absence of any significant findings could be that PPAR γ protein concentration was only measured at birth and only in placental tissue. Although in this thesis no associations between the placental PPAR γ protein concentration and maternal and neonatal parameters have been found, current literature suggests otherwise to some extent. There is some evidence that suggests a connection between the placental PPAR γ and diabetes, hypertension or BMI of the mother and the birth weight of the child. A model to clearly explain these associations is missing as of today.

1 Einleitung

Umwelteinflüsse können die Entwicklung von Organismen mitbestimmen und sind besonders in der Gravidität von großer Relevanz. Nicht nur die kindlichen Gene modulieren die spätere Gesundheit oder Krankheit, sondern auch die Umgebung und das individuelle Verhalten der Mutter während der Schwangerschaft. Besonders kommen diese in der pränatalen Phase zur Geltung, in welcher die Entwicklung in gesteigerter Geschwindigkeit verläuft. In diesen frühen Entwicklungsphasen ist der Embryo bzw. Fetus besonders anfällig gegenüber Umweltfaktoren oder intrauteriner Dysregulation.

Heute ist durch mehrere Studien belegt, dass beispielsweise Mangelernährung sowie der Konsum von Tabak und Alkohol negative Einflüsse auf den Fetus haben, was auch unmittelbar nach der Geburt messbar ist. Seit mehr als 40 Jahren weiß man zudem, dass solche Negativeinflüsse nicht nur auf die postnatale Phase begrenzt sind, in welcher man unmittelbare Auswirkungen beobachten kann. Die in der pränatalen Phase entstandenen Veränderungen und Adaptationsmechanismen begleiten die Menschen bis in das Erwachsenenalter und werden mit späteren Krankheiten in Verbindung gesetzt.

Unser Erbgut, das Genom, bedingt unser Wachstums- und Entwicklungspotential. In welchem Ausmaß dieses ausgeschöpft wird, ist von vielen Umwelteinflüssen abhängig. Welche Mechanismen hierbei entscheidend sind, ist noch nicht eindeutig geklärt. Eine akkurate Darlegung dieser Prozesse benötigt weitere Forschungsarbeit. Wir wissen heute, dass es sich hier um ein komplexes Zusammenspiel zwischen maternalen, fetalen und plazentaren Faktoren handelt, deren Mechanismen sich auf vielen Ebenen abspielen.

1.1 Fetale Programmierung

Die fetale Programmierung beschreibt den unmittelbaren Einfluss pränataler intrauteriner Faktoren auf die spätere Entwicklung eines Individuums. Dieser Begriff wurde vor etwa 30 Jahren durch den Epidemiologen David Barker geprägt. Letzterer untersuchte den Zusammenhang zwischen geografischer Inzidenz der ischämischen

Herzkrankheit der Jahre 1968-1978 und der Kindersterblichkeitsraten 50 Jahre davor (Barker et al., 1989). Die geografische Übereinstimmung dieser Ereignisse ließ Barker vermuten, dass das erhöhte Risiko für die ischämische Herzkrankheit bereits von Geburt an vorhanden sein muss. Als ausschlaggebend für die Kindersterblichkeit identifizierte er ein niedriges Geburtsgewicht, welches in der Folgestudie wiederum als ein Risikofaktor für spätere koronare Herzkrankheit (KHK) identifiziert wurde (Barker et al., 1993). Auf diesen epidemiologischen Daten beruhend formulierte Barker eine Behauptung, welche heute als sogenannte „Barker-Hypothese“ bekannt ist. Diese besagt, dass der Fötus, wenn er intrauterin ungünstigen Faktoren ausgesetzt wird (z.B. Malnutrition), nicht nur in der früh-postnatalen Phase eine erhöhte Morbidität und Mortalität aufweist, sondern auch ein höheres Risiko besteht, dass dieser als Erwachsener an ischämischer Herzkrankheit erkrankt (Hales und Barker, 2001). Daraus folgt, dass nicht nur die Gene, sondern auch der Lebensstil der Mutter und ein schädliches intrauterines Milieu für spätere Erkrankungen eine wesentliche Rolle spielen. Die Barker-Hypothese wurde in zahlreichen Studien geprüft, weiterentwickelt (Leon et al., 1998; Wadhawa et al., 2009) und bereits kurz nach ihrer Formulierung zur sogenannten Thrifty-Phenotype-Hypothese weiter ausgebaut.

Dieses Erklärungsmodell besagt, dass durch die intrauterine fetale Malnutrition metabolische Adaptationsmechanismen in die Wege geleitet werden, welche dem Fetus nicht nur die besten Wachstums- und Überlebensperspektiven sichern sollen, sondern diesen auch auf eine Unterversorgung in der postnatalen Phase vorbereiten. Dies scheint ein wichtiger Adaptationsmechanismus des neuen Organismus zu sein, welcher ihm hilft, die Homöostase trotz ungünstiger Umgebung aufrechtzuerhalten und somit die Überlebensperspektiven zu steigern. Die Adaptationsmechanismen des Fetus können zu dauerhaften Veränderungen des Phänotyps und im späteren Leben zu gesundheitlichen Problemen führen (Perrone et al., 2016), insbesondere dann, wenn sich diese Adaptationsvorgänge als pathologisch erweisen, beispielsweise, wenn es zu einem „mismatch“, also einem Ungleichgewicht zwischen intrauteriner Malnutrition und einer nährstoffreichen Umgebung nach der Geburt kommt. Die Tragweite dieser Vorgänge spiegelt sich in erhöhtem Risiko für Krankheiten im späteren Leben wider (Hales et al., 1991, Hales und Ozanne, 2003). Ein niedrigeres Geburtsgewicht, insbesondere gefolgt von schneller postnataler Gewichtszunahme („mismatch“), ist mit einem erhöhten Risiko verbunden im späteren Leben an

Übergewicht, Insulinresistenz, kardiovaskulären Erkrankungen und Malignomen zu erkranken (Barker, 2012).

Sehr eindrucksvoll wurde die Thrifty-Phenotype-Hypothese in der sogenannten holländischen Hungerwinter-Studie veranschaulicht. In dieser retrospektiven Arbeit wurden Erwachsene untersucht, die intrauterin den sogenannten „Hungerwinter“ von Dezember 1944 bis April 1945 erlebt hatten (Ravelli et al., 1998, 1999). In dieser Zeit sank die tägliche Kalorienzufuhr auf 20-40% der zuvorigen und anschließenden Werte. Ein Vergleich zwischen den Individuen, welche pränatal einer Mangelernährung ausgesetzt waren und denen, die ein Jahr zuvor oder danach geboren wurden, konnte verdeutlichen, dass die „Hungerwinter-Kinder“ nicht nur ein niedrigeres Geburtsgewicht besaßen, sondern auch fünfzig Jahre später eine gestörte Glukosetoleranz aufwiesen (Ravelli et al., 1998).

Wenn es zu Beeinträchtigungen der optimalen pränatalen Umgebung kommt, sind besonders die kritischen Phasen des intrauterinen Wachstums gefährdet, was in der holländischen Hungerwinter-Studie sehr gut veranschaulicht wurde. Die Nahrungsmittel-Unterversorgung, retrospektiv betrachtet, trat in verschiedenen Schwangerschaftsphasen auf. Die Folgen für den Fetus waren jedoch nicht gleich. Besonders in frühen Phasen der Schwangerschaft, die durch Organogenese und hohe Zellproliferation gekennzeichnet sind, hatte eine Kalorienrestriktion besonders gravierende Auswirkungen (Ravelli et al., 1998).

Weitere Belege für die Thrifty-Phenotype-Hypothese boten Zwillingstudien. Eine dänische Studie untersuchte ein- und zweieiige Zwillinge und das Auftreten von Diabetes mellitus Typ 2. Die Ergebnisse zeigten, dass der später an Diabetes erkrankte Zwilling ein signifikant niedrigeres Geburtsgewicht aufwies als der nicht erkrankte Zwilling (Poulsen et al., 1997). Dies konnte sowohl bei mono- als auch bei dizygoten Zwillingen nachgewiesen werden. Die Autoren konnten so Faktoren wie Gestationsalter, Geburtsreihenfolge, Geschlecht und deren möglichen Einfluss auf das signifikant niedrigere Geburtsgewicht des diabeteserkrankten Zwillings im Vergleich zum gesunden Zwilling ausschließen. Noch wichtiger, die Ergebnisse bei monozygoten Zwillingen, die genetisch identisch sind, zeigten, dass sich das niedrige Geburtsgewicht künftig bei Diabeteserkrankten nicht nur allein durch das Zusammentreffen einer genetischen Prädisposition und einer Beeinträchtigung des intrauterinen Wachstums erklärbar ist.

Die Thrifty-Phenotype-Hypothese besagt, dass der Fetus sich der Situation anpassen kann, wenn es in der fetalen Umgebung zu einem Mangel an essentiellen Faktoren oder zu einem Auftreten schädlicher Faktoren kommt. Hierzu wird das Wachstum von lebensnotwendigen Organen wie dem Gehirn auf Kosten anderer, weniger wichtiger für das Überleben begünstigt. Dieser Adaptationsmechanismus kann zu strukturellen, physiologischen und metabolischen Veränderungen führen, welche die kardiometabolische Gesundheit im späteren Leben beeinflussen. Dies ist unter dem Begriff Entwicklungsplastizität (Developmental Plasticity/Programming) bekannt, und stellt eine Anpassung der genetischen Veranlagung an die auftretenden Umweltbedingungen und als Folge die Entstehung verschiedener Phenotypen (Visentin et al., 2014) (Abb. 1) dar.

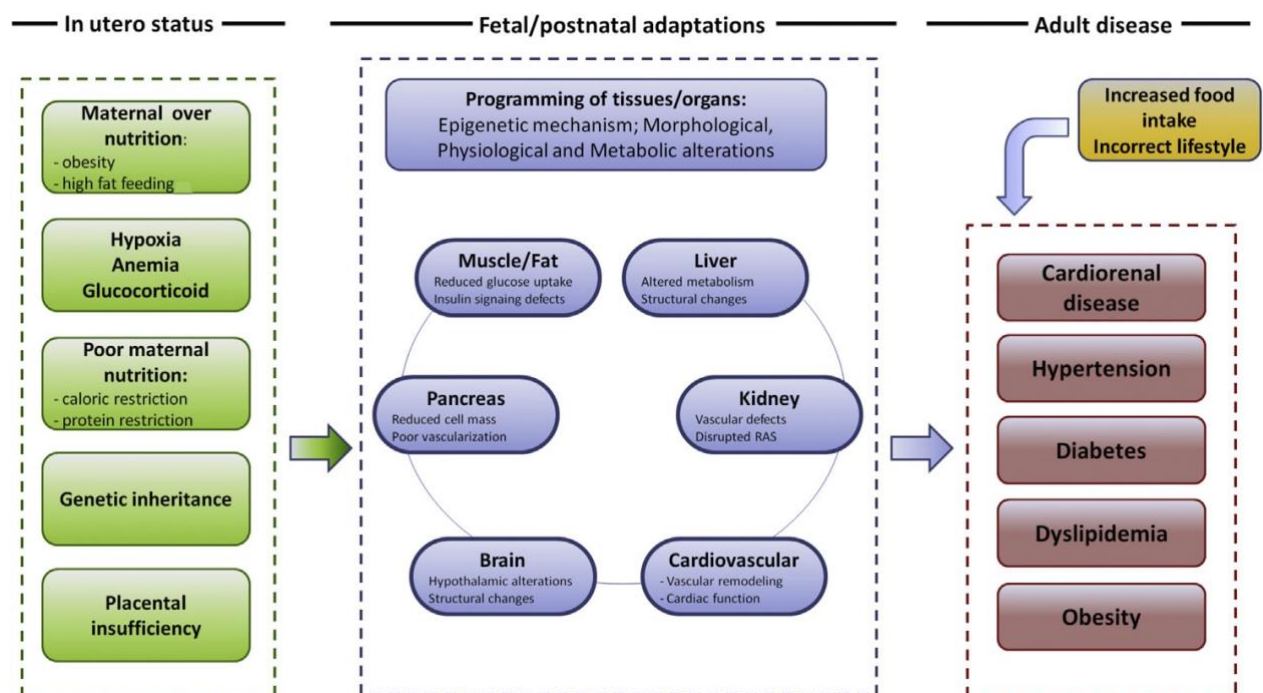


Abbildung 1. Programmierungsfaktoren der kardiovaskulären Erkrankungen des Erwachsenen. Genetisches Erbgut und Umweltfaktoren initiieren eine Programmierung des vaskulären, kardialen, renalen und neuroendokrinen Systems sowie Fettgewebes (Visentin et al., 2014).

Weitere Untersuchungen deuteten darauf hin, dass auch eine zu schnelle postnatale Gewichtszunahme als Ausgleich der malnutritiven pränatalen Umgebung ein kritischer Faktor für das Auftreten späterer Erkrankungen sein kann (Leon et al., 1996; Eriksson

et al., 1999). Schnelle Gewichtszunahme bei niedriggewichtigen Neugeborenen kann schon im Alter von 7 Jahren zu einer gestörten Glukosetoleranz (Crowther et al., 1998; Eriksson et al., 2003) und in der späteren Entwicklung zu Diabetes mellitus Typ 2 beitragen (Ong et al., 2000). Diese Gewichtszunahme führt vorwiegend zur Akkumulation des Fettgewebes, vor allem des viszeralen Fettanteils (Harrington et al., 2004), statt zu einer Zunahme der Muskelmasse (Law et al., 1992).

Es zeigte sich auch bald, dass nicht nur die intrauterine Unterversorgung und ein geringes Geburtsgewicht (bezogen auf das Gestationsalter: small for gestational age, SGA) in der fetalen Programmierung eine Rolle spielen, sondern auch intrauterine Überversorgung und ein zu hohes Geburtsgewicht (bezogen auf das Gestationsalter: large for gestational age, LGA). Studien zeigten, dass mütterliches Übergewicht/Überernährung oder Gestationsdiabetes ein erhöhtes Geburtsgewicht und in der späteren Entwicklung des Kindes Übergewicht und die Entwicklung eines metabolischen Syndroms (abdominelle Fettleibigkeit, arterielle Hypertonie, Lipidstoffwechselstörung und Insulinresistenz) begünstigen (Djelantik et al., 2012; Catalano et al., 2009, Boney et al., 2005). Das Konzept der fetalen Programmierung besagt, dass bei nachteiligen Umweltfaktoren intrauterin der Fetus verschiedene Adaptationsmechanismen entwickelt und ausbildet, welche ihm die Überlebenschancen vor und nach der Geburt sichern sollen. Diese Adaptationsmechanismen geben den Anfang einer gewissen „Fehlprogrammierung“ der Stressantwort, Organfunktionen und der metabolischen Prozesse des Fetus. Dies resultiert in Veränderungen, partiell bereits unmittelbar in der postnatalen Phase und, noch gravierender, ebnet den Weg zahlreicher möglicher Erkrankungen im Erwachsenenalter. Diese Zusammenhänge betreffen nicht nur die metabolischen und kardiovaskuläre Erkrankungen, sondern auch Asthma, Dermatitis, Krebs sowie psychische Störungen wie ADHS, wie weitere Studien verdeutlichten (Barker, 1995; Solano et al., 2016; Glower et al., 2018).

1.1.1 Die Mechanismen der fetalen Programmierung

Die Veränderungen der intrauterinen Nährstoffzufuhr, des endokrinen und kardiovaskulären Status beeinflussen die Expression des fetalen Genoms, so dass der Fetus sich während seiner Entwicklung an die Umweltveränderungen anpassen kann.

In diesem Rahmen bestimmt das Genom des Fetus nur das Potential des intrauterinen Wachstums, das tatsächliche Wachstum wird jedoch durch die umweltassoziierten Einflüsse bestimmt. Die fetale Programmierung kann die individuelle Genexpression jeder Phase der intrauterinen Entwicklung beeinflussen. Letzteres resultiert in den Veränderungen der biologischen Funktionen auf der Molekularebene, wie zum Beispiel der Änderung der Rezeptordichte, der Rezeptoraffinität bis hin zu anhaltenden hormonellen Veränderungen, Modifikationen des Metabolismus und der Reaktionen auf physiologische Stressoren (Cunningham und Cameron, 2003). Diese Prozesse werden als phänotypische Plastizität, die durch epigenetische Mechanismen vermittelt werden, verstanden (Reichetzeder et al., 2016).

Die heutige Forschung beschreibt die Mechanismen der fetalen Programmierung auf vier Ebenen (Godfrey et al., 2011):

- Genomische Prägung (epigenetische Mechanismen)
- Veränderung der Zelle (Funktionsveränderung der Mitochondrien, Einfluss auf Rezeptordichte)
- Organveränderung (Veränderung der Struktur, Vaskularisation, Zusammensetzung)
- Regulation der Homöostase (endokrine Veränderung)

Epigenetik beinhaltet alle meiotisch und mitotisch vererbaren Veränderungen der Genexpression ohne Modifikation der DNA-Sequenzen (Indrio et al., 2017). Der Zeitraum, in dem die meisten epigenetischen Modifikationen der DNA stattfinden, dauert von der Befruchtung bis ca. zum Alter von 2 Jahren (Bhutta et al., 2013).

Zu den wichtigsten epigenetischen Mechanismen gehören die Histonmodifikation, die DNA-Methylierung und regulatorische Effekte auf die nicht-codierende RNAs (ncRNAs) (Marciniak et al., 2017). Epigenetische Mechanismen regulieren wie erreichbar die DNA für die Transkription ist, wie effizient Letztere abläuft und wie stabil die bereits transkribierte RNA (mRNA) ist (Lane, 2014). Der am gründlichsten untersuchte epigenetische Mechanismus ist die DNA-Methylierung, welche zu einer Kondensierung des Chromatins führt und auf diese Weise den Zugang zur DNA für Transkriptionsmechanismen einschränkt respektive erschwert (Yamada und Chong, 2017).

1.2 Die Plazenta und ihre Rolle in der Schwangerschaft

Die Plazenta verbindet die Mutter und den Fetus während der Schwangerschaft. Sie wird aus embryonalem (Trophoblast) und mütterlichen Gewebe (Endometrium) gebildet. Ihre endgültige Struktur wird um die 14. Schwangerschaftswoche erreicht. Beim Geburtstermin liegt der Durchmesser bei ca. 20 cm, die Dicke bei 2-4 cm und das Gewicht bei ca. 500 g (Weyerstahl et al., 2013). Die Hauptfunktionen der Plazenta sind die Versorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff, der Abtransport von Exkretionsprodukten und Kohlenstoffdioxids (CO₂) und die Produktion und Sekretion vieler Hormone, Zytokine und Signalmoleküle (Jansson and Powell, 2007). Die Plazenta ist ein dynamisches endokrines Gewebe, welches auf die Veränderung des maternalen Milieus reagiert und dieses auch beeinflusst. Ihre Funktion ist ausschlaggebend für das fetale Wachstum und die fetale Entwicklung (Nugent and Bale, 2015). Studien zeigten, dass mütterliches Verhalten wie Unter- oder Überernährung, Rauchen, Drogen- oder Alkoholkonsum sowie Infektionen und Stress zu Veränderungen der plazentaren Physiologie beitragen können. Diese variieren von morphologischen Veränderungen, die das Plazentagewicht betreffen, bis hin zu subtilen Veränderungen der plazentaren Genexpression, welche zur Modifikation der fetalen Versorgung führen kann (Gheorghe et al., 2010; Godfrey and Barker, 1995). Dadurch kommt es häufig zur sowohl plazentaren wie auch fetalen Wachstumsretardierung, was Langzeitauswirkungen auf die Gesundheit des Nachkommens haben kann (Nugent and Bale, 2015).

1.3 Advanced Fetal Programming Hypothese

Eine weiterentwickelte Hypothese der fetalen Programmierung stellt die „Advanced Fetal Programming Hypothesis“ dar (Hochoer et al., 2001). Es wird postuliert, dass nicht nur exogene Faktoren, wie beispielsweise die Ernährung der Mutter, sondern auch die mütterlichen Gene zur fetalen Unter- bzw. Fehlernährung beitragen und somit das Adaptationsverhalten und die damit verbundenen metabolischen Veränderungen beeinflussen.

Maternale Gene können also den fetalen Phänotyp unabhängig von dem fetalen Genotyp prägen (Hochoer, 2014). In klinischen Studien konnte herausgearbeitet werden, dass gewisse mütterliche Gene eine Auswirkung auf den fetalen Phänotyp unabhängig von ihrer Übertragung auf den Nachwuchs haben (Hochoer et al., 2001;

Wang et al., 2002; Miodovnik et al., 2012). Es konnte dargestellt werden, dass die Auswirkung des maternalen Tabakrauchens auf das Geburtsgewicht über einen maternalen metabolischen Genpolymorphismus moduliert wird (Wang et al., 2002). Eine andere Studie stellte pathologische adaptative Reaktionen (aus dem ADHS-Kreis) bei männlichen Nachkommen fest, deren Müttern ein Genpolymorphismus aufwies, welcher die Biosynthese und den Metabolismus der Sexualhormone kontrolliert. Dieser Genpolymorphismus trat beim Nachkommen nicht auf (Miodovnik et al., 2012).

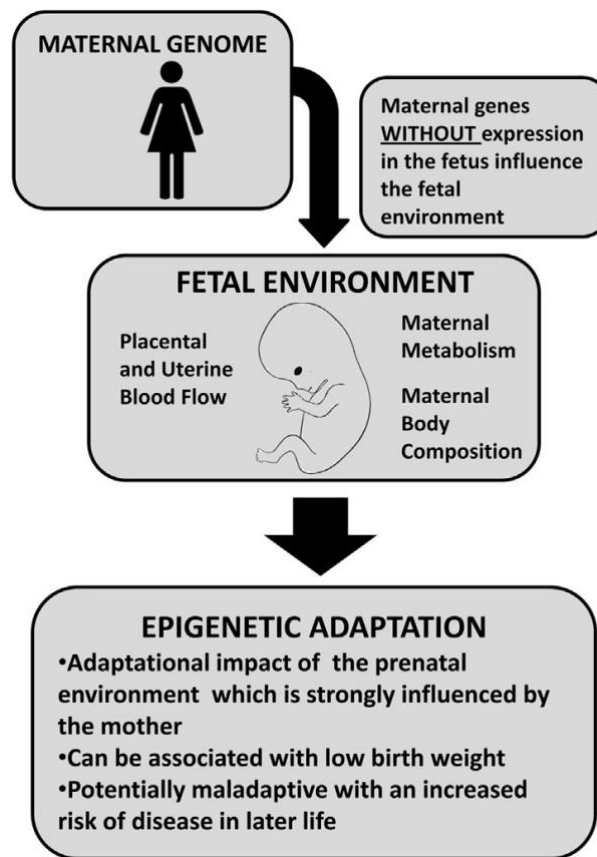


Abbildung 2. Advanced Fetal Programming Hypothese (Modifiziert nach Hocher, 2014).

1.4 PPAR

Die *peroxisome proliferator-activated receptors* (Peroxisom Proliferator-aktivierte Rezeptoren: PPARs) sind intrazelluläre Rezeptoren, welche, nachdem sie von einem Liganden aktiviert wurden, als Transkriptionsfaktoren der Genexpression verschiedene metabolische Prozesse regulieren, wie beispielsweise den Fettsäure- und Glukosestoffwechsel (Berger und Moller, 2002). Den Namen verdanken die Rezeptoren der Beobachtung, dass die Stimulation dieser Proteine zu einer Proliferation der Peroxisome in der Leber von Nagetieren führte (Issemann und Green, 1990). Beim Menschen konnte dieser Prozess nicht nachgewiesen werden, jedoch wurde der Name des Rezeptors beibehalten.

Die PPARs gehören zur Familie der ligand-aktivierten nukleären Rezeptoren, die zu der Steroidrezeptor-Superfamilie gehören (Berger und Moller, 2002). Nach einer Interaktion mit entsprechenden Liganden an den Kernrezeptoren, werden diese in den Kern der Zelle verschoben, wo sie ihre Struktur verändern und somit die Gentranskription regulieren können (Feige et al., 2006).

Strukturell sind PPARs aus 4 Domänen aufgebaut. Die A/B-Region beinhaltet die erste Aktivierungsstelle des Rezeptors, was ohne Hilfe eines Liganden passiert (activation function 1, AF1), die C-Region stellt die DNA-bindende Domäne dar, die D-Region (auch Hinge-Region) ist die Bindungsstelle für Kofaktoren und die E/F-Region beinhaltet die liganden-bindende Domäne mit der darin enthaltenen ligandenabhängigen Aktivierungsdomäne (AF2), welche die Aktivierung von Kofaktoren und Transkription fördert (Oates et al., 2002).

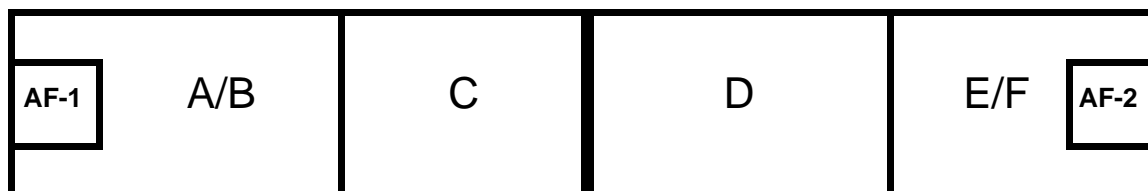


Abbildung 3. Schematische Darstellung der Domänen des PPAR (Oates et al., 2002). Beschreibung im Text.

Nach Interaktion mit einem Agonisten werden die PPARs in den Zellkern transloziert, wo sie mit dem Retinoid-X-Rezeptor (RXR) erneut interagieren und ein Heterodimer bilden. Dieser Komplex dockt anschließend an eine spezielle Bindungsstelle, das PPAR-response-element (PPRE) im Kern an. PPREs befinden sich an der DNA-Sequenz der Promotorregion von Zielgenen. So wird die Transkription vieler Gene beeinflusst (Berger und Moller, 2002). Die Funktion von PPARs wird durch zahlreiche Koaktivatoren und Korepressoren modifiziert, welche die Rezeptorfunktion entweder stimulieren oder hemmen (Viswakarma et al., 2010). PPARs können durch physiologische oder pharmakologische Liganden aktiviert werden.

Bei Menschen konnten bis heute drei PPAR-Isotypen identifiziert werden: PPAR α , PPAR β/δ und PPAR γ (Berger und Moller, 2002). Jede dieser drei Formen wird durch ein eigenes Gen kodiert, hat eine unterschiedliche Verteilung in Geweben, eigene ligandenbezogene Charakteristiken und unterschiedliche physiologische Funktionen (Kota et al., 2005). Alle PPAR-Isotypen nehmen aktiv am Lipid- und Glukosestoffwechsel und deren Regulation teil.

PPAR α wird in metabolisch sehr aktiven Geweben wie Leber, Herz, Skelettmuskeln exprimiert, glatten Muskeln des Darmes und braunem Fettgewebe (Bookout et al., 2006, Issemann und Green, 1990) aber auch Endothelzellen, Makrophagen und Monozyten (Rigamonti et al., 2008) und spielt sowohl eine Rolle im Lipidstoffwechsel (β -Oxidation, Lipidaufnahme) als auch bei antientzündlichen Prozessen.

PPAR β/δ ist der am wenigsten untersuchte Isotyp. Er ist ubiquitär in nahezu allen Geweben exprimiert, jedoch besonders stark in Leber, Darm, Nieren, abdominellem Fettgewebe und in der quergestreiften Muskulatur repräsentiert. PPAR β/δ nimmt an der β -Oxidation teil und reguliert den Cholesterols- und Glukosespiegel (Berger und Moller, 2002; Bojic und Huff, 2012).

PPAR γ wird in weißem und braunem Fettgewebe, im Dickdarm, in der Plazenta, in Endothelzellen und in den Makrophagen exprimiert (Sarraf et al., 1999; Ricote et al., 1998; Marx et al., 1999) Die höchste Expression findet sich jedoch in den Adipozyten, wo PPAR γ die Schlüsselrolle bei der Adipogenese, Energiestoffwechsel und Lipogenese spielt (Chawla et al., 1994; Tononoz et al., 1994).

Allgemein kann man sagen, dass PPAR α und PPAR β/δ hauptsächlich zur Energieverwertung und PPAR γ zur Energiesynthese beitragen (Grygiel-Gorniak, 2014).

1.4.1 PPAR γ

Das PPAR γ Gen beinhaltet drei Promotersequenzen für drei Isoformen: PPAR γ -1, PPAR γ -2 und PPAR γ -3. Die transkribierte RNA von PPAR γ -1 und PPAR γ -3 nach Translation ergibt dasselbe PPAR γ -1 Protein (Fajas et al., 1997; Fajas et al., 1998). Die Expression ist gewebeabhängig. PPAR γ -1 wird nahezu ubiquitär exprimiert, PPAR γ -2 ist ausschließlich auf Fettgewebe beschränkt und PPAR γ -3 wird reichlich in den Makrophagen, im Darm und weißem Fettgewebe exprimiert (Fajas et al., 1998). Forscher haben im Tierexperiment nachgewiesen, dass PPAR γ -Knockout-Mäuse einen reduzierten Fettgewebeanteil (heterozygoter Knockout) bzw. Lipodystrophie zeigten (homozygoter Knockout) (Barak et al., 1999). Medina-Gomez et al. (2007) kamen zu ähnlichen Ergebnissen bezüglich PPAR γ -2. Die Studie zeigte auch, dass PPAR γ -2 die Lipotoxizität durch unterschiedliche Mechanismen verhindert. Einerseits geschieht dies durch Vermehrung des Fettgewebes, das Vergrößern der Lipidaufnahme und somit der Pufferkapazität peripherer Organe wie Leber, Skelettmuskeln und Beta-Zellen des Pankreas, andererseits durch eine proliferative Antwort der Beta-Zellen des Pankreas auf Insulinresistenz.

Normalerweise ist PPAR γ inaktiv, gebunden entweder als Homodimer an einen anderen PPAR γ oder als Heterodimer an den Retinoid-X-Rezeptor (RXR). Im inaktiven Zustand wird die AF2-Stelle durch einen Korepressor blockiert, was die Aktivierung durch Bindung eines Koaktivators verhindert. Nachdem sich ein Ligand mit dem Dimer verbindet, wird die Bindung mit dem Korepressor gelöst und der Rezeptorkomplex aktiviert (Westin et al., 1998). Dieser PPAR γ -Liganden-Komplex kann sich nun an das PPRE der Zielgene binden. Zu den natürlichen Liganden und Aktivatoren des PPAR γ gehören die mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie Arachidonsäure und Docosahexaensäure (Trombetta et al., 2007) und ein bioaktiver Metabolit des Prostaglandin D₂, 15deoxy $\Delta^{12,14}$ Prostaglandin J₂ (15dPGJ₂), ein sehr potenter endogener Ligand (Forman et al., 1995). Synthetische Liganden des PPAR γ beinhalten vor allem Glitazone, orale Antidiabetika, welche die Empfindlichkeit der Zellen auf Insulin verbessern (Khan et al., 2000; Fujiwara et al., 1988).

In mehreren tierexperimentellen Studien wurde nachgewiesen, dass PPAR γ im Fettgewebe als ein essentieller Mediator zur Aufrechterhaltung der Insulinsensitivität des Körpers fungiert (He et al., 2003; Hevener et al., 2003; Koutnikova et al., 2003).

Einerseits schützt Fettgewebs-PPAR γ andere Gewebe und Organe vor einem Lipidüberschuss und andererseits kann durch eine adäquate Produktion und Sekretion von Adipozytokinen (Adiponectin und Leptin) aus dem Fettgewebe die Insulinwirkung im Körper moduliert werden (He et al., 2003). Hier kamen auch die ersten therapeutische Lösungen in Form von Glitazonen und oralen Antidiabetika, welche als synthetische Liganden den PPAR γ aktivieren, zum Einsatz (Kahn et al., 2000).

Bedeutungsvoll ist PPAR γ darüber hinaus für den Lipidstoffwechsel und reguliert hier Gene, welche an Freisetzung, Transport und Speicherung von Fettsäuren, wie Lipoprotein Lipase und Fettsäuretransporter CD 36, beteiligt sind (Ren et al., 2002; Medina-Gomez et al., 2007). PPAR γ ist auch in dem Endothel, der glatten Muskulatur der Gefäßwand und den Makrophagen vorhanden. Dort fungiert er als wichtiger Modulator in den antiinflammatorischen und atherosklerotischen Prozessen (Yu et al., 2016).

1.4.2 PPAR γ und Schwangerschaft

Es ist bekannt, dass PPAR γ in Entwicklung und Funktion der Plazenta stark involviert ist (Barak et al., 1999). Vor allem in der Differenzierung des Trophoblasten, der Invasion, der Implantation und im Dezidualisierungsprozess spielt PPAR γ eine wichtige regulatorische Rolle (Fournier et al., 2002; Pavan et al., 2003). Nachkommen von homozygot-PPAR γ -defizienten Mäusen versterben schon während der Embryonalphase aufgrund einer erheblichen Störung der plazentaren Entwicklung und Vaskularisierung (Barak et al., 1999).

Die Liganden des PPAR γ hemmen oder reduzieren in der Plazenta die Produktion und die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen aus den Makrophagen, wie TNF- α , IL-6, IL-8 und induzierbarer NO-Synthase (iNOS) (Lappas et al., 2002, Jiang et al., 1998). Gleichzeitig hemmt der PPAR γ die Rekrutierung und Migration von Makrophagen zu den Orten der Inflammation (Babaev et al., 2005). Lappas et al. (2002) konnten an menschlichen Plazenta-Gewebe nachweisen, dass nach der Inkubation über 6 Stunden mit dem natürlichen Liganden von PPAR γ , dem 15dPGJ $_2$, die Freisetzung und somit die Konzentration von TNF- α , IL-6 und IL-8 in der Plazenta signifikant gemindert war. Diese Zytokine sind mitverantwortlich für Auslösung und Verlauf des Geburtsprozesses, besonders wenn es sich um eine infektionsassoziierte Frühgeburt handelt (Lappas et al., 2002).

Oxidativer Stress beschreibt eine Stoffwechsellage, in der mehr reaktive Verbindungen (reactive oxygen species, ROS; nitrogen oxygen species, RNS) entstehen als physiologisch vorhandene Antioxidantien fähig sind, solche zu neutralisieren. In diesem Zustand kann es zu einer Schädigung von intra- und extrazellulären Makromolekülen kommen (Vlako et al., 2006). In der Schwangerschaft wird exzessiver oxidativer Stress mit vielen Pathologien assoziiert, wie Frühabort (Jauniaux et al. 2000), Diabetes (Rösen et al., 2001) oder Präeklampsie (Sharma et al., 2006).

Stickstoffmonoxid (NO) ist in üblicher Menge ein potenter Vasodilatator, jedoch kann ein erhöhter Spiegel zur Entstehung von RNS führen und somit oxidativen Stress erhöhen. Diabetes, ähnlich wie die Präeklampsie, ist durch eine endotheliale Dysfunktion gekennzeichnet. Zudem tragen die langen Perioden der Hyperglykämie unter anderem durch die Glykation der Proteine zur Entstehung der ROS und RNS bei und erhöhen so den oxidativen Stress (Rösen et al., 2001). Eine Überproduktion von NO wurde in diabetischen Plazenten gefunden und wird als ein Marker für den intrauterinen proinflammatorischen Prozess gesehen, welcher Entwicklung und Funktion der Plazenta beeinträchtigen kann (Jawerbaum und Gonzalez, 2006). Jawerbaum et al. (2004) untersuchten Plazenten an Diabetes erkrankten Müttern und stellten fest, dass das 15dPGJ₂, ein potentes antientzündliches Prostaglandin, über die Aktivierung des PPAR γ die Produktion von plazentaren NO herunterregulieren konnte. Die Menge des plazentaren 15dPGJ₂ war in den Plazenten der an Diabetes leidenden Mütter deutlich niedriger als in der normoglykämischen Kontrollgruppe. Dies verdeutlicht eine weitere bestimmende Funktion des PPAR γ in der Plazenta: die Regulation der Stickstoffmonoxid (NO)-Konzentration.

Der proinflammatorische Zustand und oxidativer Stress können in der Schwangerschaft eine endotheliale Dysfunktion und somit einen arteriellen Hypertonus begünstigen. Ein erhöhter Spiegel des proinflammatorischen Zytokin TNF- α tritt bei hypertensiven Störungen in der Schwangerschaft auf. Noch vor dem Auftreten erster Symptome dieser hypertensiven Störungen konnte eine verminderte Aktivierung des PPAR γ im Serum nachgewiesen werden (Waite et al., 2005). Im Tierexperiment konnte auch gezeigt werden, dass die Hemmung des PPAR γ in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft bei Ratten mit einem niedrigeren Geburtsgewicht

einher ging. Zusätzlich wurde eine verringerte provozierte Vasodilatation der uterinen Arterien festgestellt (Gokina et al., 2013). Die Präeklampsie, charakterisiert durch maternale endotheliale Dysfunktion, manifestiert sich klinisch durch arterielle Hypertension und Proteinurie (Brown et al., 2000). Pathophysiologisch stehen hier arterielle Vasokonstriktion und intravasaler Volumenmangel im Vordergrund. Pathognomonisch für die Präeklampsie ist eine gestörte und zu flache Trophoblasteninvasion (Myatt und Cui, 2004). An den Vorgängen ist, wie bereits oben beschrieben, unmittelbar der PPAR γ beteiligt. Eine Inhibition des PPAR γ in der Schwangerschaft im Tiermodell mit dem Ligand-Inhibitor T0070907 führte zur Entwicklung der Hauptsymptome einer Präeklampsie wie erhöhter mittlerer arterieller Druck, Proteinurie, endotheliale Dysfunktion und einem niedrigeren fetalen Geburtsgewicht (McCarthy et al., 2011).

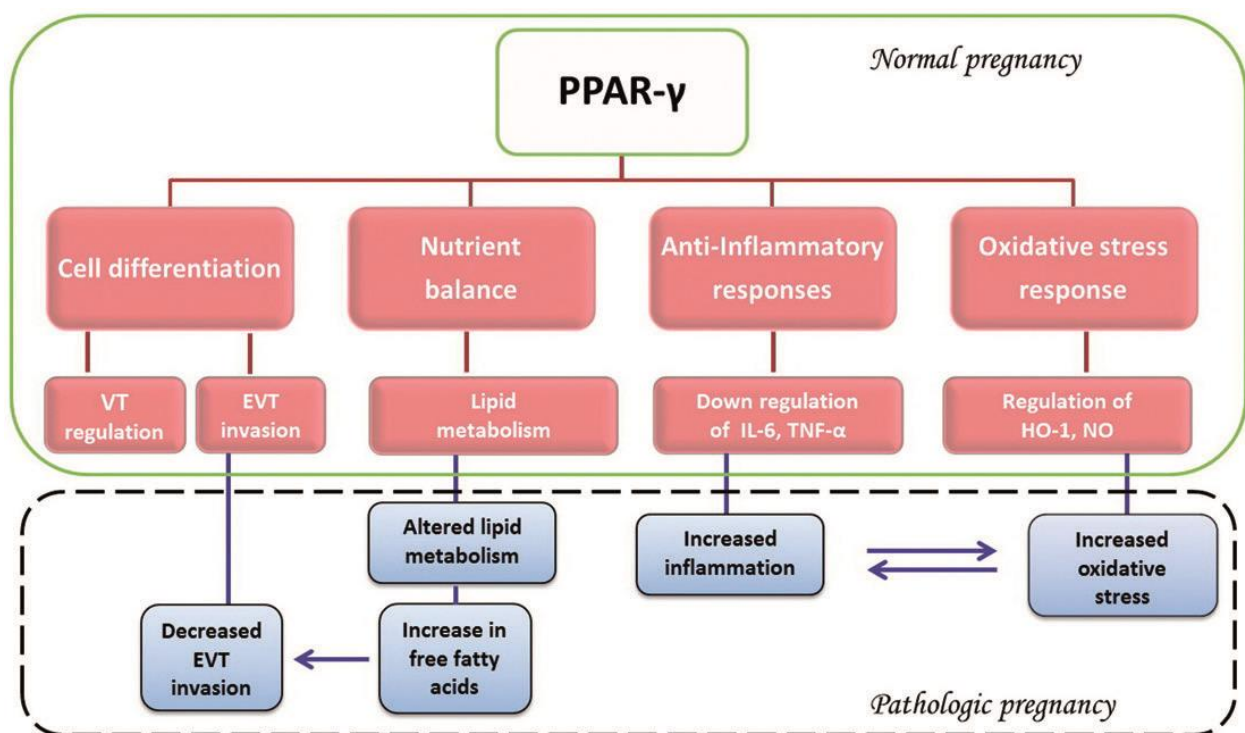


Abbildung 4. Regulatorische Rolle des PPAR γ in der Schwangerschaft und mögliche Mechanismen die zu einer pathologischen Schwangerschaft führen. Die Regulation der Schwangerschaft beruht auf 4 Prozessen: Differenzierung des Trophoblasten, inflammatorischer und oxydativer Antwort und Lipidmetabolism. VT: villous trophoblast; EVT: extravillous trophoblast; IL-6: inter-leukins-6; TNF- α : tumor necrosis factor alpha; HO-1: heme-oxygenase-1; NO: nitric oxide (Kadam et al., 2015).

1.5 Fragestellung

Es gibt vermehrt wissenschaftliche Belege dafür, dass das mütterliche Verhalten wie Ernährung, Rauchen, Stress und die Risikofaktoren in der Schwangerschaft einen direkten Einfluss auf den Fetus beziehungsweise den Neugeborenen haben. Diese Veränderungen können im Erwachsenenalter zur Entwicklung vieler heutiger Zivilisationskrankheiten beitragen, unter anderem Diabetes, Übergewicht und kardiovaskulären Erkrankungen.

PPAR γ ist an der Fettsäureaufnahme, am Glukosestoffwechsel und an der Insulinsensitivität beteiligt und wirkt in der Plazenta an der Differenzierung und Invasion des Trophoblasten mit. Er gehört desweiteren zu den wichtigen Regulatoren des Lipidhaushalts, des Glukosestoffwechsel und antientzündlicher Prozesse. Bis heute sind viele mütterliche und kindliche Parameter in Bezug auf plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration oder -Expression und -Bindungsaffinität an DNA untersucht worden.

In Anbetracht der wichtigen Rolle von PPAR γ und seiner Beteiligung an der plazentaren Entwicklung kann hypothetisiert werden, dass die plazentare Konzentration von PPAR γ einen relevanten Faktor der fetalen Programmierung darstellt. In dieser Arbeit wurde an einem großen Kollektiv (n=325) der Zusammenhang zwischen der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration und mütterlichen und kindlichen Parametern untersucht.

Dazu wurden folgende Fragestellungen konzipiert:

1. Gibt es eine Assoziation zwischen maternalen biologischen Parametern und der PPAR γ -Expression in der Plazenta?
2. Gibt es einen Zusammenhang zwischen neonatalen anthropometrischen Parametern, welche als Surrogatparameter der fetalen Programmierung verwendet werden und der PPAR γ -Expression in der Plazenta?
3. Bestehen darüber hinaus Zusammenhänge zwischen weiteren nach der Geburt erhobenen biologischen Parametern und der plazentaren PPAR γ -Expression?

2 Materialien und Methoden

2.1 Studienplanung und Durchführung

Zwischen Januar 2000 und Dezember 2004 wurde in der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe am Campus Mitte der Charité Universitätsmedizin Berlin eine prospektive Kohortenstudie durchgeführt. Alle Patientinnen, welche in diesem Zeitraum entbunden hatten, wurden gebeten, an dieser Studie teilzunehmen. Dies bedeutete: die Teilnahme an einem strukturierten Interview, Einsicht in Mutterpass und eine Blut- und Plazentaprobeentnahme zur Laboruntersuchung zu gewähren. 93,7% der Frauen willigten ein. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité bewilligt und alle Teilnehmerinnen über das Vorhaben aufgeklärt. Eine Einverständniserklärung wurde unterschrieben.

2.1.1 Datengewinnung

Alle Teilnehmerinnen der Studie absolvierten ein strukturiertes Interview, in welchem biometrische Informationen und Risikoverhalten von Mutter und Vater abgefragt wurden. Die ergänzenden Daten wurden dem Mutterpass entnommen.

Interview

- Biometrische Daten: Alter, Größe, Gewicht vor der Schwangerschaft, Nationalität
- Risikofaktoren: Nikotinkonsum, arterieller Hypertonus, Diabetes, Fettstoffwechselstörungen, diese Erkrankungen in der Familie

Mutterpass:

- Biometrische Daten des Kindes: Größe, Gewicht, Kopfumfang, Geschlecht
- Biometrische Daten der Mutter: Größe, Gewicht vor und während der Schwangerschaft
- Daten zum Schwangerschaftsverlauf: Hypertonus, Diabetes, sonstige Komplikationen während der Schwangerschaft
- Daten zur Geburt: Anzahl der Schwangerschaften und Geburten, Gestationsalter, Geburtslage des Kindes, Geburtsmodus, APGAR-Score

2.1.2 Untersuchungsmaterial:

Die jeweiligen Plazentaprobe wurden aus der Plazentamitte entnommen. Die weitere Verarbeitung des Materials fand am Center for Cardiovascular Research CCR der Charité statt.

2.1.3 Ausschlusskriterien und Probenzahl

Es wurden 343 Teilnehmerinnen in die Studie eingeschlossen. Einige Proben ergaben trotz mehrfacher Verarbeitung kein Resultat. Somit würden aus den 343 Proben 325 nutzbar.

2.2 Materialien

2.2.1 Geräte und Verbrauchsmaterial

Tabelle 1. Liste der verwendeten Geräte.

Gerät	Hersteller
Elektrophoresekammer	TV200, Biotop, Jahnsdorf, Deutschland;
Entwicklermaschine	Curix 60, Agfa, Mortsel, Belgien;
Feinwaage	BL1500S, Sartorius, Göttingen, Deutschland;
Inkubator	Thermomix 5436, Eppendorf, Hamburg, Deutschland;
Netzgerät	Biometra standard power pack P25, Göttingen, Deutschland;
pH-Meter	WTW pH537, Wiss.-Techn. Werkstätten GmbH, Weilheim, Deutschland;
Photometer	Spectrophotometer Du530 UV/ Vis, Beckmann Coulter, Krefeld, Deutschland;
Präzisionswaage	Scaltec SBC22, Scaltec Instruments, Göttingen, Deutschland
Scanner	Canon CanoScan 4400F, Canon Inc., Tokyo, Japan
Schüttler	Schüttler WT-17, Biometra, Göttingen, Deutschland;
Semidry Blotter	SD Transblot Biorad, München, Deutschland

Tischerhitzer	Test Tube Thermostat TCR 100, Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Ultraschallgerät	Sonopuls, Bandelin, Berlin, Deutschland;
Vortex	Vortex Genie 2 Mixer, Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz
Wasserbad	GFL Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel, Deutschland
Zentrifuge	Biofuge fresco, Heraerus, Hanau, Deutschland;

Tabelle 2. Liste der verwendeten Verbrauchsmaterialien.

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Eppendorfgefäße	1,5ml Reaktionsgefäß 3810, Eppendorf AG, Hamburg
Film	Amersham Hyperfilm ECL, GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg, Deutschland;
Filterpapier	Whatman GmbH, Dassel, Deutschland
Nitrozellulosemembran	0,45µm Porengröße, Whatman, Dassel, Deutschland;
Pipetten, 5/10/25ml	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
Safelock-Tubes	Eppendorf, Hamburg, Deutschland;

2.2.2 Chemikalien

Tabelle 3. Liste der verwendeten Chemikalien.

Chemikalien	Hersteller
25x complete protease inhibitor	Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland;
Ammoniumpersulfat	Fluka, Hamburg, Deutschland;
BSA bovine serum albumin	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Dimethylsulfoxid	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Essigsäure	Merck, Darmstadt, Deutschland;
Ethanol	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Glycin	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Isopropanol	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;

Milchpulver	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Methanol	Merck, Darmstadt, Deutschland;
NaCl	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
p-Comarinsäure	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA;
PAA Polyacryl Säure	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
PageRuler™ Prestained Protein Ladder	Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland;
Pierce BCA Protein Assay Kit	Thermo Scientific, Rockford, USA;
Ponceau-S	Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA;
Rotiload 1	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
SDA (Natriumdiacetat)	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
SDS (Natriumaurylsulfat)	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
TEMED (Tetramethylethylendiamin)	Bio Rad, München, Deutschland;
Tetramethylethylendiamin	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
TRIS (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan)	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Triton X-100	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Tween 20	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;
Wasserstoffperoxid	Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Deutschland;

2.2.3 Lösungen

Alle unten aufgelistete Lösungen wurden im Labor selbst hergestellt.

Lysepuffer (RIPA – Puffer: *Radio Immuno Precipitation Assay Buffer*)

- 50 mM Tris pH 8,5
- 150 mM NaCl
- 0,5% (w/v) SDA
- 0,1% (v/v) SDS
- 1% (v/v) Triton X-100
- 2x Roche complete protease inhibitor
- 0,5 ml 0,3% (w/v) Natriumazid
- 3,45 ml MQ-H₂O (mittels Milli-Q Purification System aufbereitetes Wasser)

Western Blot Gele:

Trenngelpuffer (1,5M Tris, pH 8,8)

- 36,6 g Tris
- 200 ml MQ-H₂O
- auf pH 8,8 einstellen, autoklavieren, kühl lagern

Sammelgelpuffer (1,0 M Tris, pH 6,8)

- 12,12 g Tris
- 100 ml MQ-H₂O
- auf pH 6,8 einstellen, autoklavieren, kühl lagern

TBS-T Puffer (Tris buffered Saline–Tween)

- 20mM Tris
- 140mM NaCl
- 0,1% v/v Tween 20
- pH 7,6

Transfer-Puffer

- 184mM Glycin
- 24mM Tris
- 20% v/v Methanol

Elektrophorese-Puffer

- 25mM Tris
- 250 mM Glycin
- 0,1% SDS
- Aqua bidest.

Stripping-Puffer

- 25mM Glycin
- 1% (w/v) SDS
- pH 2

Ponceau-Lösung

- 0,1% (w/v) Ponceau-S
- 2ml 100% (v/v) Essigsäure

ECL-Mix (Enhanced Chemiluminescence)

Solution 1

- 1 ml Luminol (0,8858g in 20 ml Dimethylsulfoxid)
- 440 µl p-Comarinsäure (0,2956g in 20 ml Dimethylsulfoxid)
- 1 M Tris-HCl pH 8,5
- 88,5 ml H₂O
- in einem lichtundurchlässigen Gefäß aufbewahren

Solution 2

- 64 µl H₂O₂
- 10 ml 1 M Tris pH 8,5
- 90 ml H₂O
- in einem lichtundurchlässigen Gefäß aufbewahren

2.2.4 Antikörper

Tabelle 4. Liste der verwendeten Antikörper.

Antikörper	Hersteller
PPAR- γ sc-7196, H-100, rabbit	Santa Cruz Biotech, Kalifornien, USA
anti Actin, A5060, polyclonal rabbit	Sigma Aldrich Corp., St. Louis, USA
goat anti rabbit IgG-HRP, sc-2054	Santa Cruz Biotech, Kalifornien, USA

2.3 Methoden

Zur Quantifizierung der PPAR γ Konzentration in der Plazentaprobe wurde nach der Proteinisolation eine Western Blot-Untersuchung durchgeführt. Jede Probe wurde doppelt aufgetragen und die Prozedur mindestens zweimal durchgeführt.

2.3.1 Proteinextraktion

Aus jeder tiefgefrorenen Plazentaprobe wurde mittels Skalpell eine möglichst identische ca. 1 Gramm schwere Probe entnommen. Zur weiteren Verarbeitung, nach Behandlung mit flüssigem Stickstoff, wurden die Proben in einem Mörser zerkleinert. Zu jeden 100 mg Probematerial fügte man 1 ml RIPA-Lysepuffer mit Proteinaseinhibitor bei. Mit Vortex wurden die Proben gut durchgeschüttelt und danach einer Ultraschall-Behandlung ausgesetzt (5 Durchgänge, je 3 mal 10 Sekunden pro Durchgang). Es folgte eine 10-minütige Inkubation bei Raumtemperatur. Anschließend wurden die Proben bei 12000 rpm 12 Minuten zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Der Gesamtproteingehalt wurde mittels Bicinchoninsäure Protein Assay Kit photometrisch bestimmt. Es wurden so durch Verdünnung mit MQ-H₂O Proben mit 5 μ g/ml Gesamtproteinkonzentration hergestellt. Zuletzt wurde ein Standardmix aus äquivalenten Anteilen aller Proben hergestellt, der in weiterer Folge zur Normalisierung der Western Blot Ergebnisse diente. Die einzelnen Proben, wie auch der Standardmix wurden bei minus 20 Grad Celsius gelagert.

2.3.2 Western Blot

Die Proteinproben wurden durch die Western Blot-Methode auf Grund ihres Molekulargewichts aufgetrennt. Das Molekulargewicht von PPAR-gamma beträgt 57,62 Da, das von Aktin 42 Da.

2.3.2.1 Vorbereitung

Zunächst wurden die Glasplatten, Spacer und Kämmen mit 48 Taschen mit Ethanol gereinigt. Nach dem Zusammenbau der Gel-Halterung wurden 25 ml des 10%igen Trenngels eingegossen und anschließend mit 0,5 ml Isopropanolol überschichtet, um den Kontakt mit Sauerstoff zu vermeiden und eine glatte Gelkante zu erhalten. Nach 60-minütiger Polymerisation bei Raumtemperatur konnte der Isopropanolol abgegossen werden. Das Sammelgel wurde aufgetragen, die Kämmen eingesetzt und das Ganze für weitere 30 Minuten zur Polymerisation gelassen.

2.3.2.2 Elektrophorese

Die Proben wurden auf Eis aufgetaut, danach jeweils jeder Probe 15 µl entnommen und mit 7,5 µl H₂O und 7,5 µl reduzierendem Ladepuffer (Rotiload 1, Roth) versetzt. Aus dem Standardmix wurde eine Probenreihe mit aufsteigender Konzentration (20, 25, 30, 35, 40 µl Protein/ml) hergestellt. Diese wurde ebenso wie die Untersuchungsproben mit dem Ladepuffer versetzt. Die Proben wurden gevortext, 5 Minuten bei 95°C inkubiert, auf Eis heruntergekühlt und dann noch kurz abzentrifugiert. Von jeder Probe wurde je 12 µl doppelt aufgetragen. Bei Benutzung von Kämmen mit 48 Taschen konnte man so pro Gel nach der Standardreihe stets 15 Proben auftragen. Zwischen der Standardreihe und den zu untersuchenden Proben verwendete man zur besseren Orientierung ein Molekulargewicht-Marker (Page Ruler). In die Elektrophoresekammer wurde ein Elektrophoresepuffer eingebracht.

Die Elektrophorese wurde im Kühlraum bei 4°C durchgeführt, für 30 Minuten unter der Spannung von 80 Volt und danach für 2 Stunden 30 Minuten unter 110 Volt.

2.3.2.3 Blotten

In dem Semi-Dry Blott wurden die Proteine vom Gel auf eine Nitrozellulosemembran übertragen. Filterpapier (Whatman-Paper) und Nitrozellulosemembranen wurden auf 5,5 x 18 cm zugeschnitten. Die Nitrozellulosemembran wurde vor Inkubation im Transferpuffer für 2 Minuten in destilliertem H₂O aktiviert. Danach wurden Membran, Filterpapier sowie die aus der Elektrophorese entnommenen Gele separat für 10 Minuten im Transferpuffer bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend stellte man aus den Elementen ein Sandwich zusammen, welches sich aus zwei Filterpapieren, einer Nitrozellulosemembran, Elektrophorese-Gel und erneut zwei Filterpapieren zusammensetzte. Der Blot dauerte eine Stunde bei konstanter Spannung von 25 V.

2.3.3 Proteinidentifikation

Zur optischen Blot-Kontrolle wurde eine Ponceau-S Färbung durchgeführt. Danach wurde die Nitrozellulosemembran dreimal im destilliertem H₂O gespült, anschließend dreimal 5 Minuten in TBS-T gewaschen und 1 Stunde in 5% TBS-T-Milch geblockt. Nach erneutem dreimaligem Waschen für je 5 Minuten in TBS-T wurde die Membran mit primärem Antikörper bei 4 °C über Nacht inkubiert (1:20000 in 5% TBS-T-Milch, PPAR- γ sc-7196, H-100, rabbit). Am nächsten Tag wurde die Membran dreimal je 10 Minuten in TBS-T gewaschen und danach für 1 Stunde bei Raumtemperatur mit sekundärem Antikörper (1:10000 in 4% bovinem Serumalbumin in TBS-T, goat anti rabbit IgG-HRP, sc-2054) inkubiert. Danach erfolgte eine erneute dreimalige Waschung je 10 Minuten in TBS-T.

Zur Visualisierung wurde die Membran für 3 Minuten in einem ECL-Mix aus ECL Solution 1 und 2 im Verhältnis 1:1 getränkt. Danach wurde die Membran zusammen mit einem Film in die Kodak® Filmkassette gelegt und belichtet. Die Entwicklung erfolgte mit Hilfe eines vollautomatischen Entwicklers.

Im letzten Schritt wurde die Membran erneut dreimal je 10 Minuten in TBS-T gewaschen, 30 Minuten bei 50° Wasserbad nach Zugabe von 50 ml Stripping Puffer behandelt. Nach erneutem Waschen dreimal je 10 Minuten in TBS-T folgte die einstündige Blockung in 5% TBS-T-Milch. Danach wusch man die Membran dreimal 5 Minuten in TBS-T und inkubierte 1 Stunde bei Raumtemperatur mit dem primären

Antikörper (1:100 000 in 5% TBS-T-Milch, anti Actin, A5060, polyclonal rabbit). Anschließend wurde dreimal je 10 Minuten in TBS-T gewaschen und erneut 1 Stunde bei Raumtemperatur mit sekundärem Antikörper inkubiert (1:10000 in 4% bovinem Serumalbumin in TBS-T, goat anti rabbit IgG-HRP, sc-2054). Schließlich folgte die letzte Waschung dreimal je 10 Minuten in TBS-T, Tränkung für 3 Minuten im ECL-Mix und Anfertigung der Fotos.

2.3.4 Auswertung

Die Fotos wurden mit einem Scanner (Canon, CanoScan 4400F, Auflösung 600 dpi) eingescannt. Die densitometrische Auswertung erfolgte mit AlphaEase FC Software, Version 3.1.2. durch die Ermittlung der Signalintensität der Protein-Bänder (für PPAR-gamma 57,62 kDa und für Aktin 42 kDa) als IDV (integrated density value, Signalintensität der Protein-Bänder) bezeichnet.

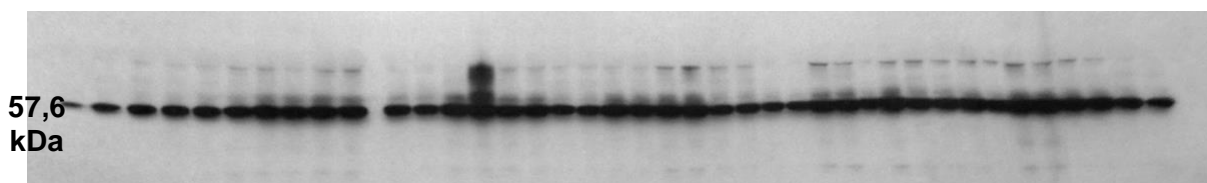


Abbildung 5. Beispielbild des PPAR γ .

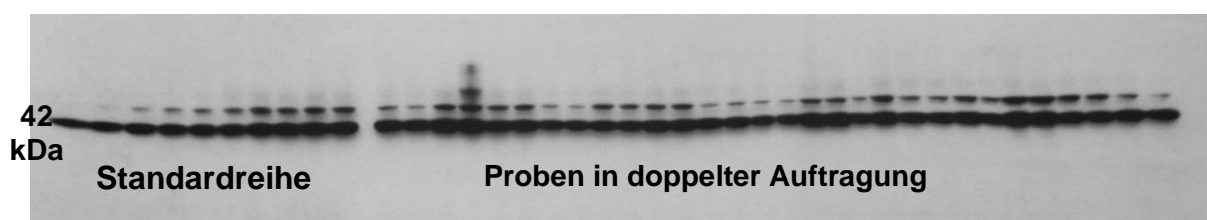


Abbildung 6. Beispielbild des Aktins.

In Open Office™ wurden Tabellen erstellt, in welchen die ermittelten IDV-Werte eingetragen wurden. Zur weiteren Auswertung wurden die Referenzgeraden der Probenreihen generiert. Letztere sind bei jedem Western-Blot-Durchgang in aufsteigender Konzentration aus dem Standardmix aufgetragen und mituntersucht worden.

In weiterer Analyse wurde vom IDV-Wert der untersuchten Protein-Bänder die Summe der Fläche der vermessenen Bänder und der durchschnittlichen Signalintensität des Hintergrundes subtrahiert. Weiter wurde von dem erhaltenen Wert der y-Achsenabschnitt n abgezogen und durch den linearen Faktor m der Geradengleichung dividiert. So konnten die einzelnen Werte der Zielproteine mit der Standardreihe abgeglichen und so die variablen Bedingungen der Untersuchungen ausgeglichen werden.

Bei Aktin wurden die Werte nach der gleichen Methode errechnet. Da die Aktinkonzentration konstant sein sollte, wurde im letzten Schritt der oben errechnete Wert der Zielproteine durch den von Aktin dividiert und somit die relative Konzentration der Zielproteine bestimmt.

2.3.5 Statistik

Die statistische Auswertung umfasste initial eine Prüfung der Daten auf Normalverteilung mit Hilfe des Kolmogorov Smirnov Tests. Da die plazentare Expression von PPAR γ in der Kohorte nicht normalverteilt war, wurden alle weiteren Analysen mit nicht-parametrischen Tests durchgeführt. Für Korrelationsanalysen wurde der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient bestimmt. Um etwaige nicht lineare Zusammenhänge darstellen zu können wurden verschiedene Parameter in Quantilen eingeteilt und die plazentare PPAR γ -Expression innerhalb dieser Quantile verglichen. Zu diesem Zweck wurde der parameterfreie Kruskal-Wallis-Test angewandt. Für den Vergleich von nur zwei Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt. Ein p-Wert $<0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Die statistische Auswertung und graphische Darstellung der Daten wurde mit IBM® SPSS® Version 20 und GraphPad Prism 6 durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Studienpopulation

In Tabelle 5 und 6 befinden sich die deskriptiven Charakteristika der untersuchten Kohorte, jeweils dargestellt für Mutter und Kind. Die Tabelle Z stellt die Anzahl der untersuchten Plazenten und die relative Proteinkonzentration von PPAR γ (nach Abgleich zur Aktinkonzentration) dar.

Tabelle 5. Charakteristika der Mütter.

Parameter der Mutter	Mittelwert	SD	Anzahl
Alter (Jahre)	30,6	\pm 5,9	(n = 325)
Größe (cm)	167,5	\pm 6,9	(n = 280)
BMI zu Beginn der Schwangerschaft	23,6	\pm 4,2	(n = 319)
BMI im 3. Trimenon	27,8	\pm 4,3	(n = 320)
Primigravida (%)	48,3		(n = 157)
Rauchen			
- vor/während der Schwangerschaft (%)	33,8		(n = 110)
- während der Schwangerschaft (%)	16,9		(n = 55)
- Packyears vor der Schwangerschaft	3,1	\pm 6,5	(n = 322)
Hypertonus anamnestisch			
- vor der Schwangerschaft (%)	3,1		(n = 10)
- während der Schwangerschaft (%)	3,7		(n = 12)
- vor und während der Schwangerschaft (%)	5,8		(n = 19)
- in der Familie (%)	37,4		(n = 119)
Diabetes mellitus			
- vor der Schwangerschaft (%)	0,6		(n = 2)
- während der Schwangerschaft (%)	3,7		(n = 12)
- in der Familie (%)	35,2		(n = 114)

Tabelle 6. Charakteristika der Kinder.

Parameter des Kindes	Mittelwert	SD	Anzahl
Gestationsalter bei Geburt (Wochen)	38,8	± 1,9	(n = 321)
Frühgeburtlichkeit (%)	9,3		(n = 30)
Plazentagewicht (g)	596,37	± 142,36	(n = 292)
Geburtsgewicht (g)	3428,56	± 603,5	(n = 325)
Geburtsgewicht ≤ 2500g (%)	6,8		(n = 22)
Geburtsgewicht ≥ 4500g (%)	4,3		(n = 14)
Geburtsgewicht >2500g und <4500g (%)	88,9		(n = 289)
Geburtslänge (cm)	50,98	± 2,77	(n = 325)
Kopfumfang (cm)	34,9	± 1,69	(n = 317)
Geschlecht des Kindes m/w (%)	51,2/48,8		(n = 166/158)
Geburtsmodus			
- spontan (%)	59,9		(n = 194)
- vaginale OP (%)	8,6		(n = 28)
- Sectio caesarea (%)	31,5		(n = 102)
APGAR 5 Minuten	9,33	± 0,88	(n = 324)
APGAR 10 Minuten	9,68	± 0,59	(n = 323)
pH (Nabelarterie)	7,29	± 0,08	(n = 324)

Tabelle 7. Proteinkonzentration der Plazenten.

Relative Proteinkonzentrationen der untersuchten Plazenten (Abgleich über den Aktiningehalt der Probe)	
PPAR-gamma	1,08 ± 0,30 (n = 325)
Daten ± Mittelwert der Standardabweichung; n, Anzahl der Plazenten mit positiver Proteinbestimmung;	

3.2 Zusammenhang zwischen plazentarer PPAR γ -Konzentration und mütterlichen Parametern

3.2.1 PPAR γ und Rauchen

In der untersuchten Population hatten 33,8% der Mütter vor und 16,9% noch während der Schwangerschaft geraucht. Die Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied in der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration in Abhängigkeit vom Raucherstatus der Mutter. Nichtraucherinnen wiesen eine mediane plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration von 1,012 (Min. 0,29; Max. 2,556), Raucherinnen eine mediane plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration von 1,083 (Min. 0,745; Max. 1,987) auf ($p=0,40$).

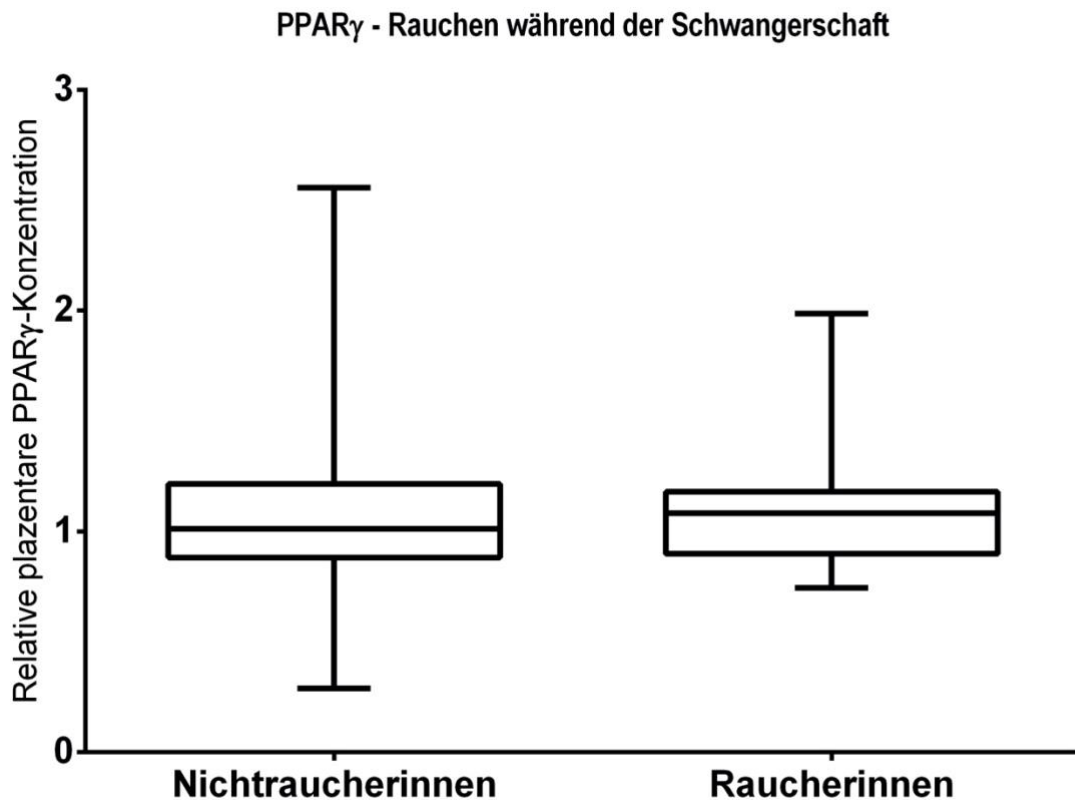


Abbildung 7. Relative plazentare PPAR γ -Konzentration abhängig vom Raucherstatus der Mutter. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

3.2.2 PPAR γ und Diabetes mellitus

In der Studienkohorte wurde bei 3,7% der Probandinnen ein Gestationsdiabetes diagnostiziert. Bei 0,6% der Mütter bestand Diabetes mellitus bereits vor der Schwangerschaft. Eine positive familiäre Anamnese für Diabetes mellitus war bei 35,2% der befragten Mütter vorhanden. Es wurden 2 Gruppen verglichen: Mütter mit Diabetes vor und während der Schwangerschaft und Mütter, welche nicht an Diabetes erkrankt waren. Die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede in der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration ($p=0,91$). Die mediane plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration von Müttern mit Diabetes mellitus betrug 1,018 (Min. 0,632; Max. 1,369), bei nicht an Diabetes erkrankten Müttern betrug diese 1,019 (Min. 0,29; Max. 2,556).

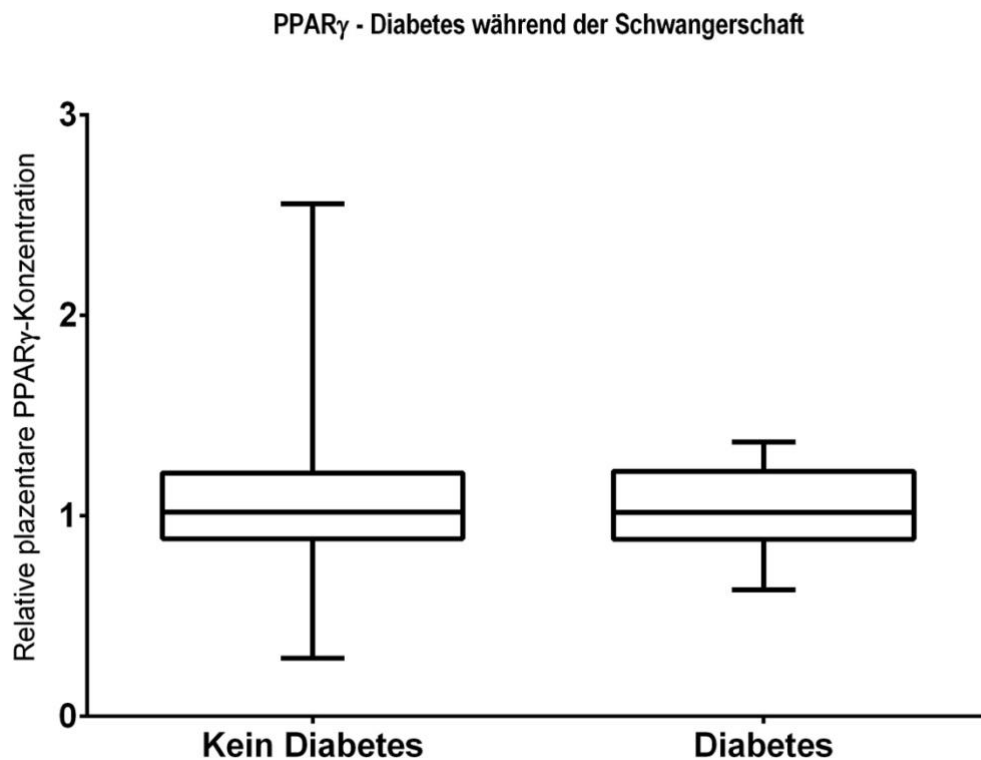


Abbildung 8. Relative plazentare PPAR γ -Konzentration abhängig vom Leiden an Diabetes mellitus der Mutter. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

3.2.3 PPAR γ und systolischer/diastolischer Blutdruck

3,1% der Mütter berichteten über bekannten Hypertonus schon vor der Schwangerschaft. Bei 3,7 % bestand der Hypertonus auch während der

Schwangerschaft. Eine positive familiäre Anamnese für arterielle Hypertonie wurde bei 37,4% festgestellt. Um zu untersuchen, ob Zusammenhänge zwischen maternalem Blutdruck und plazerter Konzentration von PPAR γ bestehen, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Diese zeigte keine signifikante Korrelation mit mütterlichen systolischen Blutdruckwerten im dritten Trimenon ($p=0,608$, $R=0,029$, $n=323$). In einer weiteren Analyse wurden die Mütter anhand ihrer Blutdruckwerte in Quintilen aufgeteilt und die jeweiligen Medianwerte der plazeraren PPAR γ -Konzentration verglichen. Auch in dieser Analyse zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($p=0,44$).

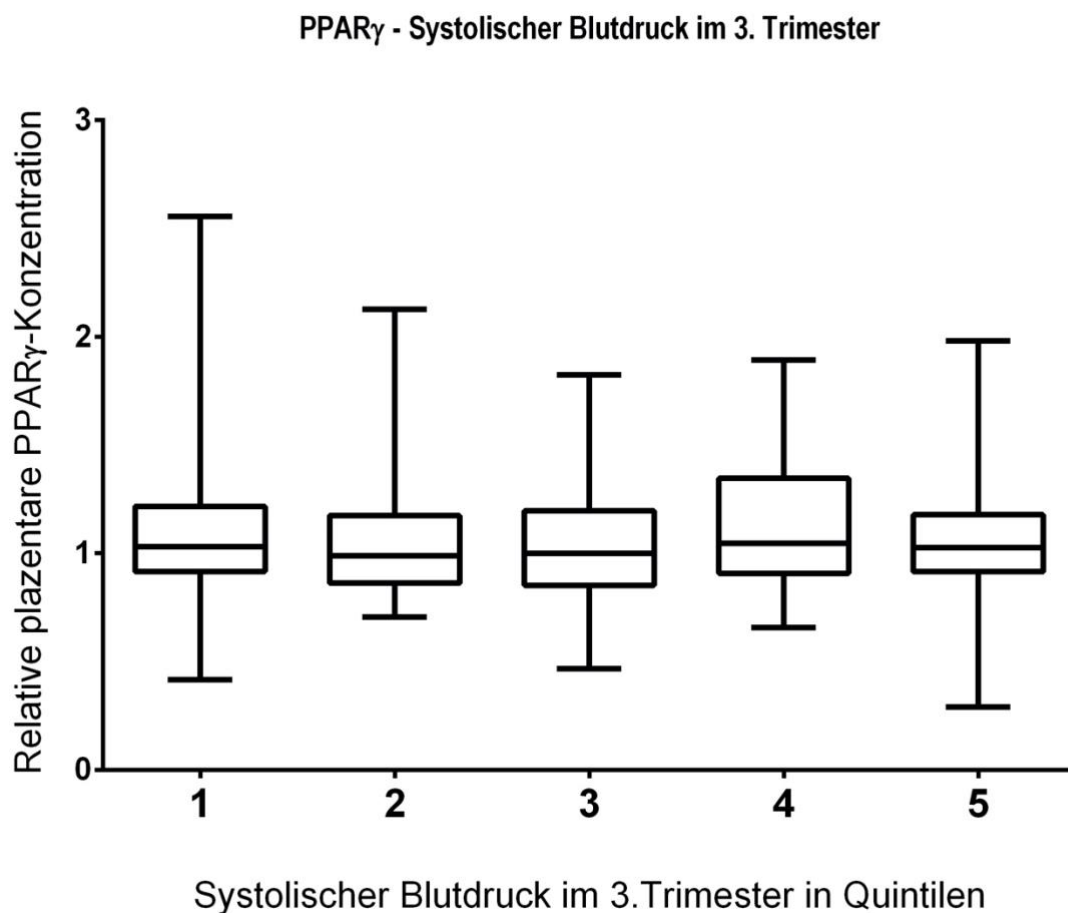


Abbildung 9. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration und der systolische Blutdruck im 3. Trimenon in Quintilen dargestellt. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwertes (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

Eine weitere Analyse mit diastolischen Blutdruckwerten der Mütter im dritten Trimenon wurde durchgeführt. Auch hier zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen plazentarer Konzentration von PPAR γ mit mütterlichen diastolischen Blutdruckwerten ($p=0,218$, $R=0,069$, $n=323$). Darüber hinaus wurden die Mütter anhand ihrer diastolischen Blutdruckwerte erneut in Quintile aufgeteilt und die jeweiligen Medianwerte der plazentaren PPAR γ -Konzentration verglichen. Auch in dieser Analyse zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($p=0,72$).

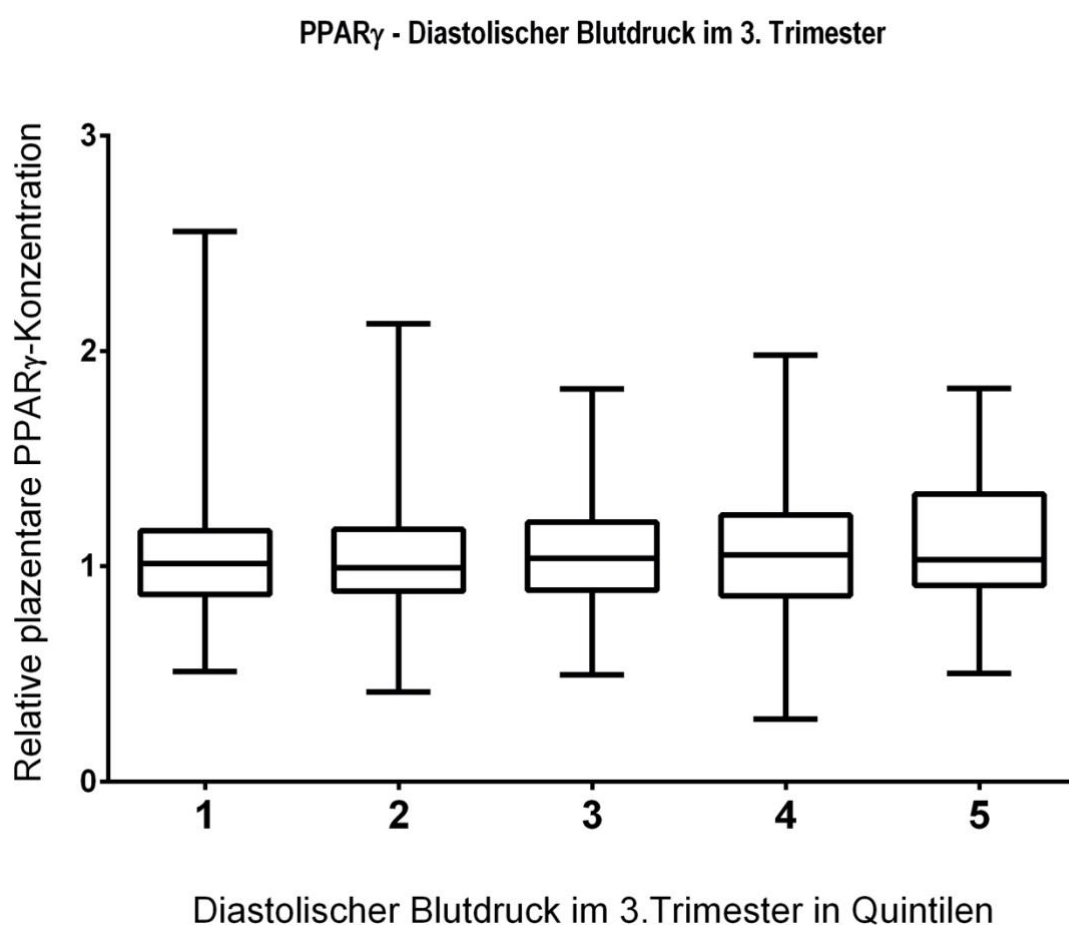


Abbildung 10. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration und der diastolische Blutdruck im 3. Trimenon in Quintilen dargestellt. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

3.2.4 PPAR γ und BMI

Der BMI-Mittelwert, errechnet zu Beginn der Schwangerschaft für 319 Probandinnen, betrug 23,6 (\pm 4,2), der minimale Wert 15,3 und der maximale 38,5. Es konnte keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration und dem BMI festgestellt werden ($p=0,887$, $R=0,008$, $n=319$).

Ferner wurden die Mütter wiederum anhand ihrer BMI-Werte in Quintilen eingruppiert und die Medianwerte der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration verglichen. Es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p=0,94$).

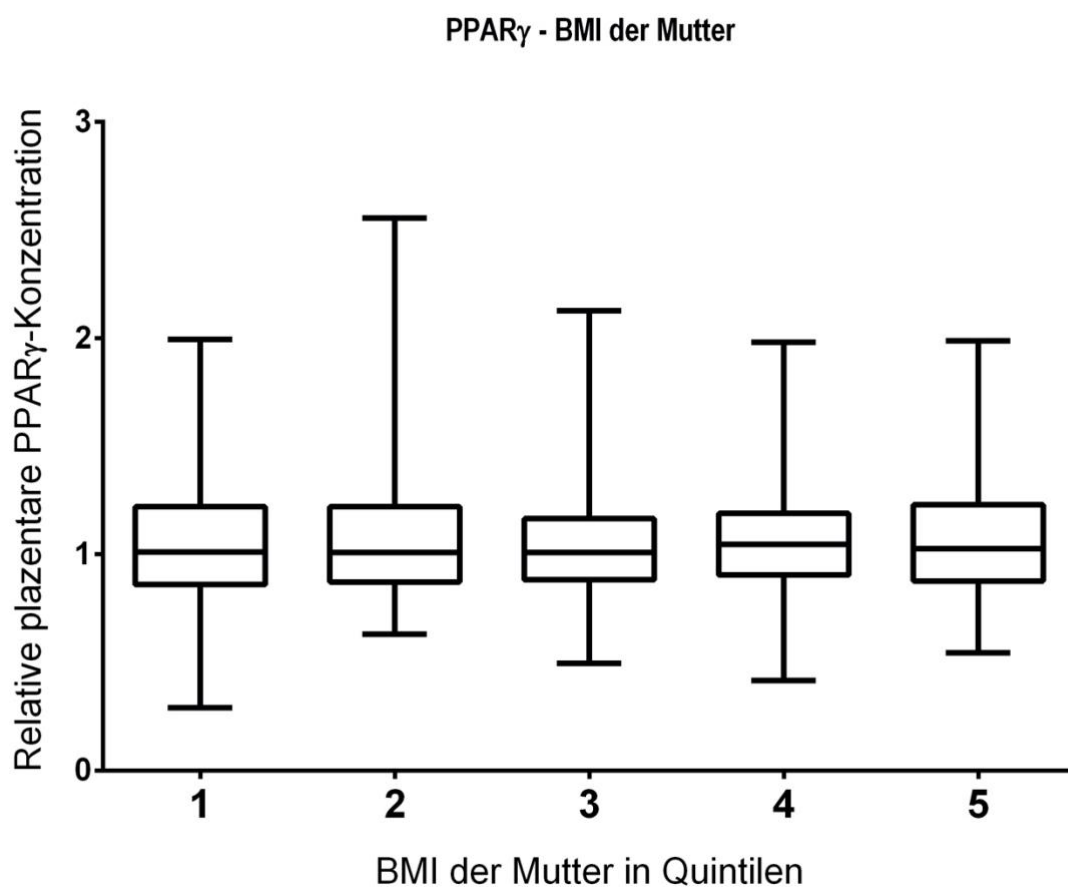


Abbildung 11. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration in Quintilen dargestellt, in denen die Mütter nach BMI-Wert vor der Schwangerschaft eingruppiert sind. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

Desweiteren analysierten wir die BMI-Werte der Mütter im 3. Trimenon. In der Auswertung konnte auch hier keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration und dem BMI im 3. Trimenon festgestellt werden ($p=0,336$, $R=0,054$, $n=320$). Anschließend wurden die Mütter erneut anhand ihrer BMI-Werte in Quintilen eingruppiert und die Medianwerte der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration verglichen. Es konnten auch hier keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p=0,33$).

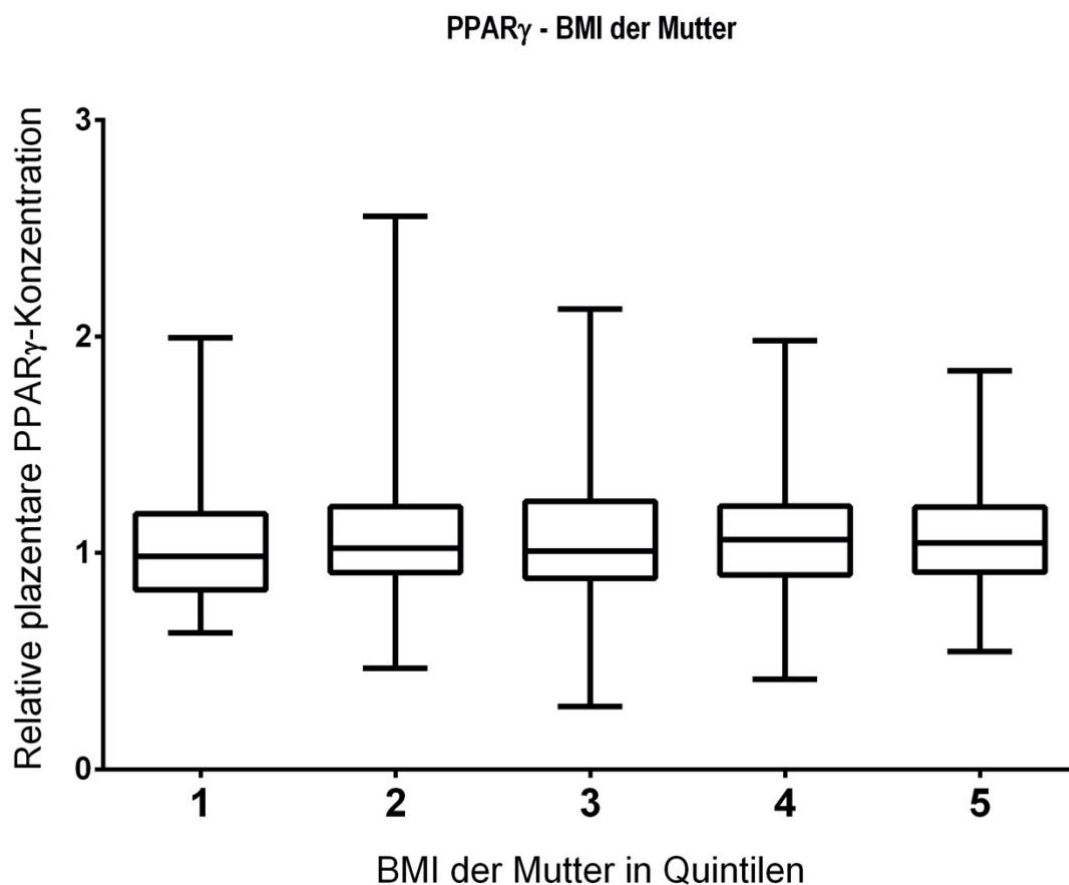


Abbildung 12. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration in Quintilen dargestellt, in denen die Mütter nach BMI-Wert im 3. Trimenon eingruppiert sind. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

3.2.5 PPAR γ und Alter

Das Durchschnittsalter der untersuchten Mütter betrug 30,6 ($\pm 5,9$) Jahre. Die jüngste Teilnehmerin der Studie war 14,8 und die älteste 45,1 Jahre alt. Die erste statistische

Analyse ergab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Alter der Mütter und der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration ($p=0,24$, $R=-0,065$, $n=325$).

In einer weiteren Auswertung, in der die Mütter nach dem Alter in Quintile aufgeteilt wurden, wurden die Medianwerte der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration analysiert. Auch hier konnten keine statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden ($p=0,0526$). Es zeigte sich lediglich ein Trend mit höheren plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration-Werten in den mittleren Gruppen.

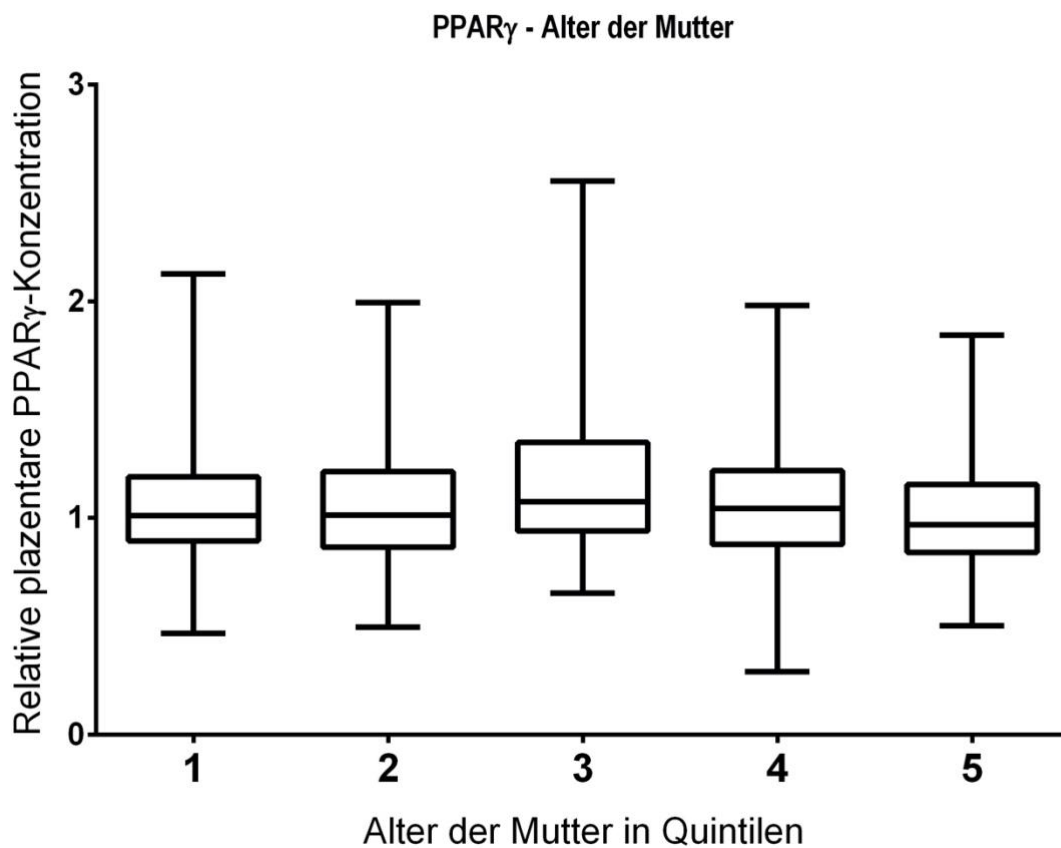


Abbildung 13. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration in Quintilen dargestellt, in denen die Mütter nach Alter eingruppiert sind. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

3.3 PPAR-Gamma und die Korrelation mit kindlichen Parametern

3.3.1 PPAR γ und Geburtsgewicht

Das niedrigste Geburtsgewicht betrug 930 g, das höchste 5170 g. Der Mittelwert betrug 3428,5 g (\pm 603,5 g). Die Analyse der Daten ergab keine Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht des Kindes und der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration ($p=0,438$, $R=-0,043$, $n=325$).

In weiterer Auswertung wurden die Daten in 3 Gruppen nach dem Geburtsgewicht aufgeteilt. Geburtsgewicht ≤ 2500 g ($n=22$), Geburtsgewicht ≥ 4500 g ($n=14$) und Geburtsgewicht >2500 g und <4500 g ($n=289$). Die Einteilung erfolgte nach der internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision (ICD-10-WHO) 2013. Innerhalb der Gruppen wurden die Medianwerte der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration analysiert. Es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p=0,82$).

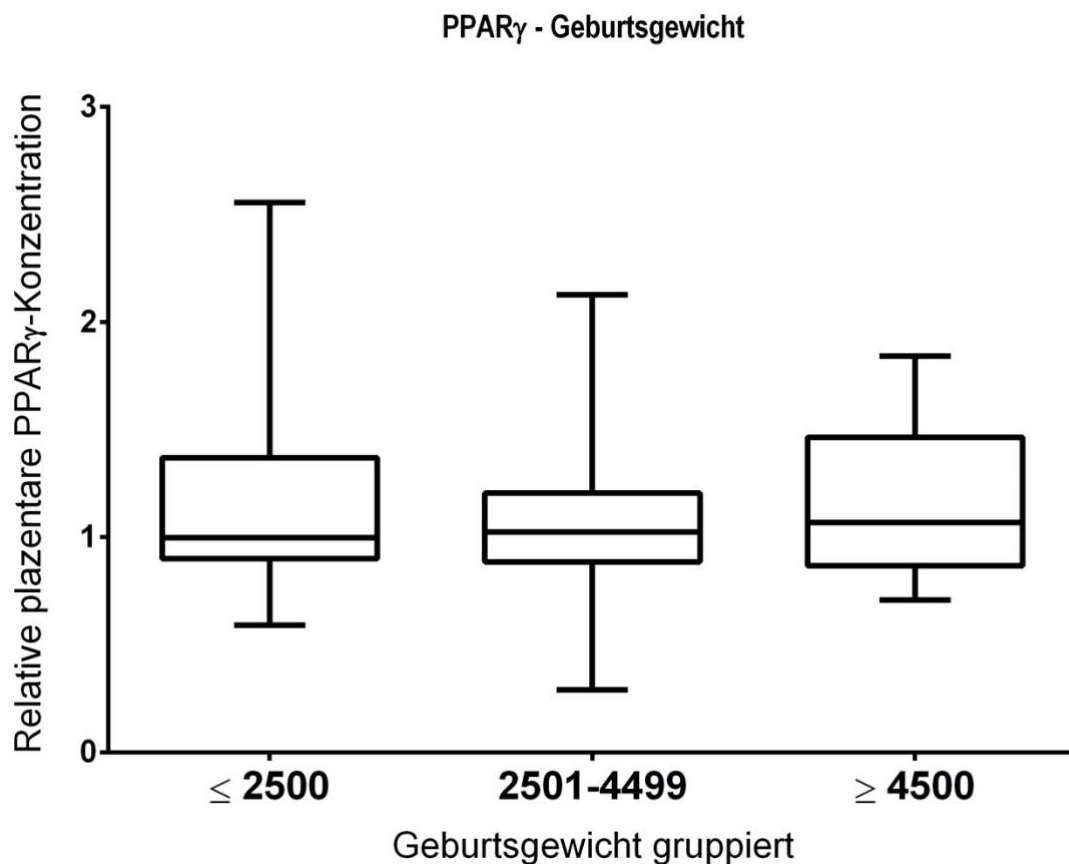


Abbildung 14. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration bei verschiedenen Geburtsgewichten. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

3.3.2 PPAR γ und Gestationsalter

Das Gestationsalter betrug bei der Geburt im Durchschnitt 38,8 Wochen ($\pm 1,9$). Das jüngste Kind wurde in der 28 Woche und das älteste in der 42 Woche geboren. Es konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Gestationsalter und der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration festgestellt werden ($p=0,077$, $R=0,099$, $n=321$). Nach weiterer Analyse der Daten wurde die Kohorte der Neugeborenen in 3 Gruppen aufgeteilt. Erste Gruppe mit Neugeborenen im Gestationsalter unter 37 Wochen ($n=30$, Frühgeborene) Die zweite mit Neugeborenen im Gestationsalter 37 bis 40 Wochen ($n=249$, Termingeborene). Die letzte Gruppe mit Neugeborenen im Gestationsalter über 40 Wochen ($n=42$, über den Entbindungstermin geborene). Des Weiteren wurden die jeweiligen Medianwerte der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration in den Gruppen verglichen. Auch hier ergab die Analyse der Gruppen keine signifikanten Unterschiede ($p=0,26$).

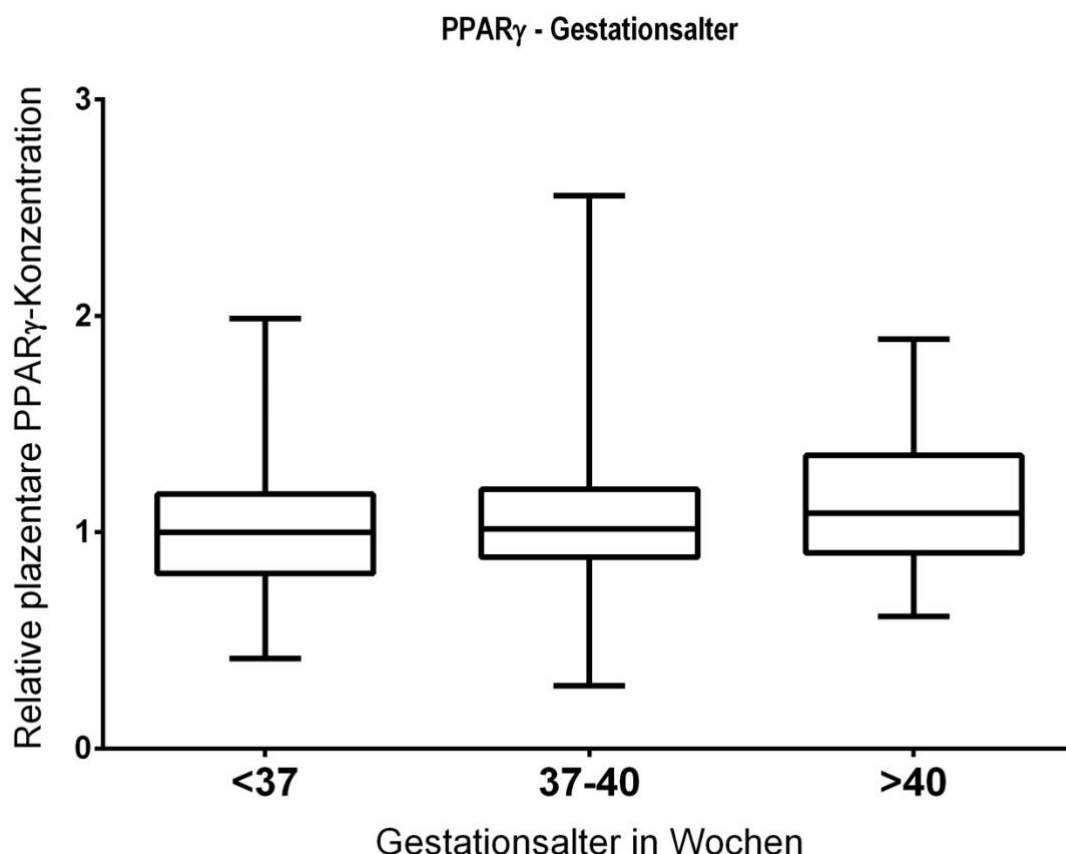


Abbildung 15. Die relative plazentare PPAR γ -Konzentration abhängig vom Gestationsalter. Box-Whisker-Plot mit Angabe des Medianwerts (Mittellinie), des Interquartilenabstandes (Kasten) und des Minimal- und Maximalwertes (Balken).

3.3.3 PPAR γ und weitere kindliche Parameter

Wir untersuchten auch weitere kindliche Parameter, welche auf den Zustand des Kindes unmittelbar nach der Geburt schließen lassen und deren Zusammenhänge mit der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration.

Der Mittelwert des Kopfumfangs bei den Neugeborenen betrug 34,9 cm ($\pm 1,69$, n=317). Die plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration zeigte keine signifikante Korrelation mit der Größe des Kopfumfangs des Kindes (p=0,74, R=-0,019, n=317).

In den ersten 10 Minuten nach der Entbindung können schon wichtige Hinweise auf die Anpassung des Neugeborenen an die neue Umwelt gemessen werden. Zu den am häufigsten direkt postnatal gemessenen Parametern gehören der APGAR-Wert und der pH aus dem Blut der Nabelschnur-Arterie.

Der pH der Neugeborenen betrug im Durchschnitt 7,29 ($\pm 0,08$, n=324), der niedrigste Wert betrug 6,98, der höchste 7,47. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen pH-Wert und der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration konnte jedoch nicht festgestellt werden (p=0,4, R=-0,046, n=324).

APGAR-Werte nach 5 Minuten betrugen bei den Neugeborenen im Durchschnitt 9,33 ($\pm 0,88$), der niedrigste Wert betrug 5. In der Auswertung zeigte die plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration keine signifikante Korrelation mit den in der APGAR-Skala erzielten Werten (p=0,764, R=0,017, n=324).

APGAR-Werte lagen nach 10 Minuten im Durchschnitt bei 9,68 ($\pm 0,59$), der niedrigste Wert betrug 7. Die plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration zeigte keine signifikante Korrelation mit den mittels APGAR-Skala erzielten Werten (R=-0,004, p=0,936, n=323).

4 Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es, Zusammenhänge zwischen der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration und biologischen Parametern von Mutter und Kind zu prüfen. Zu den untersuchten maternalen Parameter gehörten Tabakkonsum, Diabetes mellitus, BMI und Blutdruckwerte im 3. Trimenon. Die analysierten kindlichen Parameter und die Surrogatparameter der fetalen Programmierung beinhalteten Geburtsgewicht, Gestationsalter, Kopfumfang, pH der Arteria umbilicalis und APGAR Score. Nach sorgfältiger statistischer Auswertung konnte jedoch keine Assoziation zwischen maternalen und kindlichen Parametern und der plazentaren PPAR γ -Proteinkonzentration festgestellt werden.

4.1 Plazentare PPAR γ -Konzentration und Parameter der Mutter

Die fetale Versorgung kann durch verschiedene mütterliche Faktoren und Risikoverhalten beeinträchtigt sein. Es wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen mütterlichen Parameter und der plazentaren PPAR γ -Konzentration gibt, welcher eventuell die Entwicklung der Feten beeinflussen könnte. Hierzu wurden folgende Daten des standardisierten Interviews bzw. des Mutterpasses untersucht: das Alter der Mutter, maternaler Tabakkonsum während der Schwangerschaft, Diabetes, systolische und diastolische Blutdruckwerte im 3. Trimenon und der BMI vor der Schwangerschaft.

4.1.1 Tabakkonsum der Mutter

Zigarettenrauchen ist eine der ältesten Noxen, die im Zusammenhang mit Schwangerschaft untersucht wurde. Tabakkonsum, wie in multiplen Studien nachgewiesen, ist mit Frühgeburtlichkeit, erniedrigtem Geburtsgewicht (SGA-Neugeborene) und Wachstumseinschränkungen verbunden (Suter et al., 2010, Boney et al., 2005). Der genaue Mechanismus ist hier nicht bekannt. Eine Erklärung bietet die durch das Rauchen bedingte Vasokonstriktion, welche den Blutfluss in der uteroplazentalen Einheit drosselt (Wickström, 2007) und somit einen direkten Einfluss auf den Fetus ausübt. Des Weiteren verringert das durch Tabakrauch freigesetzte Kohlenstoffmonoxid (CO) die Sauerstoffaffinität der Erythrozyten und steigert somit

das Risiko einer Hypoxie. Rauchen in der Schwangerschaft reduziert die endotheliale Produktion von NO und hat somit auch einen direkten störenden Einfluss auf die gestörte Vasodilatation der fetalen Gefäße (Andersen et al., 2009).

Bislang gibt es kaum Studien, die den direkten Zusammenhang zwischen dem Rauchverhalten der Mutter und der plazentaren PPAR γ -Konzentration belegen. Eine der neuesten Arbeiten, die sich mit dem Tabakkonsum der Mutter in der Schwangerschaft befasst, stellte als erste einen Zusammenhang zwischen diesem und der plazentaren PPAR γ -Expression her (Weinheimer et al., 2020). Im Tierexperiment konnten die Autoren aufzeigen, dass eine Tabakrauchexposition schwangerer Ratten mit einer erhöhten plazentaren PPAR γ -Expression korrelierte. Dieser Effekt konnte jedoch nur in den Plazenten der weiblichen Nachkommen festgestellt werden. Des Weiteren konnte in den Plazenten der männlichen Nachkommen und den Nachkommen selbst ein verändertes Lipidprofil gemessen werden. Eine mögliche Erklärung bezieht sich auf die Mediatorenrolle des plazentares PPAR γ in der Aufnahme der Lipide über die Plazenta. Die Autoren vermuten hier eine Adaptationsreaktion des weiblichen Nachkommens auf mütterliche Exposition gegenüber Tabakrauch (Weinheimer et al., 2020).

Untersuchungen an Makrophagen von Rauchern mit KHK zeigten, dass diese im Vergleich mit Nichtrauchern mit KHK die niedrigste PPAR γ -Expression aufwiesen. Gleichzeitig wurde bei dieser Gruppe die höchste Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine, TNF- α und IL-6, verzeichnet (Amoruso et al., 2007). PPAR γ ist ein antiinflammatorischer und anti-atherogener Faktor. Beide Vorgänge spielen in der KHK eine entscheidende Rolle. Rauchen beschleunigt die Arteriosklerose der Gefäße, lässt die KHK schneller fortschreiten, verschlechtert die Herzinsuffizienz und erhöht die Insulinresistenz der Zellen (Benowitz, 2008). Im Tiermodell wurde der mögliche therapeutische Ansatz dieser Erkenntnisse untersucht. Nach dreimonatiger Rauchexposition der Ratten wurden deren alveoläre Makrophagen analysiert. Ein Teil der Ratten wurde mit dem PPAR γ -Agonisten, Rosiglitazone, vorbehandelt. Dieser konnte der rauchassoziierten Downregulation der PPAR γ -Expression und der Zytokin-ausschüttung (IL-8) entgegenwirken (Yin et al., 2014).

In unserer Studie konnten wir keine Unterschiede zwischen plazentarem PPAR γ und dem Rauchverhalten der Mutter feststellen. Eine mögliche Erklärung könnte hier die Dauer und die Menge der Exposition zu Tabakrauch im Vergleich zum Tierexperiment

sein. Im Vergleich zu den Studien in denen PPAR γ -Proteinkonzentration im menschlichen biologischen Material bestimmt wurde, benutzten wir ein Plazentazellgemisch und nicht Makrophagen.

4.1.2 Diabetes mellitus der Mutter

Fünf bis fünfzehn Prozent aller Schwangerschaften sind von Gestationsdiabetes betroffen. Die möglichen diabetesassoziierten Konsequenzen für das Neugeborene sind vielfältig und reichen von Makrosomie, Frühgeburtlichkeit, Hypoglykämie bis zum Atemnotsyndrom des Neugeborenen (respiratory distress syndrome) (Barnes-Powell, 2007). Schwangerschaftsdiabetes erhöht nicht nur das Risiko einer Schwangerschaftskomplikation, sondern auch das Risiko des Nachkommens selbst an Diabetes zu erkranken oder im späteren Leben an Adipositas zu leiden (Clausen et al., 2007). Hyperglykämie allein, auch wenn noch kein Schwangerschaftsdiabetes aufgetreten ist, erhöht deutlich die Wahrscheinlichkeit einen LGA-Neugeborenen zu gebären (The HAPO Study Cooperative Research Group, 2008). Schwangere mit Gestationsdiabetes entwickeln eine ausgeprägte Insulinresistenz, was in einer fortschreitenden Veränderung der Glukosetoleranz und der Erhöhung des Insulinspiegels resultiert (Barnes-Powell, 2007). Das mütterliche Insulin ist nicht plazentagängig. Die Hyperinsulinämie des Fetus entsteht als natürliche Antwort auf den Kohlenhydratüberschuss, welcher mit dem mütterlichen Kreislauf transportiert wird. Die Hyperglykämie begünstigt eine exzessive Bildung von freien Radikalen (ROS, RNS), welche die Moleküle schädigen und verändern (Rajdl et al., 2005). Durch den Kohlenhydratüberschuss hypertrophieren die Betazellen des Pankreas des Fetus und es wird somit mehr Insulin und insulin-like growth factors produziert. Dies stimuliert die Lipid-, Protein- und Glykogen-Synthese, was eine erhöhte Wachstumsrate des Fetus hervorrufen kann (Kc et al., 2015).

PPAR γ reguliert den Lipid- und Glukosestoffwechsel. Sein synthetischer Ligand Thiazolidinedione und späterer Derivat Glitazone (Insulin-Sensitizer) aktiviert den Rezeptor und erhöht so die Sensitivität der Organe gegenüber dem Insulin, verbessert den Glukosetransport sowie die Glykogensynthese und hemmt die Glukoneogenese der Leber (Gastadelli et al., 2006). PPAR γ aus den Adipozyten reguliert über eine adäquate Sekretion der Insulinmediatoren, den Adipozytokinen, eine optimale Sensitivität der peripheren Organe auf Insulin (He et al., 2003). Gestationsdiabetes ist

einer der Faktoren, der im größten Teil zur Veränderung des maternalen metabolischen Milieus beiträgt (Lain und Catalano, 2007). Die Hyperglykämie begünstigt den oxidativen Stress und den proinflammatorischen Prozess (Jawerbaum und Gonzalez, 2006). Bei beiden spielt PPAR γ wichtige Rolle.

Die ersten Untersuchungen von Schwangeren, welche an Diabetes erkrankt waren, zeigten eine verringerte Expression des plazentaren PPAR γ bei Gestationsdiabetes (Jawerbaum et al., 2004). Bei Frauen mit Diabetes mellitus Typ 1 konnte dieser Zusammenhang jedoch nicht nachgewiesen werden. In beiden Gruppen wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe eine niedrigere Konzentration vom Prostaglandin 15dPGJ₂ verzeichnet. 15dPGJ₂ ist ein direkter PPAR γ -Agonist, besitzt eine große antiinflammatorische Aktivität und kann nachweislich die Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine hemmen (Lappas et al., 2002). Zudem kann 15dPGJ₂ auch die NO Konzentration in der Plazenta verringern (Jawerbaum et al., 2004). NO-Überproduktion und eine damit verbundene RNS-Bildung trägt zum oxidativen Stress und Schädigung der Plazenta bei Diabetes Erkrankten bei (Kossenjans et al., 2000). In BeWo Zellen, einer trophoblastären Zelllinie, die als *in-vitro*-Modell der Plazenta herangezogen wird, führte die Applikation von synthetischen wie auch natürlichen Agonisten von PPAR γ zu einer herabgesetzten PPAR γ -Expression (Knabl et al., 2014). Weitere Untersuchungen an Frauen mit milder Form des Gestationsdiabetes ergaben auch eine verringerte Expression des plazentaren PPAR γ (Gao et al., 2017). Ein Tiermodell lieferte entgegengesetzte Resultate. Dort wurde eine erhöhte PPAR γ -Expression im Plazentagewebe bei diabetischen Ratten festgestellt (Suwaki et al., 2007). *In-vitro*-Versuche an BeWo-Zellkulturen in hyperglykämien Milieu zeigten dort auch eine erhöhte PPAR γ -Expression. Durch die Gabe des künstlichen PPAR γ -Agonisten, Rosiglitazone, normalisierte sich die PPAR γ -Expression (Suwaki et al., 2007). Im Unterschied zu anderen Studien wurden hier schwere Hyperglykämien untersucht. Der Glukosespiegel im Blut der diabetischen Ratten war um das Dreifache höher als bei der Kontrollgruppe.

In unserer Studie konnten wir keine Zusammenhänge zwischen plazentarer PPAR γ -Konzentration und Gestationsdiabetes feststellen. In der untersuchten Kohorte entwickelten 3,7% der Schwangeren Diabetes (12 Frauen). Aufgrund dieser Größenunterschiede ist jedoch die Aussagekraft der statistischen Auswertung kritisch zu betrachten. In vielen Studien wurde auch über die Konzentration eines PPAR γ -Agonisten auf eventuelle Zusammenhänge mit plazentaren PPAR γ geschlossen.

Diese, wie z.B. 15dPGJ₂, wirken jedoch auch unabhängig von der PPAR γ Aktivierung (Lappas et al., 2002). Die bisher aufgeführten Daten zeigen, dass die Zusammenhänge zwischen der plazentaren PPAR γ -Konzentration und Gestationsdiabetes kompliziert sind. Obwohl die Beteiligung des PPAR γ an den antiinflammatorischen Prozessen und seine insulimodulierende Wirkung erwiesen sind, müssen die genauen Zusammenhänge zu Gestationsdiabetes weiter erforscht werden.

4.1.3 BMI der Mutter

Der Zusammenhang zwischen mütterlichem Körpergewicht und dem Geburtsgewicht des Kindes wurde schon vor Jahren in Studien belegt (Dougherty und Jones, 1982; Papathakis et al., 2016). Der Fokus lag zunächst auf Mangelernährung und dadurch einhergehendes niedrigeres Körpergewicht der Schwangeren, was mit niedrigem Geburtsgewicht der Kinder assoziiert wurde. In einer rezenteren prospektiven Kohortenstudie (Gaillard et al., 2013) konnte ein Zusammenhang zwischen BMI der Mutter und kardiometabolischen Veränderungen des Nachkommens dargestellt werden. Kinder der übergewichtigen bzw. adipösen Mütter zeigten im Alter von 6 Jahren höhere BMI-Werte, Körperfett- vor allem aber Abdominalfettanteile, systolische Blutdruckwerte und Insulinblutspiegel und einen niedrigen HDL-Spiegel (high-density Lipoprotein). Tan et al. (2015) demonstrierte, dass mütterliches Übergewicht und Adipositas zur Zeit der Befruchtung, trotz des normalen Geburtsgewicht des Nachkommen (AGA, appropriate for gestational age) zu späterem Übergewicht bzw. Adipositas führen können. Sie stellten auch fest, dass diese Kinder einen deutlich erhöhten abdominalen Fettanteil und eine Insulinresistenz aufweisen.

PPAR γ wird in großen Mengen im Fettgewebe exprimiert, spielt dort eine wichtige Rolle in Differenzierung und Funktion reifer Adipozyten (Rosen et al., 2002), schützt die peripheren Organe vor einem Lipidüberfluss und verbessert die Glukoseaufnahme der Zellen über Verbesserung der Insulinsensitivität (He et al., 2003). Adipositas führt zu massiver Vergrößerung des Fettgewebes, sodass es zur Beeinträchtigung der Sauerstoffversorgung und Hypoxie des Gewebes kommt. Dies führt zu einer Fehlfunktion der Adipozyten (Ye et al., 2007). Tatsächlich konnte eine niedrigere PPAR γ -Konzentration im Serum sowie eine niedrigere PPAR γ mRNA Expression in den Makrophagen adipöser Probanden nachgewiesen werden (Motawi et al., 2017).

Übergewicht der Mütter korrelierte in einer anderen Studie mit ganzem Spektrum an Veränderungen des Lipidprofils im Serum der Untersuchten schwangeren Frauen, eine Veränderung der Expression der plazentaren PPAR γ -Konzentration konnte hier nicht festgestellt werden (Dubé et al., 2012). In einer anderen Studie konnte jedoch eine reduzierte plazentare PPAR γ DNA-Bindung in den Plazenten von Frauen mit erhöhten BMI-Werten festgestellt werden (Lager et al., 2013). Gleichzeitig wurde im Blutserum der Frauen eine erhöhte Expression des Fettsäuretransportersprotein 2 (FATP, fatty acid transport protein) gemessen, welcher bei dem Transport der Fettsäuren in die Zielorgane (Leber) mitbeteiligt ist. Es ist bekannt, dass maternale Adipositas die plazentale Fettsäureaufnahme beeinträchtigt und sich auch auf den Lipidhaushalt des Fetus auswirken kann (Dubé et al., 2012).

Im Tierexperiment wurde sowohl eine erhöhte PPAR γ mRNA Expression als auch eine erhöhte PPAR γ Proteinkonzentration in Plazenten adipöser Schafe nachgewiesen (Zhu et al., 2010). Die Autoren postulierten hier die Ursache für erhöhte PPAR γ Expression durch die gestiegenen inflammatorischen Prozesse, welche die PPAR γ Expression reaktiv hoch reguliert. Übergewicht bzw. Adipositas führt zu einer überschießenden inflammatorischen Reaktion in der Plazenta (Challier et al., 2008). Eine andere Ursache für die erhöhte Expression könnte laut Autoren auch die gestiegene Adipogenese in der Plazenta sein, da PPAR γ ein Marker für diesen Prozess ist.

In dieser Studie sollte ein möglicher Zusammenhang zwischen der plazentaren PPAR γ -Konzentration und dem Körpergewicht der Mutter untersucht werden. Es konnte jedoch keine Korrelation nachgewiesen werden, sowohl für den BMI vor der Schwangerschaft, als auch im 3. Trimenon. Auch eine detaillierte Analyse nach Aufteilung des BMI in Quintile konnte keine Zusammenhänge nachweisen. In unserer Untersuchung fokussierten wir uns nur auf die Konzentration des plazentaren PPAR γ Proteins. Um die komplizierten Beziehungen und Zusammenhänge aufzuspüren wäre wahrscheinlich ein multimodaler Ansatz von Vorteil gewesen, in dem neben der plazentaren PPAR γ -Konzentration auch die PPAR γ DNA-Bindungsaffinität untersucht worden wäre.

4.1.4 Blutdruck der Mutter

Chronische Hypertension während der Schwangerschaft erhöht im Vergleich zu der normotensiven Population den Anteil der LGA- und SGA-Neugeborenen (Frusca et al., 2017). Außerdem stellt die chronische Hypertension ein höheres Risiko für eine vorzeitige Geburt, arteriellen Hypertonus (Tenhola et al., 2006) oder einen späteren Schlaganfall dar (Kajantje et al., 2009). Lazdam et al. (2010) konnte in seiner Studie eine beeinträchtigte endotheliale Funktion beim frühgeborenen Nachkommen hypertensiver Mütter nachweisen. Arterielle Hypertension kann auch eines der Symptome der Präeklampsie sein. Diese ist mit vielen Komplikationen in der Schwangerschaft verbunden, von vorzeitiger Geburt bis hin zu erhöhter Mortalität von Mutter oder Kind (Berg et al., 2003). Bei schwerer Präeklampsie kann es zur Wachstumsretardierung des Fetus kommen, was sich im niedrigem Geburtsgewicht widerspiegelt (Odegard et al., 2000).

PPAR γ wird in den Gefäßendothelzellen und in der glatten Muskulatur der Gefäßwand exprimiert, was eine Möglichkeit direkter Auswirkung des Rezeptors auf den vaskulären Tonus und den arteriellen Blutdruck nahelegt. Unter Anwendung der ersten direkten Agonisten von PPAR γ (Insulin-Sensitizer) bemerkte man eine blutdrucksenkende Wirkung bei Diabetes Patienten (Ryan et al., 2004). In Experimenten an Knockout-Tieren resultierte das Fehlen von PPAR γ in der glatten Muskulatur der Gefäße in einem Umbau der Arterien, oxidativem Stress und einer fehlerhaften endothelialen Relaxation (Marchesi et al., 2012). PPAR γ ist auch unmittelbar an den Prozessen beteiligt, welche zur Entwicklung der Präeklampsie führen. Eine gestörte Invasion des Trophoblasten verursacht einen insuffizienten uteroplazentaren Blutfluss und beeinträchtigt damit die Versorgung des Fetus. Es kommt zu einer plazentaren Hypoxie, welche oxidativen Stress erhöht. Als plazentare Antwort auf diese Reaktion kommt es zu einer vermehrten Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine, die die maternale vaskuläre Dysfunktion steigern (Sharma et al., 2006; Chiaworapongsa et al., 2014). Oxidativer Stress und überschießende proinflammatorische Reaktion der Plazenta kann durch die Aktivierung des plazentaren PPAR γ reduziert werden (Lappas et al., 2002; Jawerbaum et al. 2004). Im Tiermodell konnte eine reduzierte Proteinexpression des plazentaren PPAR γ bei hypertensiven Ratten festgestellt werden (Mattace Raso et al., 2008). Gleichzeitig konnte bei den Ratten eine Hochregulierung der iNOS gemessen werden. Dadurch kann die lokale NO-Produktion erhöht werden, welche den Gefäßtonus

herabsetzt und somit durch Vasodilatation den uteroplazentaren Blutfluß aufrechterhalten kann. Hohe NO-Spiegel können jedoch auch den oxidativen Stress erhöhen, welcher viele Signalkaskaden beeinflussen kann (Kadam et al., 2015). Bestimmte Liganden des PPAR γ können über seine Aktivierung die Produktion des plazentaren NO verringern (Jawerbaum et al., 2004). In einer anderen Studie wurde ein präeclamptischer Zustand simuliert, in welchem der uteroplazentare Blutfluss chirurgisch reduziert wurde. Diese Ratten entwickelten die klassischen Symptome einer Präeklampsie mit arterieller Hypertension, endotheliale Dysfunktion und Proteinurie. Die Gabe des synthetischen PPAR γ -Agonisten (Rosiglitazone) verbesserte diese Symptome (McCarthy et al., 2011b). Die Untersuchungen an Frauen mit Präeklampsie zeigten eine niedrigere Konzentration der PPAR γ -Aktivatoren im Serum, was zur verringerten Aktivierung des Rezeptors führte und zur Pathologie der Präeklampsie beitragen kann (Waite et al., 2005). Dagegen zeigte sich in anderen Studien kein Unterschied in der plazentaren PPAR γ Proteinkonzentration und PPAR γ mRNA Expression bei an Präeklampsie erkrankten und gesunden Frauen. Diese Werte waren jedoch dann erhöht, wenn die Präeklampsie zusammen mit der intrauterinen Wachstumsretardierung auftrat (Holdsworth-Carson et al., 2010).

In unserer Studie entwickelten 3,7% (also 12 Mütter) einen Hypertonus während der Schwangerschaft. Die Studie ergab keinen Zusammenhang zwischen der plazentaren PPAR γ Proteinkonzentration und systolischen bzw. diastolischen Blutdruckwerten der Mütter. Auch die Betrachtung der Quantile beider Werte konnte keine Zusammenhänge nachweisen. Wie bei den zuvor dargestellten Ergebnissen muss man hier das in unserer Studie sehr kleine Kollektiv der hypertensiven Frauen beachten. Ein direkter Zusammenhang der Hypertension und der plazentaren PPAR γ -Konzentration ist noch nicht eindeutig in Studien belegt. Aus Untersuchungen der Aktivatoren bzw. Inhibitoren des PPAR γ weiß man, dass die Veränderung, welche eine Hypertension in der Schwangerschaft verursachen kann, zumindest abgemildert werden kann. Weitere Forschung ist hier jedoch nötig. Dabei sollte nicht vernachlässigt werden, dass der plazentare PPAR γ einer Autoregulation unterliegt. Eine Inhibition der plazentaren PPAR γ -Aktivität mit synthetischen Antagonisten führt zu einer Steigerung der PPAR γ -Expression, eine Aktivierung zu deren Herabsetzung (Levytska et al., 2013).

4.2 Plazentare PPAR γ -Konzentration und kindliche Parameter

Zu den messbaren Surrogatparametern der fetalen Programmierung gehören das Geburtsgewicht und das Gestationsalter. Diese können nicht nur das unmittelbare Neugeborenen-, sondern auch das spätere Erwachsenenleben beeinflussen. Der wichtigste und bislang am sorgfältigsten untersuchte Surrogatparameter der fetalen Programmierung beim Neugeborenen ist das Geburtsgewicht.

4.2.1 Geburtsgewicht

Das Geburtsgewicht gehört zu den ersten und gut beschriebenen Parametern der fetalen Programmierung. 1989 wurde Barker anhand epidemiologischer Daten darauf aufmerksam, dass ein niedriges Geburtsgewicht ein Prädiktor späterer kardiovaskulärer Erkrankungen sein könnte (Barker et al., 1989). Weitere Studien folgten und bauten diese Hypothese aus (Ravelli et al., 1998, 1999; Wadhawa, 2009). Heute wissen wir, dass ein niedriges Geburtsgewicht, als potentielle Widerspiegelung pränataler Ernährungseinschränkung, mit Diabetes mellitus Typ 2, Insulinresistenz, Arteriosklerose und anderen Symptomen des metabolischen Syndroms assoziiert ist (Barker, 2012). Die Hypothese der fetalen Programmierung besagt, dass die intrauterine Nährstoffeinschränkung zu permanenter metabolischer Verschiebung in Richtung einer Insulinresistenz führt. Vereinfacht ausgedrückt ist es das Ziel dieses Adaptationsmechanismus, den Glukoseverbrauch in der Peripherie zugunsten lebenswichtiger Organe zu reduzieren (Vejrazkova et al., 2015). Die Umleitung der Energiereserve in die Lebenserhaltung wird auch durch die Senkung des Blutflusses in andere, nicht überlebenswichtige Bereiche erzielt. Es kommt zu vermehrter Fettgewebesynthese, Reduktion der quergestreiften Muskelmasse, der Knochenmineralisation, der Kapillarisation peripherer Organe und Gewebe, zu einer endothelialen Dysfunktion, Reduktion der Nephronenzahl und zur Senkung der negativen Rückkopplung der Hypothalamus-Nebennieren-Achse (Barker, 2004). Diese Veränderungen können eine dauerhafte Modifikation des Metabolismus und des Blutdruckes von Erwachsenen mitbewirken (Harding, 2001).

An vielen dieser Prozesse ist unmittelbar auch der PPAR γ beteiligt. In unserer Studie wollten wir herausfinden, ob ein möglicher Zusammenhang zwischen der plazentaren PPAR γ -Konzentration und dem Geburtsgewicht existiert. Die erste Analyse zeigte keine Korrelation. Weitere Untersuchungen, nach Aufteilung der Neugeborenen in 3

Gruppen nach Geburtsgewicht (≤ 2500 g, < 2500 g und > 4500 g, ≥ 4500 g), ergaben ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

Es gibt bis jetzt nur wenige Studien, welche sich mit einer Korrelation zwischen PPAR γ und dem Geburtsgewicht befassten. Diaz et al. (2012) konnten einen Zusammenhang zwischen der plazentaren PPAR γ -Expression und dem niedrigem Geburtsgewicht (definiert als SGA) nachweisen. Die PPAR γ -Expression bei SGA-Neugeborenen war zweimal niedriger als bei AGA- und LGA-Neugeborenen. Eine genaue Erklärung dafür ist immer noch nicht bekannt. Die Autoren vermuteten, dass die Rolle, welche der PPAR γ bei der Plazenta-Entwicklung und beim Lipid- und Glukosehaushalt spielt, dafür maßgebend ist. Anhand eines Tiermodells konnte aufgezeigt werden, dass eine PPAR γ -Antagonist-Gabe an trächtige Mäuse in einem niedrigeren Geburtsgewicht der Nachkommen im Vergleich zur Kontrollgruppe resultiert (Sevillano et al., 2005). Julian et al. (2013) untersuchten Schwangere in extremer Höhe (> 2500 m über dem Meeresspiegel). Dabei konnte gezeigt werden, dass Mütter, die chronisch einer Hypoxie auf Grund der Höhe ausgesetzt waren, Nachkommen mit leicht reduziertem Geburtsgewicht im Vergleich zur Kontrollgruppe auf die Welt brachten und eine reduzierte PPAR γ -Expression im Blutserum aufwiesen. Die Autoren postulierten vier Mechanismen, an denen PPAR γ an der mit Hypoxie verbundenen intrauterinen Wachstumsretardierung beteiligt sein können: gestörte Plazentation, erhöhte Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine, endotheliale Dysfunktion und reduzierte Verfügbarkeit der fetalen Glukose.

Es gibt einerseits viele Faktoren, welche zum Geburtsgewicht des Kindes beitragen können, PPAR γ ist hier nur einer von vielen. Andererseits ist auch die Beteiligung des PPAR γ an Wachstumsprozessen des Fetus vielfältig. Um dies zu erforschen, wäre auch hier eine multimodale Herangehensweise wichtig.

4.2.2 Gestationsalter und andere kindliche Parameter

Frühgeburtlichkeit kann viele Ursachen haben oder auch idiopathisch auftreten. PPAR γ nimmt aktiv an Prozessen der Implantation, Plazentation und Trophoblastendifferenzierung teil (Pavan et al., 2003). Wie wichtig der PPAR γ für die Entwicklung und Vaskularisierung der Plazenta ist, zeigt ein Tiermodell, in dem die Nachkommen von homozygot-PPAR γ -defizienten Mäusen schon während der Embryonalphase aufgrund erheblicher Störung dieser Prozesse versterben (Barak et al., 1999). Infektionen, wie etwa eine Amnioninfektion während der Schwangerschaft,

können auch zu Frühgeburtlichkeit beitragen (Goldenberg et al., 2008). Die Rolle des PPAR γ an antiinflammatorischen Prozessen ist in dieser Arbeit schon mehrfach erörtert worden. In unserer Untersuchung konnten wir keinen Zusammenhang zwischen dem Gestationsalter und der plazentaren PPAR γ -Konzentration feststellen. Einige Arbeiten zeigen jedoch, dass es hier eine Korrelation gibt. Eine erhöhte Expression der plazentaren PPAR γ -Konzentration wurde im Plazentagewebe von Frauen gefunden, welche vorzeitig (um die ca. 34 Schwangerschaftswoche) entbunden hatten (Holdsworth-Carson et al., 2009). Diese könnte laut den Autoren mit dem vorzeitigen Blasensprung zusammenhängen, welcher zum Teil durch Apoptoseprozesse und inflammatorische Zytokine initiiert wird. Meirhaeghe et al. (2007) untersuchten eine Population mit einem PPAR γ -Genpolymorphismus (Pro12Ala). Sie fanden heraus, dass dieses Allel (Pro12Ala) deutlich häufiger bei Frühgeborenen aufzufinden ist. In-vitro-Experimente belegten, dass dieser Rezeptor deutlich weniger transkriptionell aktiv ist als seine reguläre Variante und somit in seiner Funktion behindert ist (Meirhaeghe et al., 2007).

4.3 Limitationen der Arbeit

Diese Arbeit war nur ein Teil einer großen, von mehreren Doktoranden betreuten Studie, deren Ziel es war, mögliche Zusammenhänge zwischen maternalen und kindlichen Parametern und verschiedenen plazentaren Proteinen zu ermitteln, mit eventuell weiteren detaillierten Untersuchungen. Bei dieser Arbeit handelt es sich um eine Assoziationsstudie. Mögliche Zusammenhänge zwischen den klinischen Daten und der PPAR γ -Proteinkonzentration könnten Grundlagen für weitere Forschung ermöglichen. Der Aufbau dieser Studie, eine Querschnitts-Assoziationsstudie, erlaubt es jedoch nicht Aussagen über Kausalitäten zu treffen, welche weiterführende Forschung und ein anderes Studiendesign benötigen würden.

Die verwendete Methode besteht aus zwei Bausteinen. Im ersten Teil wurden Daten anhand eines systematischen Interviews erhoben und aus dem Mutterpass entnommen. Im zweiten Teil wurde die plazentare PPAR γ -Proteinkonzentration bestimmt. Durch diesen Studienaufbau ergeben sich mehrere Limitationen.

Das Interview der teilnehmenden Mütter wurde durch entsprechend geschulter Mitarbeiter am ersten oder zweiten Tag nach der Entbindung geführt. Einige Angaben könnten wissentlich oder unwissentlich durch die Angabe sozial akzeptierter Antworten zur eigenen Person durch die Probandinnen verfälscht worden sein, zum Beispiel in Bezug auf Rauchverhalten.

Die Materialgewinnung erfolgte durch das Entnehmen der Kotyledonen aus der Plazenta-Mitte. Es wurde auf möglichst gleich durchblutete Areale geachtet, jedoch ergab sich diese Einschätzung nur rein makroskopisch durch vorher geschulte Mitarbeiter. Aus Gewebeproben wurde für die Proteinextraktion jeweils ein Gramm entnommen, was trotz gleichbleibender Versuchsdurchführung eine gewisse Variabilität der Gewebestruktur mit sich bringen kann.

Die untersuchte Kohorte war relativ groß, jedoch der prozentuale Anteil von Hypertonus und Diabetes Erkrankungen, Über- oder Untergewicht relativ gering. Die gemessenen kindlichen Parameter bezogen sich nur auf die direkte Phase nach der Geburt. Viele Veränderungen im Rahmen der fetalen Programmierung, die PPAR γ -relevant sind, treten jedoch in späteren Lebensphasen auf. Die Messung der PPAR γ -Proteinkonzentration bezog sich ausschließlich auf die Plazenta und nur zum Zeitpunkt der Geburt. Somit wissen wir nicht, wie sich dieser Parameter in frühen Phasen der Schwangerschaft gestaltete und welche Auswirkung er auf die kindlichen Parameter hätte.

Literaturverzeichnis

- Amoruso, A., Gunella, G., Rondano, E., Bardelli, C., Fresu, L. G., Ferrero, V., Ribichini, F., Vassanelli, C., & Brunelleschi, S. (2009). Tobacco smoke affects expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in monocyte/macrophages of patients with coronary heart disease. *British Journal of Pharmacology*, *158*(5), 1276–1284.
- Amoruso, Angela, Bardelli, C., Gunella, G., Fresu, L. G., Ferrero, V., & Brunelleschi, S. (2007). Quantification of PPAR- γ protein in monocyte/macrophages from healthy smokers and non-smokers: A possible direct effect of nicotine. *Life Sciences*, *81*(11), 906–915.
- Andersen, M. R., Simonsen, U., Uldbjerg, N., Aalkjær, C., & Stender, S. (2009). Smoking Cessation Early in Pregnancy and Birth Weight, Length, Head Circumference, and Endothelial Nitric Oxide Synthase Activity in Umbilical and Chorionic Vessels: An Observational Study of Healthy Singleton Pregnancies. *Circulation*, *119*(6), 857–864.
- Babaev, V. R., Yancey, P. G., Ryzhov, S. V., Kon, V., Breyer, M. D., Magnuson, M. A., Fazio, S., & Linton, M. F. (2005). Conditional Knockout of Macrophage PPAR γ Increases Atherosclerosis in C57BL/6 and Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *25*(8), 1647–1653.
- Barak, Y., Nelson, M. C., Ong, E. S., Jones, Y. Z., Ruiz-Lozano, P., Chien, K. R., Koder, A., & Evans, R. M. (1999). PPAR γ Is Required for Placental, Cardiac, and Adipose Tissue Development. *Molecular Cell*, *4*(4), 585–595.
- Barker, D. J. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *311*(6998), 171–174.

- Barker, D. J. P. (2004). The developmental origins of well-being. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1449), 1359–1366.
- Barker, D. J. P. (2012). Developmental origins of chronic disease. *Public Health*, 126(3), 185–189.
- Barker, D. J. P., Godfrey, K. M., Gluckman, P. D., Harding, J. E., Owens, J. A., & Robinson, J. S. (1993). Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *The Lancet*, 341(8850), 938–941.
- Barker, D. J. P., Osmond, C., Winter, P. D., Margetts, B., & Simmonds, S. J. (1989). Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *The Lancet*, 334(8663), 577–580.
- Barnes-Powell, L. (2007). Infants of Diabetic Mothers: The Effects of Hyperglycemia on the Fetus and Neonate. *Neonatal Network*, 26(5), 283–290.
- Benowitz, N. (2008). Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing, and Treating Tobacco Addiction. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(4), 531–541.
- Berg, C. J., Chang, J., Callaghan, W. M., & Whitehead, S. J. (2003). Pregnancy-related mortality in the United States, 1991–1997. *Obstetrics & Gynecology*, 101(2), 289–296.
- Berger, J., & Moller, D. E. (2002). The Mechanisms of Action of PPARs. *Annual Review of Medicine*, 53(1), 409–435.
- Bhutta, Z. A., Das, J. K., Rizvi, A., Gaffey, M. F., Walker, N., Horton, S., Webb, P., Lartey, A., & Black, R. E. (2013). Evidence-based interventions for improvement of maternal and child nutrition: What can be done and at what cost? *The Lancet*, 382(9890), 452–477.

- Bojic, L. A., & Huff, M. W. (2013). Peroxisome proliferator-activated receptor δ : A multifaceted metabolic player. *Current Opinion in Lipidology*, *24*(2), 171–177.
- Boney, C. M., Verma, A., Tucker, R., & Vohr, B. R. (2005). Metabolic Syndrome in Childhood: Association With Birth Weight, Maternal Obesity, and Gestational Diabetes Mellitus. *Pediatrics*, *115*(3), e290-6.
- Bookout, A. L., Jeong, Y., Downes, M., Yu, R. T., Evans, R. M., & Mangelsdorf, D. J. (2006). Anatomical Profiling of Nuclear Receptor Expression Reveals a Hierarchical Transcriptional Network. *Cell*, *126*(4), 789–799.
- Brown, M., Hague, W., Higgins, J., Lowe, S., McCowan, L., Oats, J., Peek, M., Rowan, J., & Walters, B. (2000). The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: Full consensus statement. *The Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, *40*(2), 139–155.
- Catalano, P. M., Farrell, K., Thomas, A., Huston-Presley, L., Mencin, P., de Mouzon, S. H., & Amini, S. B. (2009). Perinatal risk factors for childhood obesity and metabolic dysregulation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *90*(5), 1303–1313.
- Chaiworapongsa, T., Chaemsaitong, P., Yeo, L., & Romero, R. (2014). Pre-eclampsia part 1: Current understanding of its pathophysiology. *Nature Reviews Nephrology*, *10*(8), 466–480.
- Challier, J. C., Basu, S., Bintein, T., Minium, J., Hotmire, K., Catalano, P. M., & Hauguel-de Mouzon, S. (2008). Obesity in Pregnancy Stimulates Macrophage Accumulation and Inflammation in the Placenta. *Placenta*, *29*(3), 274–281.
- Chawla, A., Schwarz, E. J., Dimaculangan, D. D., & Lazar, M. A. (1994). Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: Adipose-predominant

- expression and induction early in adipocyte differentiation. *Endocrinology*, 135(2), 798–800.
- Clausen, T. D., Mathiesen, E. R., Hansen, T., Pedersen, O., Jensen, D. M., Lauenborg, J., & Damm, P. (2008). High Prevalence of Type 2 Diabetes and Pre-Diabetes in Adult Offspring of Women With Gestational Diabetes Mellitus or Type 1 Diabetes: The role of intrauterine hyperglycemia. *Diabetes Care*, 31(2), 340–346.
- Crowther, N. J., Cameron, N., Trusler, J., & Gray, I. P. (1998). Association between poor glucose tolerance and rapid post natal weight gain in seven-year-old children. *Diabetologia*, 41(10), 1163–1167.
- Cunningham, S., & Cameron, I. T. (2003). Consequences of fetal growth restriction during childhood and adult life. *Current Obstetrics & Gynaecology*, 13(4), 212–217.
- Díaz, M., Bassols, J., López-Bermejo, A., Gómez-Roig, M. D., de Zegher, F., & Ibáñez, L. (2012). Placental Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ): Relation to Placental and Fetal Growth. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(8), E1468–E1472.
- Djelantik, A., Kunst, A., van der Wal, M., Smit, H., & Vrijkotte, T. (2012). Contribution of overweight and obesity to the occurrence of adverse pregnancy outcomes in a multi-ethnic cohort: Population attributive fractions for Amsterdam: Overweight and the PAF of adverse pregnancy outcomes. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 119(3), 283–290.
- Dougherty, C. R. S., & Jones, A. D. (1982). The determinants of birth weight. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 144(2), 190–200.
- Dubé, E., Gravel, A., Martin, C., Desparois, G., Moussa, I., Ethier-Chiasson, M., Forest, J.-C., Giguère, Y., Masse, A., & Lafond, J. (2012). Modulation of Fatty

- Acid Transport and Metabolism by Maternal Obesity in the Human Full-Term Placenta1. *Biology of Reproduction*, 87(14), 1–11).
- Eriksson, J. G., Forsén, T., Tuomilehto, J., Osmond, C., & Barker, D. J. P. (2003). Early adiposity rebound in childhood and risk of Type 2 diabetes in adult life. *Diabetologia*, 46(2), 190–194.
- Eriksson, J. G., Forsén, T., Tuomilehto, J., Winter, P. D., Osmond, C., & Barker, D. J. (1999). Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: Longitudinal study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 318(7181), 427–431.
- Fajas, L., Auboeuf, D., Raspe, E., Schoonjans, K., Lefebvre, A.-M., Saladin, R., Najib, J., Laville, M., Fruchart, J.-C., Deeb, S., Vidal-Puig, A., Flier, J., Briggs, M. R., Staels, B., Vidal, H., & Auwerx, J. (1997). The Organization, Promoter Analysis, and Expression of the Human PPAR γ Gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(25), 18779–18789.
- Fajas, L., Fruchart, J.-C., & Auwerx, J. (1998). PPAR γ 3 mRNA: A distinct PPAR γ mRNA subtype transcribed from an independent promoter. *FEBS Letters*, 438(1–2), 55–60.
- Feige, J. N., Gelman, L., Michalik, L., Desvergne, B., & Wahli, W. (2006). From molecular action to physiological outputs: Peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. *Progress in Lipid Research*, 45(2), 120–159.
- Forman, B. M., Tontonoz, P., Chen, J., Brun, R. P., Spiegelman, B. M., & Evans, R. M. (1995). 15-Deoxy- Δ 12,14-Prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR γ . *Cell*, 83(5), 803–812.
- Fournier, T., Pavan, L., Tarrade, A., Schoonjans, K., Auwerx, J., Rochette-Egly, C., & Evain-Brion, D. (2002). The Role of PPAR- γ /RXR- α Heterodimers in the

- Regulation of Human Trophoblast Invasion. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 973(1), 26–30.
- Frusca, T., Parolini, S., Dall’Asta, A., Hassan, W. A., Vitulo, A., Gillett, A., Pasupathy, D., & Lees, C. C. (2017). Fetal size and growth velocity in chronic hypertension. *Pregnancy Hypertension*, 10, 101–106.
- Fujiwara, T., Yoshioka, S., Yoshioka, T., Ushiyama, I., & Horikoshi, H. (1988). Characterization of New Oral Antidiabetic Agent CS-045: Studies in KK and ob/ob Mice and Zucker Fatty Rats. *Diabetes*, 37(11), 1549–1558.
- Gaillard, R., Steegers, E. A. P., Duijts, L., Felix, J. F., Hofman, A., Franco, O. H., & Jaddoe, V. W. V. (2014). Childhood Cardiometabolic Outcomes of Maternal Obesity During Pregnancy: The Generation R Study. *Hypertension*, 63(4), 683–691.
- Gao, Y., She, R., & Sha, W. (2017). Gestational diabetes mellitus is associated with decreased adipose and placenta peroxisome proliferator-activator receptor γ expression in a Chinese population. *Oncotarget*, 8(69), 113928–113937.
- Gastaldelli, A., Miyazaki, Y., Pettiti, M., Santini, E., Ciociaro, D., DeFronzo, R. A., & Ferrannini, E. (2006). The Effect of Rosiglitazone on the Liver: Decreased Gluconeogenesis in Patients with Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(3), 806–812.
- Gheorghe, C. P., Goyal, R., Mittal, A., & Longo, L. D. (2010). Gene expression in the placenta: Maternal stress and epigenetic responses. *The International Journal of Developmental Biology*, 54(2–3), 507–523.
- Glover, V., O’Donnell, K. J., O’Connor, T. G., & Fisher, J. (2018). Prenatal maternal stress, fetal programming, and mechanisms underlying later psychopathology—A global perspective. *Development and Psychopathology*, 30(3), 843–854.

- Godfrey, K. M., Sheppard, A., Gluckman, P. D., Lillycrop, K. A., Burdge, G. C., McLean, C., Rodford, J., Slater-Jefferies, J. L., Garratt, E., Crozier, S. R., Emerald, B. S., Gale, C. R., Inskip, H. M., Cooper, C., & Hanson, M. A. (2011). Epigenetic Gene Promoter Methylation at Birth Is Associated With Child's Later Adiposity. *Diabetes*, *60*(5), 1528–1534.
- Godfrey, Keith M., & Barker, D. J. P. (1995). Maternal nutrition in relation to fetal and placental growth. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, *61*(1), 15–22.
- Gokina, N. I., Chan, S.-L., Chapman, A. C., Oppenheimer, K., Jetton, T. L., & Cipolla, M. J. (2013). Inhibition of PPAR γ during rat pregnancy causes intrauterine growth restriction and attenuation of uterine vasodilation. *Frontiers in Physiology*, *4*, 184–184.
- Goldenberg, R. L., Culhane, J. F., Iams, J. D., & Romero, R. (2008). Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet*, *371*(9606), 75–84.
- Gonzalez, E., & Jawerbaum, A. (2006). Diabetic Pregnancies: The Challenge of Developing in a Pro-Inflammatory Environment. *Current Medicinal Chemistry*, *13*(18), 2127–2138.
- Grygiel-Górniak, B. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: Nutritional and clinical implications - a review. *Nutrition Journal*, *13*(1), 17.
- Hales, C N, Barker, D. J., Clark, P. M., Cox, L. J., Fall, C., Osmond, C., & Winter, P. D. (1991). Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *303*(6809), 1019–1022.
- Hales, C N, & Ozanne, S. E. (2003). The dangerous road of catch-up growth. *The Journal of Physiology*, *547*(1), 5–10.

- Hales, C Nicholas, & Barker, D. J. P. (2001). The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin*, 60(1), 5–20.
- HAPO Study Cooperative Research Group. (2009). Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study: Associations with neonatal anthropometrics. *Diabetes*, 58(2), 453–459.
- Harding, J. (2001). The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *International Journal of Epidemiology*, 30(1), 15–23.
- Harrington, T. A. M., Thomas, E. L., Frost, G., Modi, N., & Bell, J. D. (2004). Distribution of Adipose Tissue in the Newborn. *Pediatric Research*, 55(3), 437–441.
- He, W., Barak, Y., Hevener, A., Olson, P., Liao, D., Le, J., Nelson, M., Ong, E., Olefsky, J. M., & Evans, R. M. (2003). Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15712–15717.
- Hevener, A. L., He, W., Barak, Y., Le, J., Bandyopadhyay, G., Olson, P., Wilkes, J., Evans, R. M., & Olefsky, J. (2003). Muscle-specific Pparg deletion causes insulin resistance. *Nature Medicine*, 9(12), 1491–1497.
- Hochar, B. (2014). More than genes: The advanced fetal programming hypothesis. *Journal of Reproductive Immunology*, 104–105, 8–11.
- Hochar, B., Slowinski, T., Bauer, C., & Halle, H. (2001). The advanced fetal programming hypothesis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(6), 1298–1299.
- Holdsworth-Carson, Sarah J., Permezel, M., Rice, G. E., & Lappas, M. (2009). Preterm and infection-driven preterm labor: The role of peroxisome

- proliferator-activated receptors and retinoid X receptor. *REPRODUCTION*, 137(6).
- Holdsworth-Carson, S.J., Lim, R., Mitton, A., Whitehead, C., Rice, G. E., Permezel, M., & Lappas, M. (2010). Peroxisome proliferator-activated receptors are altered in pathologies of the human placenta: Gestational diabetes mellitus, intrauterine growth restriction and preeclampsia. *Placenta*, 31(3), 222–229.
- ICD-10: Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme. 10. Revision—Band I — Systematisches Verzeichnis. Version 1.0, Stand August 1994.* (2013). Springer-Verlag.
- Indrio, F., Martini, S., Francavilla, R., Corvaglia, L., Cristofori, F., Mastrolia, S. A., Neu, J., Rautava, S., Russo Spena, G., Raimondi, F., & Loverro, G. (2017). Epigenetic Matters: The Link between Early Nutrition, Microbiome, and Long-term Health Development. *Frontiers in Pediatrics*, 5, 178.
- Issemann, I., & Green, S. (1990). Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 347(6294), 645–650.
- Jansson, T., & Powell, T. L. (2007). Role of the placenta in fetal programming: Underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clinical Science*, 113(1), 1–13.
- Jauniaux, E., Watson, A. L., Hempstock, J., Bao, Y.-P., Skepper, J. N., & Burton, G. J. (2000). Onset of Maternal Arterial Blood Flow and Placental Oxidative Stress. *The American Journal of Pathology*, 157(6), 2111–2122.
- Jawerbaum, A., Capobianco, E., Pustovrh, C., White, V., Baier, M., Salzberg, S., Pesaresi, M., & Gonzalez, E. (2004). Influence of peroxisome proliferator-activated receptor γ activation by its endogenous ligand 15-deoxy $\Delta^{12,14}$

- prostaglandin J2 on nitric oxide production in term placental tissues from diabetic women. *Molecular Human Reproduction*, 10(9), 671–676.
- Jiang, C., Ting, A. T., & Seed, B. (1998). PPAR- γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*, 391(6662), 82–86.
- Julian, C. G., Yang, I. V., Browne, V. A., Vargas, E., Rodriguez, C., Pedersen, B. S., Moore, L. G., & Schwartz, D. A. (2014). Inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor γ : A potential link between chronic maternal hypoxia and impaired fetal growth. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 28(3), 1268–1279.
- Kadam, L., Kohan-Ghadr, H. R., & Drewlo, S. (2015). The balancing act—PPAR- γ 's roles at the maternal-fetal interface. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 61(2), 65–71. PubMed.
- Kahn, C. R., Chen, L., & Cohen, S. E. (2000). Unraveling the mechanism of action of thiazolidinediones. *Journal of Clinical Investigation*, 106(11), 1305–1307.
- Kajantie, E., Eriksson, J. G., Osmond, C., Thornburg, K., & Barker, D. J. P. (2009). Pre-Eclampsia Is Associated With Increased Risk of Stroke in the Adult Offspring: The Helsinki Birth Cohort Study. *Stroke*, 40(4), 1176–1180.
- Kc, K., Shakya, S., & Zhang, H. (2015). Gestational Diabetes Mellitus and Macrosomia: A Literature Review. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 66(2), 14–20.
- Knabl, J., Hüttenbrenner, R., Hutter, S., Günthner-Biller, M., Vrekoussis, T., Karl, K., Friese, K., Kainer, F., & Jeschke, U. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR γ) is down regulated in trophoblast cells of gestational diabetes mellitus (GDM) and in trophoblast tumour cells BeWo in vitro after stimulation with PPAR γ agonists. *Journal of Perinatal Medicine*, 42(2), 179–187.

- Kossenjans, W., Eis, A., Sahay, R., Brockman, D., & Myatt, L. (2000). Role of peroxynitrite in altered fetal-placental vascular reactivity in diabetes or preeclampsia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 278(4), H1311–H1319.
- Kota, B., Huang, T., & Roufogalis, B. (2005). An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research*, 51(2), 85–94.
- Koutnikova, H., Cock, T.-A., Watanabe, M., Houten, S. M., Champy, M.-F., Dierich, A., & Auwerx, J. (2003). Compensation by the muscle limits the metabolic consequences of lipodystrophy in PPAR hypomorphic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 14457–14462.
- Lager, S., Gaccioli, F., Ramirez, V. I., Aye, I., Jansson, T., & Powell, T. L. (2013). High maternal BMI is associated with inhibition of placental PPAR γ signaling and increased basal plasma membrane FATP2 expression. *Placenta*, 34(9), A47.
- Lain, K. Y., & Catalano, P. M. (2007). Metabolic Changes in Pregnancy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 50(4), 938–948.
- Lane, R. H. (2014). Fetal Programming, Epigenetics, and Adult Onset Disease. *Clinics in Perinatology*, 41(4), 815–831.
- Lappas, M., Permezel, M., Georgiou, H. M., & Rice, G. E. (2002). Regulation of Proinflammatory Cytokines in Human Gestational Tissues by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ : Effect of 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ and Troglitazone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(10), 4667–4672.
- Law, C. M., Barker, D. J., Osmond, C., Fall, C. H., & Simmonds, S. J. (1992). Early growth and abdominal fatness in adult life. *Journal of Epidemiology & Community Health*, 46(3), 184–186.

- Lazdam, M., de la Horra, A., Pitcher, A., Mannie, Z., Diesch, J., Trevitt, C., Kyliantireas, I., Contractor, H., Singhal, A., Lucas, A., Neubauer, S., Kharbanda, R., Alp, N., Kelly, B., & Leeson, P. (2010). Elevated Blood Pressure in Offspring Born Premature to Hypertensive Pregnancy: Is Endothelial Dysfunction the Underlying Vascular Mechanism? *Hypertension*, 56(1), 159–165.
- Leon, D. A., Koupilova, I., Lithell, H. O., Berglund, L., Mohsen, R., Vagero, D., Lithell, U. B., & McKeigue, P. M. (1996). Failure to realise growth potential in utero and adult obesity in relation to blood pressure in 50 year old Swedish men. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 312(7028), 401–406. PubMed.
- Leon, D. A., Lithell, H. O., Vagero, D., Koupilova, I., Mohsen, R., Berglund, L., Lithell, U.-B., & McKeigue, P. M. (1998). Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: Cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915-29. *BMJ*, 317(7153), 241–245.
- Levytska, K., Drewlo, S., Baczyk, D., & Kingdom, J. (2014). PPAR- γ Regulates Trophoblast Differentiation in the BeWo Cell Model. *PPAR Research*, 2014, 637251–637251.
- Marchesi, C., Rehman, A., Rautureau, Y., Kasal, D. A., Briet, M., Leibowitz, A., Simeone, S. M. C., Ebrahimian, T., Neves, M. F., Offermanns, S., Gonzalez, F. J., Paradis, P., & Schiffrin, E. L. (2013). Protective role of vascular smooth muscle cell PPAR γ in angiotensin II-induced vascular disease. *Cardiovascular Research*, 97(3), 562–570.
- Marciniak, A., Patro-Małyśza, J., Kimber-Trojnar, Ż., Marciniak, B., Oleszczuk, J., & Leszczyńska-Gorzelak, B. (2017). Fetal programming of the metabolic syndrome. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 56(2), 133–138.

- Marx Nikolaus, Bourcier Todd, Sukhova Galina K., Libby Peter, & Plutzky Jorge. (1999). PPAR γ Activation in Human Endothelial Cells Increases Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 Expression. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19(3), 546–551.
- Mattace Raso, G., Bianco, G., Esposito, E., Iacono, A., Meli, R., & Autore, G. (2008). Evaluation of Placental Protein Modifications in Normotensive and Spontaneously Hypertensive Rats. *Placenta*, 29(5), 429–435.
- McCarthy, F. P., Drewlo, S., English, F. A., Kingdom, J., Johns, E. J., Kenny, L. C., & Walsh, S. K. (2011). Evidence Implicating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ in the Pathogenesis of Preeclampsia. *Hypertension*, 58(5), 882–887.
- McCarthy, F. P., Drewlo, S., Kingdom, J., Johns, E. J., Walsh, S. K., & Kenny, L. C. (2011). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ as a Potential Therapeutic Target in the Treatment of Preeclampsia. *Hypertension*, 58(2), 280–286.
- Medina-Gomez, G., Gray, S. L., Yetukuri, L., Shimomura, K., Virtue, S., Campbell, M., Curtis, R. K., Jimenez-Linan, M., Blount, M., Yeo, G. S. H., Lopez, M., Seppänen-Laakso, T., Ashcroft, F. M., Oresic, M., & Vidal-Puig, A. (2007). PPAR gamma 2 prevents lipotoxicity by controlling adipose tissue expandability and peripheral lipid metabolism. *PLoS Genetics*, 3(4), e64–e64.
- Meirhaeghe, A., Boreham, C. A. G., Murray, L. J., Richard, F., Smith, G. D., Young, I. S., & Amouyel, P. (2007). A Possible Role for the PPAR γ Pro12Ala Polymorphism in Preterm Birth. *Diabetes*, 56(2), 494–498.
- Miodovnik, A., Diplas, A. I., Chen, J., Zhu, C., Engel, S. M., & Wolff, M. S. (2012). Polymorphisms in the maternal sex steroid pathway are associated with behavior problems in male offspring: *Psychiatric Genetics*, 22(3), 115–122.

- Motawi, T. K., Shaker, O. G., Ismail, M. F., & Sayed, N. H. (2017). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma in Obesity and Colorectal Cancer: The Role of Epigenetics. *Scientific Reports*, 7(1), 10714–10714.
- Myatt, L., & Cui, X. (2004). Oxidative stress in the placenta. *Histochemistry and Cell Biology*, 122(4), 369–382.
- Nugent, B. M., & Bale, T. L. (2015). The omniscient placenta: Metabolic and epigenetic regulation of fetal programming. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 39, 28–37.
- Oates, J. C., Reilly, C. M., Crosby, M. B., & Gilkeson, G. S. (2002). Peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists: Potential use for treating chronic inflammatory diseases. *Arthritis & Rheumatism*, 46(3), 598–605.
- Ødegård, R. A., Vatten, L. J., Nilsen, S. T., Salvesen, K. Å., & Austgulen, R. (2000). Preeclampsia and Fetal Growth. *Obstetric & Gynecology*, 96(6), 950–955.
- Ong, K. K., Ahmed, M. L., Emmett, P. M., Preece, M. A., & Dunger, D. B. (2000). Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: Prospective cohort study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 320(7240), 967–971.
- Papathakis, P. C., Singh, L. N., & Manary, M. J. (2016). How maternal malnutrition affects linear growth and development in the offspring. *Special issue: Impact of maternal metabolism on newborn health*, 435, 40–47.
- Pavan, L., Tarrade, A., Hermouet, A., Delouis, C., Titeux, M., Vidaud, M., Therond, P., Evain-Brion, D., & Fournier, T. (2003). Human invasive trophoblasts transformed with simian virus 40 provide a new tool to study the role of PPAR in cell invasion process. *Carcinogenesis*, 24(8), 1325–1336.
- Perrone, S., Santacroce, A., Picardi, A., & Buonocore, G. (2016). Fetal programming and early identification of newborns at high risk of free radical-mediated diseases. *World Journal of Clinical Pediatrics*, 5(2), 172–181.

- Poulsen, P., Vaag, A. A., Kyvik, K. O., Jensen, D. M., & Beck-Nielsen, H. (1997). Low birth weight is associated with NIDDM in discordant monozygotic and dizygotic twin pairs. *Diabetologia*, *40*(4), 439–446.
- Rajdl, D., Racek, J., Steinerová, A., Novotný, Z., Stožický, F., Trefil, L., & Siala, K. (2005). Markers of Oxidative Stress in Diabetic Mothers and Their Infants During Delivery. *Physiological Research*, *54*, 429–436.
- Ravelli, A. C., van der Meulen, J. H., Osmond, C., Barker, D. J., & Bleker, O. P. (1999). Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *70*(5), 811–816.
- Ravelli, A., van der Meulen, J., Michels, R., Osmond, C., Barker, D., Hales, C., & Bleker, O. (1998). Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *The Lancet*, *351*(9097), 173–177.
- Reichetzedder, C., Dwi Putra, S. E., Li, J., & Hocher, B. (2016). Developmental Origins of Disease—Crisis Precipitates Change. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *39*(3), 919–938.
- Ren, D., Collingwood, T. N., Rebar, E. J., Wolffe, A. P., & Camp, H. S. (2002). PPARgamma knockdown by engineered transcription factors: Exogenous PPARgamma2 but not PPARgamma1 reactivates adipogenesis. *Genes & Development*, *16*(1), 27–32.
- Ricote, M., Li, A. C., Willson, T. M., Kelly, C. J., & Glass, C. K. (1998). The peroxisome proliferator-activated receptor- γ is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, *391*(6662), 79–82.
- Rigamonti, E., Chinetti-Gbaguidi, G., & Staels, B. (2008). Regulation of Macrophage Functions by PPAR- α , PPAR- γ , and LXRs in Mice and Men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *28*(6), 1050–1059.

- Rosen, E. D., Hsu, C.-H., Wang, X., Sakai, S., Freeman, M. W., Gonzalez, F. J., & Spiegelman, B. M. (2002). C/EBPalpha induces adipogenesis through PPARgamma: A unified pathway. *Genes & Development*, *16*(1), 22–26.
- Rösen, P., Nawroth, P. P., King, G., Möller, W., Tritschler, H.-J., & Packer, L. (2001). The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: A summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, *17*(3), 189–212.
- Ryan, M. J., Didion, S. P., Mathur, S., Faraci, F. M., & Sigmund, C. D. (2004). PPARγ Agonist Rosiglitazone Improves Vascular Function and Lowers Blood Pressure in Hypertensive Transgenic Mice. *Hypertension*, *43*(3), 661–666.
- Sarraf, P., Mueller, E., Smith, W. M., Wright, H. M., Kum, J. B., Aaltonen, L. A., de la Chapelle, A., Spiegelman, B. M., & Eng, C. (1999). Loss-of-Function Mutations in PPARγ Associated with Human Colon Cancer. *Molecular Cell*, *3*(6), 799–804.
- Sevillano, J., López-Pérez, I. C., Herrera, E., del Pilar Ramos, M., & Bocos, C. (2005). Enlitazone administration to late pregnant rats produces delayed body growth and insulin resistance in their fetuses and neonates. *Biochemical Journal*, *389*(3), 913–918.
- Sharma, J. B., Sharma, A., Bahadur, A., Vimala, N., Satyam, A., & Mittal, S. (2006). Oxidative stress markers and antioxidant levels in normal pregnancy and pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, *94*(1), 23–27.
- Solano, M. E., Holmes, M. C., Mittelstadt, P. R., Chapman, K. E., & Tolosa, E. (2016). Antenatal endogenous and exogenous glucocorticoids and their impact on immune ontogeny and long-term immunity. *Seminars in Immunopathology*, *38*(6), 739–763.

- Suter, M., Abramovici, A., & Aagaard-Tillery, K. (2010). Genetic and epigenetic influences associated with intrauterine growth restriction due to in utero tobacco exposure. *Pediatric Endocrinology Reviews: PER*, 8(2), 94–102.
- Suwaki, N., Masuyama, H., Masumoto, A., Takamoto, N., & Hiramatsu, Y. (2007). Expression and Potential Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ in the Placenta of Diabetic Pregnancy. *Placenta*, 28(4), 315–323.
- Tan, H. C., Roberts, J., Catov, J., Krishnamurthy, R., Shypailo, R., & Bacha, F. (2015). Mother's pre-pregnancy BMI is an important determinant of adverse cardiometabolic risk in childhood: Mother's BMI and childhood metabolic risk. *Pediatric Diabetes*, 16(6), 419–426.
- Tenhola, S., Rahiala, E., Halonen, P., Vanninen, E., & Voutilainen, R. (2006). Maternal Preeclampsia Predicts Elevated Blood Pressure in 12-Year-Old Children: Evaluation by Ambulatory Blood Pressure Monitoring. *Pediatric Research*, 59(2), 320–324.
- Tontonoz, P., Hu, E., Graves, R. A., Budavari, A. I., & Spiegelman, B. M. (1994). mPPAR gamma 2: Tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes & Development*, 8(10), 1224–1234.
- Trombetta, A., Maggiora, M., Martinasso, G., Cotogni, P., Canuto, R. A., & Muzio, G. (2007). Arachidonic and docosahexaenoic acids reduce the growth of A549 human lung-tumor cells increasing lipid peroxidation and PPARs. *Chemico-Biological Interactions*, 165(3), 239–250.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.

- Vejrazkova, D., Lukasova, P., Vankova, M., Bradnova, O., Vacinova, G., Vcelak, J., Cirmanova, V., Andelova, K., Krejci, H., & Bendlova, B. (2015). Gestational Diabetes – Metabolic Risks of Adult Women With Respect to Birth Weight. *Physiological Research*, *64*, 135–145.
- Visentin, S., Grumolato, F., Nardelli, G. B., Di Camillo, B., Grisan, E., & Cosmi, E. (2014). Early origins of adult disease: Low birth weight and vascular remodeling. *Atherosclerosis*, *237*(2), 391–399.
- Viswakarma, N., Jia, Y., Bai, L., Vluggens, A., Borensztajn, J., Xu, J., & Reddy, J. K. (2010). Coactivators in PPAR-Regulated Gene Expression. *PPAR Research*, *2010*, 1–21.
- Wadhwa, P., Buss, C., Entringer, S., & Swanson, J. (2009). Developmental Origins of Health and Disease: Brief History of the Approach and Current Focus on Epigenetic Mechanisms. *Seminars in Reproductive Medicine*, *27*(05), 358–368.
- Waite, L. L., Louie, R. E., & Taylor, R. N. (2005). Circulating Activators of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Are Reduced in Preeclamptic Pregnancy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *90*(2), 620–626.
- Wang, X., Zuckerman, B., Pearson, C., Kaufman, G., Chen, C., Wang, G., Niu, T., Wise, P. H., Bauchner, H., & Xu, X. (2002). Maternal Cigarette Smoking, Metabolic Gene Polymorphism, and Infant Birth Weight. *JAMA*, *287*(2), 195–202.
- Weinheimer, C., Wang, H., Comstock, J. M., Singh, P., Wang, Z., Locklear, B. A., Goodwin, K. L., Maschek, J. A., Cox, J. E., Baack, M. L., & Joss-Moore, L. A. (2020). Maternal Tobacco Smoke Exposure Causes Sex-Divergent Changes in Placental Lipid Metabolism in the Rat. *Reproductive Sciences*, *27*(2), 631–643.

- Westin, S., Kurokawa, R., Nolte, R. T., Wisely, G. B., McInerney, E. M., Rose, D. W., Milburn, M. V., Rosenfeld, M. G., & Glass, C. K. (1998). Interactions controlling the assembly of nuclear-receptor heterodimers and co-activators. *Nature*, 395(6698), 199–202.
- Weyerstahl, T., Stauber, M., & Andergassen, U. (2013). *Gynäkologie und Geburtshilfe* (4., vollst. überarb. Aufl.). Thieme.
- Wickstrom, R. (2007). Effects of Nicotine During Pregnancy: Human and Experimental Evidence. *Current Neuropharmacology*, 5(3), 213–222.
- Yamada, L., & Chong, S. (2017). Epigenetic studies in Developmental Origins of Health and Disease: Pitfalls and key considerations for study design and interpretation. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 8(1), 30–43.
- Ye, J., Gao, Z., Yin, J., & He, Q. (2007). Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293(4), E1118–E1128.
- Yin, Y., Hou, G., Li, E., Wang, Q., & Kang, J. (2014). PPAR γ agonists regulate tobacco smoke-induced Toll like receptor 4 expression in alveolar macrophages. *Respiratory Research*, 15(1), 28–28.
- Yu, J., Qiu, Y., Yang, J., Bian, S., Chen, G., Deng, M., Kang, H., & Huang, L. (2016). DNMT1-PPAR γ pathway in macrophages regulates chronic inflammation and atherosclerosis development in mice. *Scientific Reports*, 6(1), 30053–30053.
- Zhu, M. J., Ma, Y., Long, N. M., Du, M., & Ford, S. P. (2010). Maternal obesity markedly increases placental fatty acid transporter expression and fetal blood triglycerides at midgestation in the ewe. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 299(5), R1224–R1231.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Ewelina Sceplik, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Zusammenhänge zwischen der plazentaren Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor gamma Konzentration und biologischen Parametern von Mutter und Kind“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

[Für den Fall, dass Sie die Forschung für Ihre Promotion ganz oder teilweise in Gruppenarbeit durchgeführt haben:] Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen

einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches)
sind mir bekannt und bewusst.“

Datum: 01.06.2020

Unterschrift:

Lebenslauf

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

Danksagung

Zuerst möchte ich mich sehr herzlich bei Prof. B. Hoher für die Möglichkeit bedanken, an seinem Projekt mitwirken zu können.

Weiterhin bedanke ich mich bei PD Dr. med. P. Kalk für seine freundliche Betreuung meiner Arbeit sowie der ganzen Arbeitsgruppe für die stets professionelle und gute kollegiale Zusammenarbeit.

Ein ganz herzlicher Dank geht an Herrn Dr. med. Christoph Reichentzeder für Korrekturen, Anmerkungen, konstruktive Kritik und statistische Beratung und Unterstützung.

Einen besonderen Dank möchte ich meinen liebevollen Eltern aussprechen, welche mich stets bei jedem Projekt unterstützen und an mich glauben.

Und meinem Ehemann Herrn Marc Schicker möchte ich dafür danken, dass er mich immer ermuntert hat, diese Arbeit fertigzustellen.