

Aus dem  
CharitéCentrum für Magen-, Darm-, Nieren- und Stoffwechselmedizin (CC10)  
Medizinische Klinik für Nephrologie - Campus Benjamin Franklin  
Direktor: Professor Dr. med. Walter Zidek

## HABILITATIONSSCHRIFT

# **Genetische und epigenetische Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen bei Schwangeren und ihren Kindern**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Thiemo Pfab  
geboren am 17. Juni 1972 in Bonn

Öffentlicher wissenschaftlicher Vortrag: 19.10.2009

Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Rainer Düsing

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Rainer Rettig

# Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG .....	3
ABSTRACT .....	4
1 EINLEITUNG .....	6
1.1 Hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft.....	6
1.1.1 Pathogenese der Schwangerschaftshypertonie und der Präeklampsie .....	6
1.1.2 Remodelling der Spiralarterien und endotheliale Dysfunktion.....	6
1.1.3 Immunologie und Inflammation.....	8
1.1.4 Genetische Ursachen hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft.....	9
1.2 Fetale Programmierung kardiovaskulärer Erkrankungen.....	10
1.2.1 Entwicklung der Forschungsrichtung.....	10
1.2.2 Konzept der fetalen Programmierung .....	11
1.2.3 Einfluss mütterlicher Genetik auf fetale Programmierung .....	13
2 FRAGESTELLUNGEN DER EIGENEN ARBEITEN .....	15
3 ZUSAMMENFASSUNG DER EIGENEN ARBEITEN IM WISSENSCHAFTLICHEN KONTEXT .....	16
3.1 Eigene Originalpublikationen zum Thema.....	16
3.2 Einfluss genetischer Polymorphismen auf hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft.....	17
3.3 Einfluss maternaler genetischer Polymorphismen auf das Geburtsgewicht.....	20
3.4 Einfluss einer Hochproteindiät während der Schwangerschaft auf den Phänotyp der Nachkommen.....	21
3.5 Assoziation zwischen niedrigem Geburtsgewichts und verminderter Insulinwirkung bei Neugeborenen .....	22
4 SCHLUSSFOLGERUNGEN.....	24
5 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	25
6 LITERATURVERZEICHNIS .....	26
7 DANKSAGUNG.....	34
8 ERKLÄRUNG .....	35

## Zusammenfassung

Die hier im Rahmen einer kumulativen Habilitationsschrift vorgelegten Arbeiten fassen die wichtigsten experimentellen und klinischen Ergebnisse des Autors zum Thema "Genetische und epigenetische Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen bei Schwangeren und ihren Kindern" zusammen.

Es wird angenommen, dass hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft durch Störungen der maternalen Immuntoleranz gegenüber dem Fetus sowie Störungen der Plazentaentwicklung und -perfusion ausgelöst werden könnten. In einer großen klinischen Studie wurde untersucht ob Marker der Präeklampsie durch Polymorphismen in Genen beeinflusst werden, die für Immuntoleranz, Inflammation, Plazentation und Hämodynamik eine Rolle spielen. Der Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$  G308A-Polymorphismus ist mit einer Proteinurie, der Interleukin-6 G174C-Polymorphismus mit dem Auftreten von Ödemen und nur das gleichzeitige Vorhandensein beider mutierter Allele mit einem erhöhten Blutdruck im letzten Trimenon der Schwangerschaft assoziiert. Auch Homozygotie für das Angiotensinogen 235T-Allel ist mit erhöhten Blutdruckwerten im letzten Schwangerschaftsdrittel assoziiert. Genetisch determinierte Faktoren maternaler Immuntoleranz und plazentarer Hämodynamik könnten somit bei der multifaktoriellen Entstehung hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft eine Rolle spielen. Der genetische Ursprung der verschiedenen Manifestationen scheint allerdings nicht einheitlich zu sein.

Auf Seiten des Neugeborenen ist ein niedriges Geburtsgewicht mit einem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen im späteren Leben assoziiert. Diese bekannte Beobachtung kann mit der Hypothese der sogenannten fetalen Programmierung erklärt werden. Als Mechanismen werden genetische Faktoren wie z.B. maternale Polymorphismen und epigenetische Faktoren wie z.B. maternale Mangelernährung diskutiert.

Ein Zusammenhang zwischen verschiedenen untersuchten maternalen Polymorphismen (Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$  G308A, Interleukin-6 G174C, Angiotensinogen M235T, Angiotensin Converting Enzym I/D, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ 2 Pro12Ala, Endotheliale NO-Synthase G894T, T789C, intron 4a/b) und dem kindlichen Geburtsgewicht als Ausdruck fetaler Programmierung konnte nicht festgestellt werden.

Bisher wurde überwiegend die in entwickelten Ländern seltene maternale Mangelernährung als Ursache fetaler Programmierung untersucht. In einer der Arbeiten des Autors wurde tierexperimentell festgestellt, dass auch eine isokalorische Hochproteindiät während der Schwan-

gerschaft und Laktationsphase zu geschlechtsabhängigen Unterschieden des Phänotyps der F1-Generation führt. Bei den männlichen Nachkommen fallen erhöhte Blutdruckwerte auf, während die weiblichen Tiere eine höhere Gewichtszunahme pro Gramm Nahrungsaufnahme und ein höheres Körpergewicht ab dem Erreichen der Geschlechtsreife zeigen.

Das häufig untersuchte Geburtsgewicht ist lediglich ein Surrogatparameter für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko im Erwachsenenalter. In einem nächsten Schritt wurde das totale glykosylierte Hämoglobin als anerkannter Indikator für Störungen des Glukosestoffwechsels bei 1295 Müttern und ihren neugeborenen Kindern quantifiziert. Es konnte erstmals gezeigt werden, dass das Geburtsgewicht bereits zum Zeitpunkt der Geburt invers mit dem glykosylierten Hämoglobin der Neugeborenen assoziiert ist. Eine multivariable Regressionsanalyse ergab, dass die Erhöhung des glykosylierten Hämoglobins beim Neugeborenen um einen Prozentpunkt mit einem um 135 Gramm niedrigeren Geburtsgewicht assoziiert ist ( $p < 0,0001$ ) während die gleiche Veränderung bei der Mutter mit einem 88 Gramm höheren Geburtsgewicht assoziiert ist ( $p < 0,0001$ ). Dies könnte an einer verminderten Insulinwirkung bei Neugeborenen mit geringerem Geburtsgewicht liegen. Die Daten sprechen dafür, dass die pathophysiologischen Mechanismen, die fetales Wachstum mit Insulinresistenz und Diabetes im Verlauf des späteren Lebens verknüpfen bereits intrauterin wirksam sind.

Schlagworte:

Präeklampsie, genetische Polymorphismen, fetale Programmierung, Geburtsgewicht, Hochproteindiät, glykosyliertes Hämoglobin, Insulinresistenz

## **Abstract**

This work comprises a summary of the author's experimental and clinical results regarding "Genetic and epigenetic risk factors for cardiovascular diseases in pregnant women and their children".

Impaired maternal immune tolerance towards the fetus and impaired placental development and perfusion are postulated to play a role in the pathophysiology of hypertensive diseases in pregnancy. A large clinical study was performed in order to analyze the impact of polymorphisms in genes known to be involved in immune tolerance, inflammation, placentation and hemodynamics on markers of preeclampsia. In the third trimester of pregnancy the tumor necrosis factor- $\alpha$  G308A polymorphism is associated with proteinuria, the interleukin-6 G174C polymorphism is associated with edema and only the presence of both mutant alleles is asso-

ciated with elevated blood pressure. Women homozygous for the angiotensinogen 235T allele also have an elevated blood pressure at the end of pregnancy. Genetically determined factors of maternal immune tolerance and placental hemodynamics might thus contribute to the multifactorial pathogenesis of hypertensive diseases in pregnancy. The different manifestations do not seem to have a uniform and common genetic origin.

The well-known association between low birth weight and an elevated risk of cardiovascular diseases in adulthood can be explained by the so-called fetal programming hypothesis. Putative mechanisms are genetic factors such as maternal polymorphisms and epigenetic factors such as maternal malnutrition.

No association was found between the maternal polymorphisms analyzed (tumor necrosis factor- $\alpha$  G308A, interleukin-6 G174C, angiotensinogen M235T, angiotensin converting enzyme I/D, peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 Pro12Ala, endothelial nitric oxide synthase G894T, T789C, intron 4a/b) and birth weight.

Maternal malnutrition as a cause of fetal programming is rather rare in developed countries. An animal experiment now demonstrates that also an isocaloric high-protein diet during pregnancy and lactation programs sex-dependent differences of the phenotype in the F1 generation. Blood pressure is elevated in male offspring only, whereas female offspring are characterized by an increased food efficiency and higher body weight at the beginning of puberty.

The much investigated birth weight is only a surrogate of elevated cardiovascular risk in adulthood. As a next step total glycosylated hemoglobin as an established indicator of the glucose metabolism was quantified in 1295 mothers and their newborns. It was demonstrated for the first time that there is an inverse association between birth weight and glycosylated hemoglobin already at birth. Multivariable regression analysis revealed that an increase in glycosylated hemoglobin by one percent in the child is associated with a mean birth weight reduction of 135 grams ( $p < 0,0001$ ), whereas the same increase in the mother is associated with a mean birth weight increase of 88 grams ( $p < 0,0001$ ). This might be due to reduced insulin action in newborns with lower birth weight. These data suggest that the pathophysiological mechanisms linking prenatal growth and postnatal sensitivity to insulin are present as early as before birth.

#### Keywords

Preeclampsia, genetic polymorphisms, fetal programming, birth weight, high-protein diet, glycosylated hemoglobin, insulin resistance

# 1 Einleitung

## 1.1 Hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft

### 1.1.1 Pathogenese der Schwangerschaftshypertonie und der Präeklampsie

Aktuell werden verschiedene Hypothesen zur Ätiologie und Pathogenese hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft diskutiert. Nach derzeitigem Kenntnisstand spielen Störungen der Plazentaentwicklung, eine Verminderung der uteroplazentaren Perfusion, eine Dysfunktion des maternalen Endothels, eine Imbalance zwischen vasokonstriktiven und vasodilatatorischen Substanzen sowie inflammatorische, immunologische, genetische und umweltbedingte Faktoren eine Rolle.

Die Wertigkeit der einzelnen Mechanismen für die Entwicklung hypertensiver Störungen in der Schwangerschaft ist nicht abschließend geklärt. Am ehesten handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen an dem genetische und epigenetische Faktoren beteiligt sind.

### 1.1.2 Remodelling der Spiralarterien und endotheliale Dysfunktion

Bei einer normalen Schwangerschaft kommt es im ersten Trimenon zur Invasion des Trophoblasten in die mütterliche Dezidua und das angrenzende Drittel des Myometriums. Zytotrophoblastenzellen dringen in der frühen Schwangerschaft in die Spiralarterien ein und ersetzen deren Endothelschicht sowie das elastische Gewebe, das glatte Muskelgewebe und das neuronale Gewebe bis in das innere Myometriumdrittel. Dabei kommt es auch zur Veränderung der Expression der Adhäsionsmoleküle des Trophoblasten. Statt eines epithelialen dominiert ein endotheliales Expressionsmuster. Dies wird als Pseudovaskulogenese bezeichnet. Am Ende des zweiten Trimenons präsentieren sich die Spiralarterien als dilatierte Schläuche, die vom Zytotrophoblasten ausgekleidet sind. Dieses Remodelling der Spiralarterien führt zur Senkung des arteriellen Gefäßwiderstands und zur Dilatation der Spiralarterien, wodurch eine ausreichende Blutversorgung und Ernährung des wachsenden Feten gewährleistet wird.

Nach derzeitigem Kenntnisstand trägt eine gestörte Plazentation maßgeblich zu einer verminderten Perfusion der Plazenta und damit zur Pathogenese der schwangerschaftsassozierten hypertensiven Störungen bei (Sibai et al., 05). Die Invasion des Trophoblasten in die mütterliche Dezidua erfolgt nur oberflächlich, so dass bis zu 50 % der Spiralarterien vom Remodelling ausgeschlossen bleiben (Granger et al., 01). Außerdem bleibt die oben beschriebene Veränderung des Expressionsmusters der Adhäsionsmoleküle aus (Zhou et al., 97). All dies führt

zu einer unzureichenden Dilatation der Spiralarterien, deren mittlerer Durchmesser im Vergleich zu physiologisch veränderten Spiralarterien weniger als halb so groß ist. Dadurch kann der erhöhte Blutbedarf des wachsenden Fetus nicht gedeckt werden. Außerdem wird durch das unzureichende Remodelling die uteroplazentare Zirkulation vermindert, was im Verlauf der Schwangerschaft zu einer zunehmenden Ischämie der Plazenta führt. Möglicherweise bedingt die Ischämie der Plazenta eine Freisetzung verschiedener biologisch aktiver Faktoren, z.B. Zytokine wie Tumor Nekrose Faktor (TNF)- $\alpha$  und reaktive Sauerstoffmetabolite.

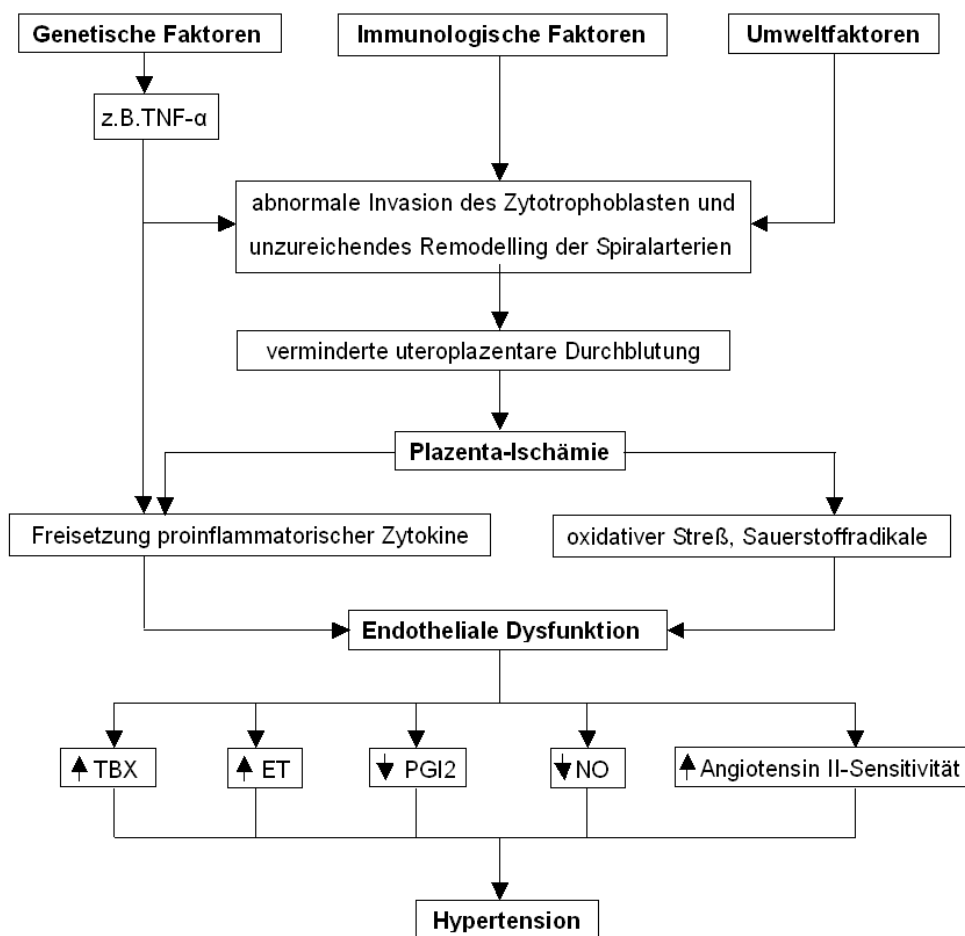


Abb. 1: **Mögliche Pathogenese der Schwangerschaftshypertonie.** Modifiziert nach Granger et al., 01. TNF- $\alpha$ , Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$ ; TBX, Thromboxan; ET, Endothelin; PGI<sub>2</sub>, Prostaglandin I<sub>2</sub>; NO, Stickoxid.

Diese Faktoren können zur Schädigung des maternalen Endothels führen - ein möglicher weiterer Schritt in der Pathogenese schwangerschaftsassoziierter hypertensiver Erkrankungen (Sibai et al., 05). Durch die Endothelzellschädigung kommt es zur verminderten Sekretion vasodilatativer Substanzen wie Stickoxid (NO) und Prostacyclin (PG) I<sub>2</sub> sowie zu einer Zu-

nahme vasokonstriktiver Faktoren wie Endothelin, Thromboxan und Angiotensin II (Khalil und Granger, 02). Die Zunahme von Thromboxan im Verhältnis zu Prostacyclin kann wiederum den uterinen Blutfluss weiter reduzieren und auf diese Weise Thrombosen der Spiralarterien und Infarkte in der Plazenta begünstigen (Sibai et al., 05). Die vasokonstriktiven Faktoren könnten die intrazelluläre Kalziumkonzentration erhöhen, durch Aktivierung der Proteinkinase C eine Zunahme der Kalziumsensitivität bewirken und letztlich zu einer verstärkten Kontraktion der glatten Muskelzellen führen. Die verminderte endothelabhängige Gefäßrelaxation und die gesteigerte Kontraktion der glatten Gefäßmuskelzellen könnten die im Zusammenhang mit schwangerschaftsassozierten hypertensiven Störungen beobachtete Zunahme von Gefäßwiderstand und arteriellem Druck erklären (Khalil und Granger, 02).

Die diskutierten Mechanismen der Pathogenese der Schwangerschaftshypertonie sind in Abb. 1 schematisch dargestellt.

### **1.1.3 Immunologie und Inflammation**

Hinweise für immunologische Einflüsse auf die Ätiologie schwangerschaftsassoziierter hypertensiver Erkrankungen erbrachte die Beobachtung, dass das Risiko für die Entwicklung einer Präeklampsie durch Primiparität, durch einen Partnerwechsel zwischen zwei Geburten, durch den Gebrauch von Kondomen, durch in-vitro-Fertilisation und durch Schwangerschaften nach Oozytendonation erhöht wird (Dekker, 99). Die prolongierte Exposition mit Sperma des Partners scheint dagegen einen protektiven Effekt zu haben (Robillard et al., 99).

Als Reaktion auf die Blastozystenimplantation kommt es im mütterlichen Endometrium zu einer akuten, aseptischen inflammatorischen Reaktion, da der Fötus die Eigenschaften eines Semi-Allografts hat. Die Hälfte seiner Gewebemerkmale werden als fremd erkannt, da sie paternalen Ursprungs sind. Diese Reaktion wird nach der Implantation in der Regel unterdrückt (Kauma et al., 99). Störungen der maternalen Immuntoleranz gegenüber dem Fötus können zu Aborten, Frühgeburten, Schwangerschaftshypertonus, Präeklampsie und Eklampsie führen (McIntyre und Faulk, 86).

Verschiedene Mechanismen, die die mütterliche Immuntoleranz gegenüber dem Fötus gewährleisten werden diskutiert. Einer davon ist das Verhältnis der von T-Helfer-Zellen Typ 1 gebildeten Zytokinen zu den von T-Helfer-Zellen Typ 2 gebildeten Zytokinen. In der Schwangerschaft ist die Zytokinproduktion normalerweise zugunsten der protektiven von T-Helfer-Zellen Typ 2 gebildeten antiinflammatorischen Zytokine Interleukin (IL)-6 und IL-10 verschoben (Clark et al., 99; Piccinni und Romagnani, 96). Bei schwangerschaftsassozierten hypertensiven Störungen kommt es dagegen zu einer Umkehr dieses Verhältnisses mit einer



Zunahme der von T-Helfer-Zellen Typ 1 gebildeten proinflammatorischen Zytokine Interferon (IFN)- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ . Diese können im Tiermodell und wahrscheinlich auch beim Menschen Aborte induzieren (Tangri und Raghupathy, 93; Raghupathy et al., 99). Mehrere Studien weisen darauf hin, dass dieses veränderte Verhältnis Auswirkungen auf die Entwicklung des Trophoblasten hat und auf diese Weise zur Entstehung schwangerschaftsassoziierter hypertensiver Störungen beiträgt. Die proinflammatorischen Zytokine induzieren Apoptose im Trophoblasten und stören seine Differenzierung und Invasion, während die antiinflammatorischen Zytokine die Proliferation und die Differenzierung des Trophoblasten fördern (Dong et al., 05).

Bei schwangerschaftsassozierten hypertensiven Störungen kommt es zur verstärkten Aktivierung von Monozyten und Granulozyten, was unter anderem mit einer erhöhten Bildung von Radikalen und oxidativem Stress verbunden ist. Andererseits sind antioxidative Substanzen wie z.B. Glutathion und Superoxiddismutase bei Frauen mit Präeklampsie signifikant vermindert. Die freien Radikale schädigen die Phospholipide der Zellmembranen an und reagieren mit den mehrfach ungesättigten Fettsäuren unter Bildung von Lipidperoxiden, die zu Zellschäden führen. Auf diese Weise können sie zu der bei schwangerschaftsassozierten Störungen auftretenden endothelialen Dysfunktion beitragen (Gupta et al., 05).

#### **1.1.4 Genetische Ursachen hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft**

Bei Schwestern, Müttern und Töchtern von Indexpatientinnen scheint die Inzidenz für Präeklampsie erhöht zu sein, wobei Untersuchungen der genetischen Komponente schwangerschaftsassoziierter hypertensiver Störungen dadurch erschwert werden, dass diese Erkrankungen nur bei Frauen im reproduktiven Alter auftreten, es schwierig ist eine exakte einheitliche Diagnostik zu etablieren und es sich um multifaktoriell bedingte Störungen handelt. Eine positive Familienanamnese für Präeklampsie ist mit einem zwei- bis fünffach erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Präeklampsie assoziiert (Lachmeijer et al., 02).

Genetische Studien haben sich bisher auf Gene bzw. Polymorphismen aus dem Bereich der Immunologie/Inflammation, der Hämodynamik, der Thrombophilie und des oxidativen Stress konzentriert (Lachmeijer et al., 02; Haggerty et al., 05).

Aus dem Bereich der Hämodynamik ist das Renin-Angiotensin-System (RAS) zu erwähnen, da dieses an der Regulation des Blutdrucks, des uteroplazentaren Blutflusses sowie an der Gefäßmuskelproliferation beteiligt ist und bei Patientinnen mit Präeklampsie dysreguliert ist (Herse et al., 07; Irani und Xia, 08).

## **1.2 Fetale Programmierung kardiovaskulärer Erkrankungen**

### **1.2.1 Entwicklung der Forschungsrichtung**

Epidemiologische Studien über die Säuglingssterblichkeit zu Beginn des 20. Jahrhunderts in Großbritannien zeigten einen deutlichen Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und Säuglingssterblichkeit (Barker und Osmond, 86). Die Säuglingssterblichkeit variierte beträchtlich zwischen den einzelnen Regionen in England und Wales. Das geographische Verteilungsmuster zeigte eine überraschende Übereinstimmung mit den Mortalitätsraten für Koronare Herzkrankheit (KHK) zwischen 1968 und 1978. Regionen, die Anfang des 20. Jahrhunderts eine hohe Säuglingssterblichkeit aufwiesen, verzeichneten ca. 60 Jahre später eine verdoppelte Rate an Koronarer Herzerkrankung.

Eine mögliche Schlussfolgerung war, dass ein geringes intrauterines Wachstum und damit geringes Geburtsgewicht mit der Entwicklung von Koronarer Herzerkrankung im Erwachsenenalter im Zusammenhang steht.

David Barkers Gruppe überprüfte die Hypothese, indem sie Probanden nachverfolgte, deren Geburtsmaße bekannt waren. Dazu konnte auf Aufzeichnungen zurückgegriffen werden, die Hebammen bei Hausbesuchen Anfang des letzten Jahrhunderts in einigen englischen und walisischen Grafschaften angefertigt hatten. Die Analysen zeigten, dass sich das Risiko, im Alter von ca. 60 Jahren an den Folgen einer KHK zu versterben, bei einem Geburtsgewicht von 2,5 kg im Vergleich zu Probanden mit einem Geburtsgewicht von 4,3 kg verdoppelt (Barker et al., 89; Osmond et al., 93). Folgestudien bestätigten mittlerweile an über 250.000 Personen den Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und dem Risiko an kardiovaskulären Erkrankungen (Myokardinfarkt, Apoplex etc.) zu erkranken bzw. zu versterben. Die größte dieser Folgestudien ist derzeit die US-amerikanische „Nurses Health Study“, in der über 60.000 Krankenschwestern untersucht wurden (Rich-Edwards et al., 97).

Es war nun naheliegend zu fragen, ob auch bekannte Risikofaktoren kardiovaskulärer Erkrankungen durch ein geringes Geburtsgewicht beeinflusst werden.

Eine große systematische Metaanalyse von 34 Studien konnte eine Korrelation zwischen niedrigem Geburtsgewicht und Hypertonus nachweisen (Law und Shiell, 96). Yajnik et al. fanden eine Korrelation zwischen niedrigem Geburtsgewicht und gestörter Glukosetoleranz bereits bei vierjährigen Kindern (Yajnik et al., 95).

Im Folgenden wurde versucht Faktoren zu identifizieren, die zu niedrigem Geburtsgewicht und dem assoziierten erhöhten kardiovaskulären Risiko führen.

Bei Probanden, deren Mütter während der Schwangerschaft im zweiten Weltkrieg (durch die Belagerung von Amsterdam) Hunger gelitten hatten, konnte nicht nur ein vermindertes Geburtsgewicht, sondern auch eine eingeschränkte Glukosetoleranz 40 Jahre später festgestellt werden (Ravelli et al., 98). Diese und zahlreiche weitere Studien zeigen, dass intrauterine Mangelernährung bzw. geringes Geburtsgewicht als Surrogatparameter der intrauterinen Mangelernährung beim Menschen zur Verstärkung einer Insulinresistenz und zur Entwicklung eines metabolischen Syndroms beitragen.

### **1.2.2 Konzept der fetalen Programmierung**

Um die Ergebnisse der genannten Studien zu erklären wurde die Hypothese des „Fetal Programming“ entwickelt. Während des fetalen Lebens durchlaufen die Organe und Gewebe „kritische Zeitfenster“ der Entwicklung (Widdowson und McCance, 75). Diese Phasen sind oft nur einige Tage bis Wochen lang und können mit Perioden schneller Zellteilung zusammenfallen. „Programming“ beschreibt einen Prozess, bei dem ein Ereignis während dieser sensiblen Phase zu irreversiblen morphologischen und funktionellen Veränderungen der Organe führt (Lucas, 94). Der Fetus passt sich dem intrauterinen Nahrungs- bzw. Sauerstoffmangel vor allem durch eine verlangsamte Zellteilungsrate an, insbesondere in den Geweben, die gerade eine kritische Phase durchlaufen. Regelsysteme wie z.B. die Balance zwischen Insulin und Glukose oder auch die Cholesterinsynthese könnten in diesen Phasen modelliert und damit dauerhaft bis ins Erwachsenenalter auf falsche Sollwerte eingestellt werden. Durch Programming verbessert der Fetus seine Chancen akute Mangelsituationen im Mutterleib zu überleben. Allerdings steigt dadurch das Risiko später an kardiovaskulären Erkrankungen zu erkranken bzw. zu sterben. Insbesondere dann, wenn die auf Mangel programmierten Organe später einem Nahrungsüberschuss ausgesetzt sind.

Diese Hypothese kann erklären wie es zu einer inversen Korrelation des Geburtsgewichts mit kardiovaskulären Endpunkten 50 Jahre später kommen kann. Die Tatsache, dass diese Korrelation trotz vieler anderer genetischer und exogener Einflüsse nachweisbar ist unterstreicht ihre Stärke.

Die Hypothese konnte tierexperimentell eindrucksvoll bestätigt werden. Ratten erhielten eine isokalorische Proteinmangeldiät während der Schwangerschaft. Die Nachkommen hatten erniedrigte Geburtsgewichte und einen um 20-25 mmHg erhöhten Blutdruck im Alter von 6-8 Wochen. Histologisch fiel eine Reduktion der Glomeruli um 30% auf und im Blut wurden erhöhte Aldosteronwerte bei verminderten Reninkonzentrationen gemessen. Die Überlebensrate in den ersten 18 Monaten war im Gegensatz zur Kontrollgruppe halbiert (Vehaskari et al.,

01). Auch eine eingeschränkte Glukosetoleranz (durch Aktivitätsänderung von Schlüsselenzymen der Glukoneogenese) konnte in diesem Tiermodell in der F1-Generation gefunden werden (Burns et al., 97).

Die von Barker et al. entwickelte Hypothese der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen ist in Abb. 2 schematisch dargestellt.

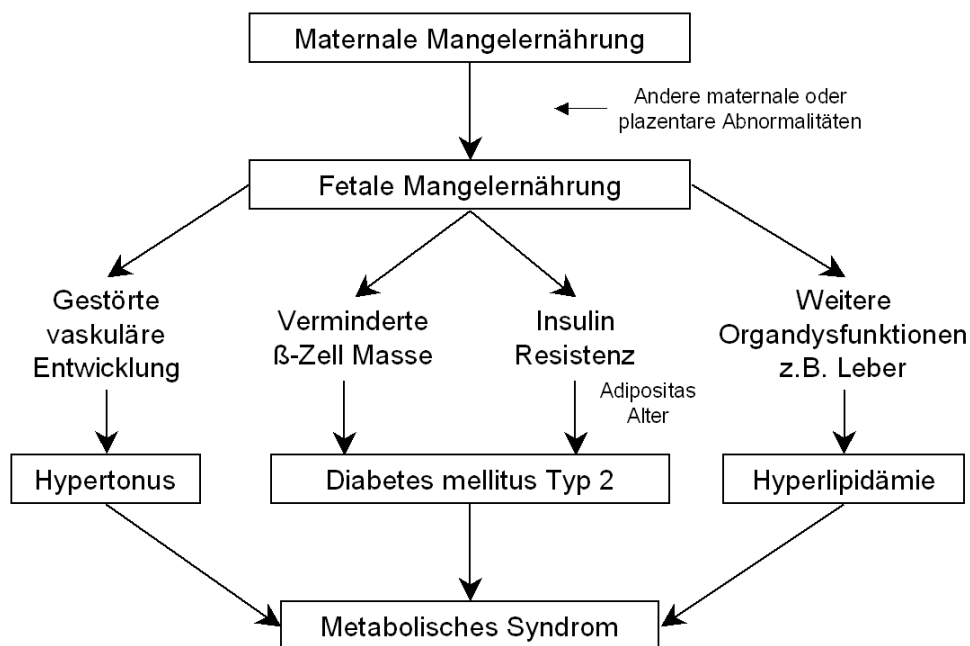


Abb. 2: **Hypothese der fetalen Programmierung.** Maternale Unterernährung in der Schwangerschaft führt zu Adaptationsprozessen beim Feten, die das Überleben des Feten unter Mangelbedingungen begünstigen. Diese Adaptationsprozesse führen jedoch zu lebenslang persistierenden strukturellen Veränderungen der Blutgefäße, des Pankreas und der Leber, die das Auftreten eines metabolischen Syndroms im Erwachsenenalter begünstigen.

1999 stellten Hattersley und Tooke die alternative Hypothese auf, dass Untergewichtigkeit bei Geburt und das Auftreten des metabolischen Syndroms im Erwachsenenalter phänotypische Ausprägungen einer gemeinsamen genetischen Ursache, der genetisch bedingten Insulinresistenz, sind (Hattersley und Tooke, 99).

Die fetale Insulinsekretion - vor allem im letzten Trimenon der Schwangerschaft - ist entscheidend beteiligt an der fetalen Wachstumskontrolle (Fowden et al., 89). Frauen, die in der Schwangerschaft unter einem Diabetes mellitus leiden, bringen häufiger makrosome Kinder zur Welt. Die maternale Hyperglykämie lässt den fetalen Blutzuckerspiegel ansteigen, da

Glukose die Plazenta über spezifische Glukosetransporter (hauptsächlich Glut1) ungehindert passieren kann. Insulin gelangt jedoch nicht vom mütterlichen in den kindlichen Kreislauf. Der Fetus reagiert auf die Hyperglykämie mit einer verstärkten Insulinsekretion. Da Insulin ein anaboles Hormon ist, wächst das Ungeborene schneller. Auch in normoglykämischen Schwangerschaften gibt es eine Korrelation zwischen dem maternalen Blutzucker im letzten Trimenon und dem Geburtsgewicht (Wellik et al., 95). Eine genetisch determinierte Insulinresistenz des Fetus würde die leichteren und dünneren Neugeborenen erklären, weil das insulinvermittelte intrauterine Wachstum vermindert wäre. Postnatal und im Erwachsenenalter kommt es dann zu Glukoseverwertungsstörungen bis hin zum Diabetes mellitus und zum metabolischen Syndrom.

### **1.2.3 Einfluss mütterlicher Genetik auf fetale Programmierung**

Neben exogenen, epigenetischen Faktoren wie der Nahrungsaufnahme, sind auch mütterliche Gene relevant für das fetale Wachstum. So beeinflussen mütterliche Gene beispielsweise den plazentaren Blutfluss und die transplazentare Nährstoffversorgung. Maternale Gene sind damit ebenfalls an fetaler Programmierung beteiligt. Diese Hypothese wurde als „advanced fetal programming hypothesis“ bezeichnet (Hochoer et al., 01) und ist in Abb. 3 schematisch dargestellt.

Diese Hypothese wurde erstmals 2000 in einer Studie bestätigt. Es zeigte sich eine Assoziation zwischen dem maternalen 825T-Allel der G-Protein  $\beta$ 3-Untereinheit und einem erniedrigten Geburtsgewicht bei Kindern, die sonst keinerlei Risikofaktoren für intrauterine Wachstumsverzögerung aufwiesen (Hochoer et al., 00). Eine Folgestudie an japanischen Frauen bestätigte die Ergebnisse (Masuda et al., 02). Die molekularen Ursachen, die das reduzierte fetale Wachstum assoziiert mit diesem Allel bedingen sind bisher nicht geklärt.

## Umweltfaktoren & Maternale Gene

(z.B. Rauchen)

(z.B. PPAR- $\gamma$ )

Nutritive- oder endokrine Störungen



Funktionelle und strukturelle Veränderungen im endokrinen Pankreas, in insulin-sensitiven Geweben, Blutgefäßen und Leber

Niedriges Geburtsgewicht

Erwachsenenalter

Lebensstil,  
Risikofaktoren

Diabetes, Hypertonus,  
KHK, Apoplex

Abb. 3: **Advanced fetal programming hypothesis.** Sowohl Umweltfaktoren (maternale Ernährung, Rauchen) als auch maternale Gene, welche die Plazentafunktion kontrollieren, tragen zur Programmierung kardiovaskulärer Erkrankungen im Erwachsenenalter bei. Modifiziert nach Hocher et al., 01.

Maternale genetische Polymorphismen können auch die Suszeptibilität gegenüber epigenetischen Einflussfaktoren modifizieren, sodass sich ein Zusammenspiel aus genetischen und epigenetischen Faktoren ergibt. So konnte beispielsweise für Polymorphismen in zwei metabolischen Genen (Cytochrom-1A1 and Glutathion S-Transferase theta-1) gezeigt werden, dass nur bei Rauchern ein erheblicher Einfluss auf das Geburtsgewicht besteht (Wang et al., 02).

Es gibt eine Reihe weiterer mütterlicher Kandidatengene die für die fetale Programmierung des Geburtsgewichts und damit das Risiko späterer kardiovaskulärer Erkrankungen eine klinisch relevante Rolle spielen könnten.

## 2 Fragestellungen der eigenen Arbeiten

In den im nächsten Kapitel dargestellten eigenen Originalarbeiten wurden folgende Fragestellungen untersucht:

1. Werden Marker der Präeklampsie in der Schwangerschaft (Blutdruck, Proteinurie, Ödeme) durch genetische Polymorphismen beeinflusst, die für Immuntoleranz, Inflammation, Plazentation und Hämodynamik eine Rolle spielen?
2. Gibt es einen Einfluss dieser maternalen genetischen Polymorphismen auf das Geburtsgewicht des Kindes im Sinne der „advanced fetal programming hypothesis“?
3. Kann nicht nur Malnutrition, sondern auch Überernährung durch eine isokalorische Hochproteindiät während der Schwangerschaft den Phänotyp der Nachkommen hinsichtlich Geburtsgewicht und kardiovaskulärer Endpunkte (z.B. Blutdruck, Glukosetoleranz) im Sinne einer fetalen Programmierung beeinflussen?
4. Das Geburtsgewicht ist lediglich ein Surrogatparameter für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko im späteren Leben. Ist bereits bei Neugeborenen mit geringem Geburtsgewicht ein erhöhter Anteil an glykosyliertem Hämoglobin als anerkannter Indikator für das Vorliegen einer Störung des Glukosestoffwechsels nachweisbar?

### **3 Zusammenfassung der eigenen Arbeiten im wissenschaftlichen Kontext**

#### **3.1 Eigene Originalpublikationen zum Thema**

**P1:** Hocher, B.; Chen, Y. P.; Hugle, S.; Repey, J.; Krause, K.; Slowinski, T.; Godes, M.; Schaeffeler, E.; Guthmann, F.; Wauer, R.; Halle, H.; Gossing, G. und **Pfab, T.** (2008): Impact of maternal endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on blood pressure, protein excretion and fetal outcome in pregnancy, *J.Hum.Hypertens.* (Band 22), Nr. 9, Seite 641-647. URL: PM:18463669

**P2:** **Pfab, T.**; Stirnberg, B.; Sohn, A.; Krause, K.; Slowinski, T.; Godes, M.; Guthmann, F.; Wauer, R.; Halle, H. und Hocher, B. (2007): Impact of maternal angiotensinogen M235T polymorphism and angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism on blood pressure, protein excretion and fetal outcome in pregnancy, *J.Hypertens.* (Band 25), Nr. 6, Seite 1255-1261. URL: PM:17563539

**P3:** **Pfab, T.**; Poralla, C.; Richter, C. M.; Godes, M.; Slowinski, T.; Priem, F.; Halle, H. und Hocher, B. (2006): Fetal and maternal peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Pro12Ala does not influence birth weight, *Obesity* (Band 14), Nr. 11, Seite 1880-1885. URL: PM:17135601

**P4:** **Pfab, T.**; Chen, Y. P.; Slowinski, T.; Richter, C. M.; Godes, M.; Arck, P. C.; Halle, H. und Hocher, B. (2005): Impact of genes related to immune tolerance and inflammation (tumour necrosis factor-alpha, interleukin-6) on blood pressure, protein excretion and oedema in pregnancy, *J.Hypertens.* (Band 23), Nr. 12, Seite 2187-2191. URL: PM:16269960

**P5:** Thone-Reineke, C.; Kalk, P.; Dorn, M.; Klaus, S.; Simon, K.; **Pfab, T.**; Godes, M.; Persson, P.; Unger, T. und Hocher, B. (2006): High-protein nutrition during pregnancy and lactation programs blood pressure, food efficiency, and body weight of the offspring in a sex-dependent manner, *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* (Band 291), Nr. 4, Seite R1025-R1030. URL: PM:16675628

**P6:** **Pfab, T.**; Slowinski, T.; Godes, M.; Halle, H.; Priem, F. und Hocher, B. (2006): Low birth weight, a risk factor for cardiovascular diseases in later life, is already associated with elevated fetal glycosylated hemoglobin at birth, *Circulation* (Band 114), Nr. 16, Seite 1687-1692. URL: PM:17030683



### **3.2 Einfluss genetischer Polymorphismen auf hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft**

Für die Studien P1, P2, P3 und P4 wurden genetische Polymorphismen nach folgenden Kriterien ausgewählt:

1. Die Genprodukte sind entweder für Immuntoleranz (TNF- $\alpha$ , IL-6), Inflammation (TNF- $\alpha$ , IL-6), Plazentation (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ ) oder Hämodynamik (Angiotensinogen, ACE, NO) von Bedeutung.
2. Die Polymorphismen sind nicht miteinander assoziiert.
3. Es gibt eindeutige Evidenz für ihre biologische Aktivität.

Eine Reihe von Fall-Kontroll-Studien haben sich bereits mit dem Zusammenhang zwischen den in den Studien P1, P2, P3 und P4 untersuchten genetischen Polymorphismen und dem Auftreten hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft beschäftigt. Die Ergebnisse der Studien sind widersprüchlich, was zum Teil an unterschiedlichen untersuchten Ethnien und zum Teil an den sehr geringen Fallzahlen liegt. In der Literatur finden sich fast keine Studien mit mehr als 150 Fällen.

In den Studien P1, P2, P3 und P4 wurde erstmals ein alternativer Ansatz gewählt. Einzelne Polymorphismen sind höchstwahrscheinlich nur für einen geringen Teil der multifaktoriellen Pathogenese hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft verantwortlich. Daher ist es schwierig Effekte nachzuweisen wenn binäre Endpunkte wie Schwangerschaftshypertonus oder Präeklampsie gewählt werden. Im Gegensatz dazu könnten durch die Analyse von Markern der Präeklampsie wie Blutdruck, Proteinurie und Ödemen auch kleinere aber signifikante genetische Effekte nachgewiesen werden. Unter der Vorstellung, dass mögliche Effekte der Polymorphismen auf die Immuntoleranz, Plazentation und Hämodynamik für alle Frauen relevant sind wurde eine große Zahl kaukasischer Frauen (je nach Studie 1068 bis 2186 Fälle) mit größtenteils normalen Schwangerschaften in die Studien eingeschlossen und gemeinsam analysiert.

In der Studie P4 wurde der Einfluss der TNF- $\alpha$  G308A und IL-6 G174C Polymorphismen auf Marker der Präeklampsie untersucht. Die mutierten Allele (TNF- $\alpha$  A und IL-6 C) sind mit einer erhöhten Expression von TNF- $\alpha$  (Wilson et al., 97) bzw. einer verminderten Expression von IL-6 (Fishman et al., 98) assoziiert. Nach dem in Kapitel 1.1.3 dargestellten Modell des Verhältnis zwischen den von T-Helfer-Zellen Typ 1 gebildeten Zytokinen zu den von T-

Helfer-Zellen Typ 2 gebildeten Zytokinen könnte dies die Entstehung hypertensiver Erkrankungen während der Schwangerschaft begünstigen.

In der Studie P4 konnte gezeigt werden, dass das gleichzeitige Vorhandensein der mutierten Allele (TNF- $\alpha$  A und IL-6 C) mit signifikant erhöhten systolischen und diastolischen Blutdruckwerten im letzten Trimenon der Schwangerschaft assoziiert ist. Die Blutdruckdifferenz entspricht ca. einem Drittel des Blutdruckanstiegs, der bei Frauen mit der Diagnose einer schwangerschafts-assoziierten hypertensiven Erkrankung zu verzeichnen ist. Im letzten Trimenon war außerdem ein signifikanter Gen-Dosis-Effekt des mutierten TNF- $\alpha$  A-Allels auf das Auftreten einer Proteinurie nachweisbar. Dagegen zeigt sich ein signifikanter Gen-Dosis-Effekt des mutierten IL-6 C-Allels auf das Auftreten neuer Ödeme in Verlauf der Schwangerschaft.

Die Befunde unterstreichen die Annahme, dass es sich bei der Pathogenese der Präeklampsie um ein multifaktorielles Geschehen handelt. Wie schon andere Studien konnten auch zwei kürzlich veröffentlichte Fall-Kontroll-Studie keinen Zusammenhang zwischen den einzelnen mutierten Allelen und dem Auftreten von Präeklampsie als binärem Endpunkt finden (Stonek et al., 08; Molvarec et al., 08). Ein einzelner Polymorphismus löst in der Regel keine Präeklampsie aus. Erst die Analyse von Markern der Präeklampsie oder aber von Polymorphismus-Kombinationen (Benedetto et al., 07) erlaubt es möglicherweise kleine aber signifikante genetische Effekte zu detektieren.

In der Studie P2 wurde untersucht welchen Einfluss Polymorphismen des RAS auf Marker der Präeklampsie haben. Während der normalen Schwangerschaft ist das RAS stimuliert (Peters, 95). Dies ist bei Frauen mit schwangerschafts-assoziierten hypertensiven Erkrankungen nicht der Fall (August et al., 90). Das mutierte T-Allel des Angiotensinogen (AGT) M235T Polymorphismus kann Störungen des Remodellings der Spiralarterien in der Frühschwangerschaft bewirken (Morgan et al., 99). Ein häufiger Insertion/Deletions (I/D)-Polymorphismus im Gen des Angiotensin Converting Enzym (ACE) ist mit einer erhöhten ACE-Aktivität im Plasma assoziiert (Tiret et al., 92). Außerdem ist der Resistance-Index der uterinen Arterien bei Trägern des D-Allels erhöht (Mello et al., 03).

In der Analyse zeigten sich im letzten Trimenon der Schwangerschaft signifikant erhöhte systolische und diastolische Blutdruckwerte in der Gruppe der Frauen, die homozygot für das AGT T-Allel waren. Dieses Ergebnis war besonders ausgeprägt bei primigraviden Frauen. Dies passt zu der lange bekannten, aber bisher nicht gut verstandenen Beobachtung, dass mit weiteren Schwangerschaften das Risiko einer Präeklampsie abnimmt. Der Befund wird durch

Ergebnisse einer kürzlich veröffentlichten Metaanalyse bestätigt (Zafarmand et al., 08). Der ACE-Polymorphismus zeigte keine Assoziation zum Blutdruckverhalten während der Schwangerschaft. Dies entspricht den Ergebnissen einer Metaanalyse (Serrano et al., 06). Interaktionen bzw. additive Effekte zwischen beiden Polymorphismen des RAS bestanden nicht. Assoziationen zu Proteinurie oder Ödemen in der Schwangerschaft konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Aktivität der NO-Synthase ist während einer Schwangerschaft in verschiedenen maternalen Geweben erhöht (Weiner et al., 94). Durch die endotheliale NO-Synthase produziertes NO ist ein wichtiger Modulator für die Aufrechterhaltung der maternalen systemischen Vasodilatation und der während einer normalen Schwangerschaft beobachteten reduzierten vaskulären Reaktivität (Williams et al., 97). Eine reduzierte plazentare Aktivität der endothelialen NO-Synthase bei Präeklampsie konnte nachgewiesen werden (Kim et al., 06). Eine Hemmung der NO-Synthase führt zu einem präeklampsieähnlichen Syndrom (Podjarny et al., 99; Tsukimori et al., 08). Es wurde postuliert, dass Polymorphismen der endothelialen NO-Synthase (NOS3), welche die NO-Verfügbarkeit vermindern, eine Prädisposition für hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft darstellen. In der Studie P1 konnte kein Einfluss der NOS3 Polymorphismen G894T, T789C und intron 4a/b (weder isoliert noch als Haplotypen) auf Marker der Präeklampsie festgestellt werden.

Das Fehlen von Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)- $\gamma$  führt bei Mäuseembryonen zum Tod im Alter von ca. 10 Tagen aufgrund einer Störung der terminalen Differenzierung des Trophoblasten und der plazentaren Vaskularisierung. Beim Menschen wird PPAR- $\gamma$  im Synzytiotrophoblasten und im Zytotrophoblasten exprimiert und zwar besonders in den Zellen, die an der Invasion des Trophoblasten in die Dezidua und in das obere Drittel des Myometriums beteiligt sind (Tarrade et al., 01). Aktivierte PPAR- $\gamma$  regulieren die Trophoblastenentwicklung, die Invasion des Trophoblasten und die Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$ . Bei hypertensiven Störungen in der Schwangerschaft besteht Wochen bis Monate vor Auftreten der Symptome eine verminderte Aktivierung von PPAR- $\gamma$  (Waite et al., 05).

In der Studie P3 wurde unter anderem der Einfluss des PPAR- $\gamma$ 2 Pro12Ala Polymorphismus auf Marker der Präeklampsie untersucht. Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des maternalen Polymorphismus und Blutdruckregulation, Proteinurie oder Ödemen während der Schwangerschaft festgestellt werden.

### 3.3 Einfluss maternalen genetischer Polymorphismen auf das Geburtsgewicht

Wie bereits in Kapitel 1.1.4 dargestellt sind neben exogenen, epigenetischen Faktoren (z.B. Ernährung) auch mütterliche Gene relevant für das fetale Wachstum und damit möglicherweise für die fetale Programmierung kardiovaskulärer Erkrankungen im späteren Leben. Ein solcher Einfluss auf das Geburtsgewicht konnte für das maternale 825T-Allel der G-Protein  $\beta$ 3-Untereinheit nachgewiesen werden (Hoche et al., 00; Masuda et al., 02).

Mütterliche Gene könnten beispielsweise die Entwicklung der Plazenta, den plazentaren Blutfluss und die transplazentare Nährstoffversorgung beeinflussen. Wie im vorigen Kapitel (3.2) beschrieben gibt es Hinweise darauf, dass die in den Studien P1, P2, P3 und P4 untersuchten Polymorphismen für die Entwicklung und Durchblutung der Plazenta von Bedeutung sind (Störung der Trophoblastenentwicklung, Störung des Remodellings der Spiralarterien, Veränderung der Hämodynamik).

In den großen Studienpopulationen der Studien P1, P2, P3 und P4 (zwischen 1068 und 2186 Mutter/Kind-Paare) konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen den untersuchten maternalen Polymorphismen (TNF- $\alpha$  G308A, IL-6 G174C, AGT M235T, ACE I/D, PPAR- $\gamma$ 2 Pro12Ala, NOS3 G894T, T789C, intron 4a/b) und dem kindlichen Geburtsgewicht im Sinne der „advanced fetal programming hypothesis“ festgestellt werden. Diese Analyse war nicht die zentrale Fragestellung dieser Studien.

Eine Fall-Kontroll-Studie hatte das AGT T-Allel häufiger bei den Müttern von Kindern mit intrauteriner Wachstumsretardierung gefunden (Zhang et al., 03). Auch in der Studie P2 hatten die homozygoten Mütter um ca. 50 Gramm leichtere Kinder. Dies war jedoch nicht statistisch signifikant. Eine kürzlich publizierte Studie bestätigt einen fehlenden Zusammenhang zwischen den ACE-Polymorphismen und dem Geburtsgewicht (Uma et al., 08).

Frühere Studien haben bereits den Zusammenhang zwischen dem *fetalen* PPAR- $\gamma$ 2 Pro12Ala Polymorphismus und dem Geburtsgewicht untersucht und kamen an kleineren Studienpopulationen zu divergenten Ergebnissen (Yliharsila et al., 04; Pihlajamaki et al., 04; Meirhaeghe et al., 07). In der Studie P3 konnte ein Zusammenhang nicht bestätigt werden.

Die Einnahme von ACE-Hemmern (und eine dadurch möglicherweise verminderte Aktivität des fetalen RAS) während der Schwangerschaft wird als Auslöser für kongenitale Malformationen angesehen (Cooper et al., 06; Quan, 06). In der Studie P2 wurde zusätzlich untersucht ob die fetalen AGT bzw. ACE Varianten, die mit einer primär verminderten Aktivität des fetala-

len RAS assoziiert sind (AGT M, ACE I) mit einer erhöhten Rate kongenitaler Malformationen einhergehen. Wenn alle 65 in der Studie erfassten kongenitalen Malformationen zusammen analysiert werden ergeben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den fetalen Genotypen. Allerdings ist ein interessanter Trend für das vermehrte Auftreten kardiovaskulärer Fehlbildungen bei Neugeborenen festzustellen, die ein AGT M oder ACE I-Allel besitzen. Um die Fragestellung sicher beantworten zu können, müsste eine größere Fall-Kontroll-Studie durchgeführt werden.

### **3.4 Einfluss einer Hochproteindiät während der Schwangerschaft auf den Phänotyp der Nachkommen**

Während in den Studien P1, P2, P3 und P4 unter anderem der Einfluss mütterlicher Genetik auf das Geburtsgewicht im Sinne der „advanced fetal programming hypothesis“ untersucht wurde beschäftigt sich die Studie P5 mit den Auswirkungen mütterlicher Ernährung auf fetale Programmierung im Sinne der ursprünglichen Hypothese von David Barker (siehe Abb. 2). Wie in den Kapiteln 1.2.1 und 1.2.2 dargestellt gibt es breite tierexperimentelle und klinische Evidenz dafür, dass mütterliche Malnutrition während der Schwangerschaft sowohl zu vermindertem Geburtsgewicht als auch zu erhöhtem Blutdruck und erhöhter Insulinresistenz im Verlauf des späteren Lebens führt (Vehaskari et al., 01; Ozanne et al., 96; Ravelli et al., 98).

Mütterliche Unterernährung kann jedoch die Geburtsgewichtsunterschiede, die aktuell in entwickelten Ländern beobachtet werden, nicht erklären. In der heutigen Zeit sind eher die übermäßige Nahrungszufuhr und die assoziierte Adipositas in diesem Kontext relevant. Untersuchungen zu fetaler Programmierung durch mütterliche Überernährung sind bisher sehr limitiert und haben was beispielsweise den Einfluss auf das Geburtsgewicht angeht widersprüchliche Ergebnisse (Armitage et al., 05).

In der Studie P5 wurden Wistar-Ratten während der Schwangerschaft und Laktationsphase mit einer isokalorischen Hochproteindiät gefüttert. In den 22 Wochen nach der Geburt wurde der renale, hämodynamische und metabolische Phänotyp der F1-Generation analysiert (n = 19-29 pro Gruppe und Geschlecht).

Das Geburtsgewicht der F1-Generation wurde durch die unterschiedliche Ernährung der Muttertiere nicht beeinflusst. Auch die Glukosetoleranz, der Energieumsatz und die Plasmalipide zeigten keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Bei den männlichen Nachkommen kam es durch die isokalorische Hochproteindiät der Muttertiere zu signifikant erhöhten Blut-

druckwerten und leicht verstärkter Glomerulosklerose, während bei den weiblichen Nachkommen der Mütter mit isokalorischer Hochproteindiät eine höhere Gewichtszunahme pro Gramm Nahrungsaufnahme und ein im Verlauf höheres Körpergewicht nachweisbar waren.

Während Effekte einer Hochproteindiät auf den Phänotyp der Nachkommen bisher kaum untersucht sind, konnten interessanterweise ähnliche geschlechtsabhängige Effekte auf den Blutdruck auch bei Nachkommen von Tieren beobachtet werden, die während der Frühschwangerschaft eine proteinreduzierte Diät erhielten (Kwong et al., 00; Langley-Evans et al., 96).

Die Übertragbarkeit der tierexperimentellen Ergebnisse auf die Situation beim Menschen ist naturgemäß fraglich. Kürzlich wurde eine epidemiologische Studie veröffentlicht, die an ca. 1000 australischen Mutter/Kind-Paaren im Gegensatz zu den Ergebnissen der Studie P5 eine inverse Assoziation zwischen maternaler Proteinzufuhr und Geburtsgewicht feststellen konnte (Andreasyan et al., 07).

### **3.5 Assoziation zwischen niedrigem Geburtsgewichts und verminderter Insulinwirkung bei Neugeborenen**

In den Studien P1, P2, P3, P4 und P5 wurde (neben anderen Fragestellungen) der Prozess der fetalen Programmierung mituntersucht (siehe Kapitel 3.3). Dabei diente jeweils der Surrogatparameter Geburtsgewicht als Endpunkt, da eine große Anzahl epidemiologischer Studien den Zusammenhang zwischen niedrigem Geburtsgewicht und kardiovaskulären Erkrankungen im Verlauf des späteren Lebens belegt (z.B. Rich-Edwards et al., 97; Law und Shiell, 96; Yajnik et al., 95). Die Studie P6 beschäftigte sich dagegen in einem nächsten Schritt erstmals mit der Frage ob Veränderungen des Glukosemetabolismus durch fetale Programmierung bereits intrauterin bzw. zum Zeitpunkt der Geburt nachweisbar sind.

In der Studie P6 wurde das totale glykosylierte Hämoglobin bei 1295 Müttern und ihren neugeborenen Kindern quantifiziert. Das totale glykosylierte Hämoglobin beim Neugeborenen reflektiert - ähnlich wie das glykosylierte Hämoglobin A1c beim Diabetiker - die durchschnittliche fetale Blutglukosekonzentration in den letzten Wochen der Schwangerschaft. Die Studie konnte erstmals zeigen, dass eine inverse Korrelation zwischen dem glykosylierten Hämoglobin der Neugeborenen und ihrem Geburtsgewicht besteht, d.h. leichtere Neugeborene haben einen höheren Anteil an glykosyliertem Hämoglobin. In Analogie zur Überwachung des Hämoglobin A1c beim Diabetiker kann angenommen werden, dass eine verminderte Insu-

linwirkung durch verminderte Insulinsekretion oder verminderte Insulinsensitivität bereits intrauterin die fetale Blutglukose und damit den Anteil des fetalen glykosylierten Hämoglobins erhöht. Eine multivariable Regressionsanalyse ergab, dass die Erhöhung des glykosylierten Hämoglobins beim Neugeborenen um einen Prozentpunkt mit einem um 135 Gramm niedrigeren Geburtsgewicht assoziiert ist ( $p < 0,0001$ ) während die gleiche Veränderung bei der Mutter mit einem 88 Gramm höheren Geburtsgewicht assoziiert ist ( $p < 0,0001$ ). Letzteres passt zu der bekannten Beobachtung, dass diabetische Mütter schwerere Kinder bekommen.

Die Studie P6 zeigt erstmals, dass ein anerkannter Indikator für Störungen des Glukosemetabolismus bereits zum Zeitpunkt der Geburt bei Neugeborenen mit niedrigerem Geburtsgewicht verändert ist. Die Ergebnisse sprechen für eine bereits bei Geburt nachweisbare verminderte Insulinwirkung bei Neugeborenen mit geringem Geburtsgewicht. Eine verminderte Insulinwirkung könnte sowohl die intrauterine Wachstumshemmung als auch die spätere Entstehung des metabolischen Syndroms und seiner Komplikationen erklären. Die pathophysiologischen Mechanismen, die intrauterines Wachstum mit Insulinresistenz und Diabetes im Verlauf des späteren Lebens verknüpfen, scheinen damit bereits vor der Geburt wirksam zu sein.

## 4 Schlussfolgerungen

1. Der TNF- $\alpha$  G308A-Polymorphismus ist mit einer Proteinurie in der Schwangerschaft assoziiert, der IL-6 G174C-Polymorphismus ist mit dem Auftreten von Ödemen in der Schwangerschaft assoziiert und das gleichzeitige Vorhandensein beider mutierter Allele ist mit einem erhöhten Blutdruck im letzten Trimenon der Schwangerschaft assoziiert. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass genetisch determinierte Faktoren maternaler Immuntoleranz bei der multifaktoriellen Entstehung hypertensiver Erkrankungen während der Schwangerschaft eine Rolle spielen könnten. Der genetische Ursprung der verschiedenen Manifestationen scheint nicht einheitlich zu sein.
2. Im letzten Trimenon der Schwangerschaft zeigen sich signifikant erhöhte Blutdruckwerte in der Gruppe der Frauen, die homozygot für das AGT 235T-Allel sind, während für den ACE I/D-Polymorphismus keine Assoziation zu Manifestationen schwangerschafts-induzierter hypertensiver Erkrankungen nachweisbar ist.
3. Ein Zusammenhang zwischen den untersuchten maternalen Polymorphismen (TNF- $\alpha$  G308A, IL-6 G174C, AGT M235T, ACE I/D, PPAR- $\gamma$ 2 Pro12Ala, NOS3 G894T, T789C, intron 4a/b) und dem kindlichen Geburtsgewicht im Sinne der „advanced fetal programming hypothesis“ konnte nicht festgestellt werden.
4. Nicht nur Mangelernährung sondern auch eine isokalorische Hochproteindiät während der Schwangerschaft und Laktationsphase führt bei Ratten zu geschlechtsabhängigen Unterschieden des Phänotyps der F1-Generation. Bei den männlichen Nachkommen fallen erhöhte Blutdruckwerte auf, während die weiblichen Tiere eine höhere Gewichtszunahme pro Gramm Nahrungsaufnahme und ein im Verlauf höheres Körpergewicht zeigen.
5. Der Surrogatparameter Geburtsgewicht ist bereits zum Zeitpunkt der Geburt invers mit dem totalen glykosylierten Hämoglobin als einem anerkannten Indikator für Störungen des Glukosestoffwechsels assoziiert. Eine bereits intrauterin bestehende verminderte Insulinwirkung durch verminderte Insulinsekretion oder verminderte Insulinsensitivität könnte diesen Befund erklären. Die pathophysiologischen Mechanismen, die fetales Wachstum mit Insulinresistenz und Diabetes im Verlauf des späteren Lebens verknüpfen scheinen bereits intrauterin wirksam zu sein.



## 5 Abkürzungsverzeichnis

AGT	Angiotensinogen
ACE	Angiotensin Converting Enzym
ET	Endothelin
IFN	Interferon
IL	Interleukin
NO	Stickoxid
PG	Prostaglandin
PPAR	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
RAS	Renin-Angiotensin-System
TBX	Thromboxan
TNF	Tumor Nekrose Faktor

## 6 Literaturverzeichnis

Andreasyan, K.; Ponsonby, A. L.; Dwyer, T.; Morley, R.; Riley, M.; Dear, K. und Cochrane, J. (2007): Higher maternal dietary protein intake in late pregnancy is associated with a lower infant ponderal index at birth, *Eur.J.Clin.Nutr.* (Band 61), Nr. 4, Seite 498-508. URL: PM:17136041

Armitage, J. A.; Taylor, P. D. und Poston, L. (2005): Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development, *J.Physiol* (Band 565), Nr. Pt 1, Seite 3-8. URL: PM:15695245

August, P.; Lenz, T.; Ales, K. L.; Druzin, M. L.; Edersheim, T. G.; Hutson, J. M.; Muller, F. B.; Laragh, J. H. und Sealey, J. E. (1990): Longitudinal study of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive pregnant women: deviations related to the development of superimposed preeclampsia, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 163), Nr. 5 Pt 1, Seite 1612-1621. URL: PM:2146881

Barker, D. J. und Osmond, C. (1986): Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales, *Lancet* (Band 1), Nr. 8489, Seite 1077-1081. URL: PM:2871345

Barker, D. J.; Winter, P. D.; Osmond, C.; Margetts, B. und Simmonds, S. J. (1989): Weight in infancy and death from ischaemic heart disease, *Lancet* (Band 2), Nr. 8663, Seite 577-580. URL: PM:2570282

Benedetto, C.; Marozio, L.; Ciccone, G.; Chieppa, G.; Quaglia, M.; Matullo, G.; Bertola, L.; Guarrera, S.; Carturan, S. und Stratta, P. (2007): Synergistic effect of renin-angiotensin system and nitric oxide synthase genes polymorphisms in pre-eclampsia, *Acta Obstet.Gynecol.Scand.* (Band 86), Nr. 6, Seite 678-682. URL: PM:17520398

Burns, S. P.; Desai, M.; Cohen, R. D.; Hales, C. N.; Iles, R. A.; Germain, J. P.; Going, T. C. und Bailey, R. A. (1997): Gluconeogenesis, glucose handling, and structural changes in livers of the adult offspring of rats partially deprived of protein during pregnancy and lactation, *J.Clin.Invest* (Band 100), Nr. 7, Seite 1768-1774. URL: PM:9312176

Clark, D. A.; Arck, P. C. und Chaouat, G. (1999): Why did your mother reject you? Immunogenetic determinants of the response to environmental selective pressure expressed at the uterine level, *Am.J.Reprod.Immunol.* (Band 41), Nr. 1, Seite 5-22. URL: PM:10097783

Cooper, W. O.; Hernandez-Diaz, S.; Arbogast, P. G.; Dudley, J. A.; Dyer, S.; Gideon, P. S.; Hall, K. und Ray, W. A. (2006): Major congenital malformations after first-trimester exposure to ACE inhibitors, *N.Engl.J.Med.* (Band 354), Nr. 23, Seite 2443-2451. URL: PM:16760444

Dekker, G. A. (1999): Risk factors for preeclampsia, *Clin.Obstet.Gynecol.* (Band 42), Nr. 3, Seite 422-435. URL: PM:10451762

Dong, M.; He, J.; Wang, Z.; Xie, X. und Wang, H. (2005): Placental imbalance of Th1- and Th2-type cytokines in preeclampsia, *Acta Obstet.Gynecol.Scand.* (Band 84), Nr. 8, Seite 788-793. URL: PM:16026406

Fishman, D.; Faulds, G.; Jeffery, R.; Mohamed-Ali, V.; Yudkin, J. S.; Humphries, S. und Woo, P. (1998): The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis, *J.Clin.Invest* (Band 102), Nr. 7, Seite 1369-1376. URL: PM:9769329

Fowden, A. L.; Hughes, P. und Comline, R. S. (1989): The effects of insulin on the growth rate of the sheep fetus during late gestation, *Q.J.Exp.Physiol* (Band 74), Nr. 5, Seite 703-714. URL: PM:2687925

Granger, J. P.; Alexander, B. T.; Llinas, M. T.; Bennett, W. A. und Khalil, R. A. (2001): Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction, *Hypertension* (Band 38), Nr. 3 Pt 2, Seite 718-722. URL: PM:11566964

Gupta, S.; Agarwal, A. und Sharma, R. K. (2005): The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia, *Obstet.Gynecol.Surv.* (Band 60), Nr. 12, Seite 807-816. URL: PM:16359563

Haggerty, C. L.; Ferrell, R. E.; Hubel, C. A.; Markovic, N.; Harger, G. und Ness, R. B. (2005): Association between allelic variants in cytokine genes and preeclampsia, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 193), Nr. 1, Seite 209-215. URL: PM:16021081

Hattersley, A. T. und Tooke, J. E. (1999): The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease, *Lancet* (Band 353), Nr. 9166, Seite 1789-1792. URL: PM:10348008

Herse, F.; Dechend, R.; Harsem, N. K.; Wallukat, G.; Janke, J.; Qadri, F.; Hering, L.; Muller, D. N.; Luft, F. C. und Staff, A. C. (2007): Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia, *Hypertension* (Band 49), Nr. 3, Seite 604-611. URL: PM:17261642

Hocher, B.; Slowinski, T.; Bauer, C. und Halle, H. (2001): The advanced fetal programming hypothesis, *Nephrol.Dial.Transplant.* (Band 16), Nr. 6, Seite 1298-1299. URL: PM:11390742

Hocher, B.; Slowinski, T.; Stolze, T.; Pleschka, A.; Neumayer, H. H. und Halle, H. (2000): Association of maternal G protein beta3 subunit 825T allele with low birthweight, *Lancet* (Band 355), Nr. 9211, Seite 1241-1242. URL: PM:10770310

Irani, R. A. und Xia, Y. (2008): The functional role of the renin-angiotensin system in pregnancy and preeclampsia, *Placenta* (Band 29), Nr. 9, Seite 763-771. URL: PM:18687466

Kauma, S. W.; Huff, T. F.; Hayes, N. und Nilkaeo, A. (1999): Placental Fas ligand expression is a mechanism for maternal immune tolerance to the fetus, *J.Clin.Endocrinol.Metab* (Band 84), Nr. 6, Seite 2188-2194. URL: PM:10372730

Khalil, R. A. und Granger, J. P. (2002): Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models, *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* (Band 283), Nr. 1, Seite R29-R45. URL: PM:12069928

Kim, Y. J.; Park, H. S.; Lee, H. Y.; Ha, E. H.; Suh, S. H.; Oh, S. K. und Yoo, H. S. (2006): Reduced L-arginine level and decreased placental eNOS activity in preeclampsia, *Placenta* (Band 27), Nr. 4-5, Seite 438-444. URL: PM:16009421

Kwong, W. Y.; Wild, A. E.; Roberts, P.; Willis, A. C. und Fleming, T. P. (2000): Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension, *Development* (Band 127), Nr. 19, Seite 4195-4202. URL: PM:10976051

Lachmeijer, A. M.; Dekker, G. A.; Pals, G.; Aarnoudse, J. G.; ten Kate, L. P. und Arngrimsson, R. (2002): Searching for preeclampsia genes: the current position, Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol. (Band 105), Nr. 2, Seite 94-113. URL: PM:12381470

Langley-Evans, S. C.; Welham, S. J.; Sherman, R. C. und Jackson, A. A. (1996): Weanling rats exposed to maternal low-protein diets during discrete periods of gestation exhibit differing severity of hypertension, Clin.Sci.(Lond) (Band 91), Nr. 5, Seite 607-615. URL: PM:8942400

Law, C. M. und Shiell, A. W. (1996): Is blood pressure inversely related to birth weight? The strength of evidence from a systematic review of the literature, J.Hypertens. (Band 14), Nr. 8, Seite 935-941. URL: PM:8884547

Lucas, A. (1994): Role of nutritional programming in determining adult morbidity, Arch.Dis.Child (Band 71), Nr. 4, Seite 288-290. URL: PM:7979518

Masuda, K.; Osada, H.; Iitsuka, Y.; Seki, K. und Sekiya, S. (2002): Positive association of maternal G protein beta3 subunit 825T allele with reduced head circumference at birth, Pediatr.Res. (Band 52), Nr. 5, Seite 687-691. URL: PM:12409514

McIntyre, J. A. und Faulk, W. P. (1986): Trophoblast antigens in normal and abnormal human pregnancy, Clin.Obstet.Gynecol. (Band 29), Nr. 4, Seite 976-998. URL: PM:3545596

Meirhaeghe, A.; Boreham, C. A.; Murray, L. J.; Richard, F.; Davey, Smith G.; Young, I. S. und Amouyel, P. (2007): A possible role for the PPARG Pro12Ala polymorphism in preterm birth, Diabetes (Band 56), Nr. 2, Seite 494-498. URL: PM:17259396

Mello, G.; Parretti, E.; Gensini, F.; Sticchi, E.; Mecacci, F.; Scarselli, G.; Genuardi, M.; Abbate, R. und Fatini, C. (2003): Maternal-fetal flow, negative events, and preeclampsia: role of ACE I/D polymorphism, Hypertension (Band 41), Nr. 4, Seite 932-937. URL: PM:12654717

Molvarec, A.; Jermendy, A.; Nagy, B.; Kovacs, M.; Varkonyi, T.; Hupuczki, P.; Prohaszka, Z. und Rigo, J., Jr. (2008): Association between tumor necrosis factor (TNF)-alpha G-308A gene polymorphism and preeclampsia complicated by severe fetal growth restriction, Clin.Chim.Acta (Band 392), Nr. 1-2, Seite 52-57. URL: PM:18396154

Morgan, T.; Craven, C.; Lalouel, J. M. und Ward, K. (1999): Angiotensinogen Thr235 variant is associated with abnormal physiologic change of the uterine spiral arteries in first-trimester decidua, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 180), Nr. 1 Pt 1, Seite 95-102. URL: PM:9914585

Osmond, C.; Barker, D. J.; Winter, P. D.; Fall, C. H. und Simmonds, S. J. (1993): Early growth and death from cardiovascular disease in women, *BMJ* (Band 307), Nr. 6918, Seite 1519-1524. URL: PM:8274920

Ozanne, S. E.; Wang, C. L.; Coleman, N. und Smith, G. D. (1996): Altered muscle insulin sensitivity in the male offspring of protein-malnourished rats, *Am.J.Physiol* (Band 271), Nr. 6 Pt 1, Seite E1128-E1134. URL: PM:8997235

Peters, J. (1995): Molecular basis of human hypertension: the role of angiotensin, *Baillieres Clin.Endocrinol.Metab* (Band 9), Nr. 3, Seite 657-678. URL: PM:7575336

Piccinni, M. P. und Romagnani, S. (1996): Regulation of fetal allograft survival by a hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines, *Immunol.Res.* (Band 15), Nr. 2, Seite 141-150. URL: PM:8839782

Pihlajamaki, J.; Vanhala, M.; Vanhala, P. und Laakso, M. (2004): The Pro12Ala polymorphism of the PPAR gamma 2 gene regulates weight from birth to adulthood, *Obes.Res.* (Band 12), Nr. 2, Seite 187-190. URL: PM:14981210

Podjarny, E.; Baylis, C. und Losonczy, G. (1999): Animal models of preeclampsia, *Semin.Perinatol.* (Band 23), Nr. 1, Seite 2-13. URL: PM:10102166

Quan, A. (2006): Fetopathy associated with exposure to angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor antagonists, *Early Hum.Dev.* (Band 82), Nr. 1, Seite 23-28. URL: PM:16427219

Raghupathy, R.; Makhseed, M.; Azizieh, F.; Hassan, N.; Al Azemi, M. und Al Shamali, E. (1999): Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions, *Cell Immunol.* (Band 196), Nr. 2, Seite 122-130. URL: PM:10527564

Ravelli, A. C.; van der Meulen, J. H.; Michels, R. P.; Osmond, C.; Barker, D. J.; Hales, C. N. und Bleker, O. P. (1998): Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine, *Lancet* (Band 351), Nr. 9097, Seite 173-177. URL: PM:9449872

Rich-Edwards, J. W.; Stampfer, M. J.; Manson, J. E.; Rosner, B.; Hankinson, S. E.; Colditz, G. A.; Willett, W. C. und Hennekens, C. H. (1997): Birth weight and risk of cardiovascular disease in a cohort of women followed up since 1976, *BMJ* (Band 315), Nr. 7105, Seite 396-400. URL: PM:9277603

Robillard, P. Y.; Dekker, G. A. und Hulsey, T. C. (1999): Revisiting the epidemiological standard of preeclampsia: primigravidity or primipaternity?, *Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol.* (Band 84), Nr. 1, Seite 37-41. URL: PM:10413224

Serrano, N. C.; Diaz, L. A.; Paez, M. C.; Mesa, C. M.; Cifuentes, R.; Monterrosa, A.; Gonzalez, A.; Smeeth, L.; Hingorani, A. D. und Casas, J. P. (2006): Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and preeclampsia risk: evidence of small-study bias, *PLoS.Med.* (Band 3), Nr. 12, Seite e520. URL: PM:17194198

Sibai, B.; Dekker, G. und Kupferminc, M. (2005): Pre-eclampsia, *Lancet* (Band 365), Nr. 9461, Seite 785-799. URL: PM:15733721

Stonek, F.; Hafner, E.; Metzenbauer, M.; Katharina, S.; Stumpflen, I.; Schneeberger, C.; Zeisler, H.; Husslein, P. und Philipp, K. (2008): Absence of an association of tumor necrosis factor (TNF)-alpha G308A, interleukin-6 (IL-6) G174C and interleukin-10 (IL-10) G1082A polymorphism in women with preeclampsia, *J.Reprod.Immunol.* (Band 77), Nr. 1, Seite 85-90. URL: PM:17544514

Tangri, S. und Raghupathy, R. (1993): Expression of cytokines in placentas of mice undergoing immunologically mediated spontaneous fetal resorptions, *Biol.Reprod.* (Band 49), Nr. 4, Seite 850-856. URL: PM:8218651

Tarrade, A.; Schoonjans, K.; Pavan, L.; Auwerx, J.; Rochette-Egly, C.; Evain-Brion, D. und Fournier, T. (2001): PPARgamma/RXRalpha heterodimers control human trophoblast invasion, *J.Clin.Endocrinol.Metab* (Band 86), Nr. 10, Seite 5017-5024. URL: PM:11600579

Tiret, L.; Rigat, B.; Visvikis, S.; Breda, C.; Corvol, P.; Cambien, F. und Soubrier, F. (1992): Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-

converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels, *Am.J.Hum.Genet.* (Band 51), Nr. 1, Seite 197-205. URL: PM:1319114

Tsukimori, K.; Komatsu, H.; Fukushima, K.; Kaku, T.; Nakano, H. und Wake, N. (2008): Inhibition of nitric oxide synthetase at mid-gestation in rats is associated with increases in arterial pressure, serum tumor necrosis factor-alpha, and placental apoptosis, *Am.J.Hypertens.* (Band 21), Nr. 4, Seite 477-481. URL: PM:18246055

Uma, R.; Forsyth, J. S.; Struthers, A. D.; Fraser, C. G.; Godfrey, V. und Murphy, D. J. (2008): Correlation of angiotensin converting enzyme activity and the genotypes of the I/D polymorphism in the ACE gene with preterm birth and birth weight, *Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol.* URL: PM:18755533

Vehaskari, V. M.; Aviles, D. H. und Manning, J. (2001): Prenatal programming of adult hypertension in the rat, *Kidney Int.* (Band 59), Nr. 1, Seite 238-245. URL: PM:11135076

Waite, L. L.; Louie, R. E. und Taylor, R. N. (2005): Circulating activators of peroxisome proliferator-activated receptors are reduced in preeclamptic pregnancy, *J.Clin.Endocrinol.Metab* (Band 90), Nr. 2, Seite 620-626. URL: PM:15562025

Wang, X.; Zuckerman, B.; Pearson, C.; Kaufman, G.; Chen, C.; Wang, G.; Niu, T.; Wise, P. H.; Bauchner, H. und Xu, X. (2002): Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight, *JAMA* (Band 287), Nr. 2, Seite 195-202. URL: PM:11779261

Weiner, C. P.; Knowles, R. G. und Moncada, S. (1994): Induction of nitric oxide synthases early in pregnancy, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 171), Nr. 3, Seite 838-843. URL: PM:7522401

Wellik, S. R.; de Veciana, M.; Morgan, M. A.; Berkowitz, K. M. und Arquilla, E. R. (1995): Naturally occurring insulin autoantibodies in neonates of normal pregnancies and their relationship to insulinemia and birth weight, *Am.J.Obstet.Gynecol.* (Band 173), Nr. 6, Seite 1878-1884. URL: PM:8610780

Widdowson, E. M. und McCance, R. A. (1975): A review: new thoughts on growth, *Pediatr.Res.* (Band 9), Nr. 3, Seite 154-156. URL: PM:1091911



Williams, D. J.; Vallance, P. J.; Neild, G. H.; Spencer, J. A. und Imms, F. J. (1997): Nitric oxide-mediated vasodilation in human pregnancy, *Am.J.Physiol* (Band 272), Nr. 2 Pt 2, Seite H748-H752. URL: PM:9124434

Wilson, A. G.; Symons, J. A.; McDowell, T. L.; McDevitt, H. O. und Duff, G. W. (1997): Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* (Band 94), Nr. 7, Seite 3195-3199. URL: PM:9096369

Yajnik, C. S.; Fall, C. H.; Vaidya, U.; Pandit, A. N.; Bavdekar, A.; Bhat, D. S.; Osmond, C.; Hales, C. N. und Barker, D. J. (1995): Fetal growth and glucose and insulin metabolism in four-year-old Indian children, *Diabet.Med.* (Band 12), Nr. 4, Seite 330-336. URL: PM:7600749

Yliharsila, H.; Eriksson, J. G.; Forsen, T.; Laakso, M.; Uusitupa, M.; Osmond, C. und Barker, D. J. (2004): Interactions between peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 gene polymorphisms and size at birth on blood pressure and the use of antihypertensive medication, *J.Hypertens.* (Band 22), Nr. 7, Seite 1283-1287. URL: PM:15201543

Zafarmand, M. H.; Nijdam, M. E.; Franx, A.; Grobbee, D. E. und Bots, M. L. (2008): The angiotensinogen gene M235T polymorphism and development of preeclampsia/eclampsia: a meta-analysis and meta-regression of observational studies, *J.Hypertens.* (Band 26), Nr. 9, Seite 1726-1734. URL: PM:18698203

Zhang, X. Q.; Varner, M.; Dizon-Townson, D.; Song, F. und Ward, K. (2003): A molecular variant of angiotensinogen is associated with idiopathic intrauterine growth restriction, *Obstet.Gynecol.* (Band 101), Nr. 2, Seite 237-242. URL: PM:12576245

Zhou, Y.; Damsky, C. H. und Fisher, S. J. (1997): Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome?, *J.Clin.Invest* (Band 99), Nr. 9, Seite 2152-2164. URL: PM:9151787

## **7 Danksagung**

Vor allem gebührt mein herzlicher Dank Prof. Dr. Berthold Hoher für die jahrelange großzügige Unterstützung und Förderung sowie die enge und gute Zusammenarbeit.

Des Weiteren danke ich den Mitarbeitern und Doktoranden unserer Arbeitsgruppe, die am Entstehen der Arbeiten beteiligt waren. Dies waren insbesondere Andreas Sohn, Bulza Stirnberg, Christine Poralla, Claus-Michael Richter, Jenny Repey, Katja Simon, Katrin Krause, Michael Godes, Norma Schulz, Sophia Hügler, Torsten Slowinski, und Youpeng Chen.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch den Kooperationspartnern unserer Arbeitsgruppe Dr. Christa Thöne-Reineke und Prof. Dr. Horst Halle.

Meiner Familie danke ich für Ihre Unterstützung, insbesondere meiner Frau Jessica.

## 8 Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde.
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.