

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Klinik der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Sven Mahner

**Maternale und paternale Trägerschaft des M2/ANXA5-Haplotyps als  
Risikofaktor für plazentavermittelte Schwangerschaftskomplikationen**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Lara Ronja Maria Scharl

aus Geseke

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Nina Rogenhofer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Hans-Georg Frank  
Prof. Dr. Udo Jeschke

Dekan Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Januar 2023

**Meiner Familie in großer Dankbarkeit gewidmet**

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>3</b>
1.1	Allgemeiner Hintergrund.....	3
1.2	Präeklampsie .....	4
1.3	IUGR (Intrauterine Wachstumsrestriktion) .....	6
1.4	Frühgeburtlichkeit.....	8
1.5	Annexin.....	10
<b>2</b>	<b>ZIELSETZUNG</b> .....	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>15</b>
3.1	Studiendesign .....	15
3.2	Studienkollektiv und Kontrollgruppen .....	15
3.2.1	Rekrutierung.....	15
3.3	Ein- und Ausschlusskriterien.....	16
3.3.1	Einschlusskriterien.....	16
3.3.2	Ausschlusskriterien.....	17
3.4	Genotypisierung.....	18
3.5	Statistik.....	20
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>22</b>
4.1	Alter und Herkunft .....	22
4.2	Schwangerschaftsanamnese .....	25
4.3	Kinder .....	29
4.4	Genotypen des Annexin A5-Gens .....	33

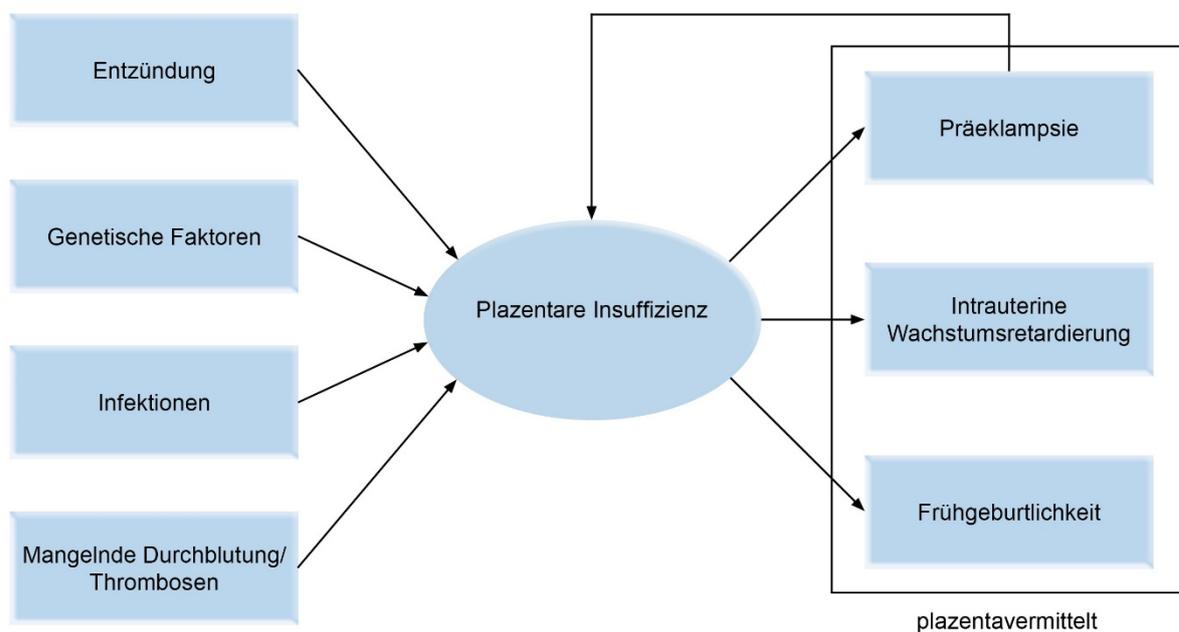
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>40</b>
5.1	Allgemeiner Hintergrund.....	40
5.2	Präeklampsie .....	41
5.3	IUGR (Intrauterine Wachstumsrestriktion) .....	42
5.4	Frühgeburtlichkeit.....	43
5.5	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	44
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>48</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeiner Hintergrund

Fast alle schwerwiegenden Schwangerschaftskomplikationen sind mit plazentaren Pathologien assoziiert, entweder als Ursache oder als Folge, wobei zwischen diesen beiden Möglichkeiten Überschneidungen und Wechselbeziehungen bestehen.

Über die Hälfte aller Totgeburten sind durch plazentare Störungen verursacht, zu denen vor allem die Präeklampsie und die intrauterine Wachstumsrestriktion (IUGR) gehören (Spratte und Fluhr 2017). Noch häufiger als diese beiden Schwangerschaftskomplikationen tritt eine Frühgeburt auf. In Deutschland liegt die Rate bei etwa 10 bis 11 % (Friebe und Husslein 2014). Da mit einer Frühgeburt das fetale Wachstum vorzeitig beendet wird, ist in erster Linie auch dieses Wachstum beeinträchtigt, womit die Frühgeburtlichkeit eng mit der IUGR assoziiert ist (Helmer und Schneider 2016) (Abb. 1).



**Abb. 1:** Ursachen, Folgen und Wechselwirkungen der plazentaren Pathologien.

Quelle: Eigene Darstellung

## 1.2 Präeklampsie

Die Präeklampsie ist klassischerweise charakterisiert durch eine arterielle Hypertonie, die von einer Proteinurie begleitet wird. Sie tritt nach der 20. Schwangerschafts- bzw. Gestationswoche auf (ACOG 2013; DGGG 2019). Die Präeklampsie gehört zur Gruppe der hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen und wird bei etwa 3 bis 8 % der Patientinnen beobachtet (Abalos et al. 2013; Heihoff-Klose und Stepan 2016).

Per Definition wird eine Frühform der Präeklampsie von einer Spät-Präeklampsie unterschieden. Letztere tritt nach der 34. SSW auf und überwiegt mit einem Anteil von mehr als 80 % deutlich (Huppertz und Schneider 2012). Es wird angenommen, dass den beiden Subtypen unterschiedliche Pathomechanismen zugrunde liegen. Außerdem handelt es sich bei der seltener vorkommenden frühen Präeklampsie um jene Form, die für die meisten Fälle der schweren Komplikationen verantwortlich ist (Dadelszen et al. 2003; Zhong et al. 2010; Huppertz und Schneider 2012; Staff et al. 2013; Burton et al. 2019). Sie geht vordergründig mit utero-plazentaren Zirkulationsstörungen einher, bei der Spätform dominieren metabolische und entzündliche Veränderungen (Peraçoli et al. 2019).

Die Präeklampsie gehört zu den häufigsten Ereignissen der schwerwiegenden Schwangerschaftskomplikationen. Sie geht mit einer erhöhten fetalen und maternalen Morbidität sowie Mortalität einher (Heihoff-Klose und Stepan 2016), wobei die Präeklampsie zu den Hauptursachen der maternalen Mortalität gehört (Duley 2009). Sie nimmt hier, nach hämorrhagischen und embolischen Komplikationen, den dritten Rang ein (Gopman et al. 2018). Die Rate der Todesfälle im Zusammenhang mit einer Präeklampsie wird auf 10 bis 15 % geschätzt (Duley 2009).

Die Präeklampsie ist eine multifaktorielle Erkrankung, die mit genetischen und immunologischen Prozessen assoziiert ist (Heihoff-Klose und Stepan 2016). Vor dem Hintergrund des genetischen Einflusses wird darauf hingewiesen, dass auch der Vater eine Rolle bei der Ätiologie der Präeklampsie spielen kann (Dekker et al. 2011). In fast einem Drittel der Fälle ist die Präeklampsie genetisch determiniert (Nilsson et al. 2004). Die genaue Ursache ist noch immer nicht ganz geklärt, wobei angenommen wird, dass Faktoren wie plazentare Ischämie, Inflammation oder oxidativer Stress eine maßgebliche Rolle spielen (Sibai et

al. 2005; Gathiram und Moodley 2016). Bekannt ist jedoch, dass der Präeklampsie pathophysiologisch eine abnormale Implantation des Trophoblasten zugrunde liegt, was als Ausgangspunkt für die weiteren Komplikationen betrachtet wird (Duley 2003). Außerdem hat sich in den letzten Jahren gezeigt, dass angiogene Faktoren eine wichtige Rolle spielen (Stepan und Jank 2009). Dies deutet darauf hin, dass Störungen der plazentaren Blutzirkulation mit Minderperfusion im Vordergrund stehen (Heihoff-Klose und Stepan 2016). Insgesamt wird primär davon ausgegangen, dass eine Imbalance zwischen pro- und antiangiogenen Faktoren maßgeblich zur Pathogenese beiträgt (Varughese et al. 2010).

Im Zuge der Präeklampsie ist die fetale Entwicklung gestört und es kann zum Abbruch der Schwangerschaft oder zur Frühgeburt kommen. Allgemein lässt sich feststellen, dass die pathophysiologischen Veränderungen, die mit einer Präeklampsie einhergehen, praktisch jedes Organsystem der Frau betreffen können (Gopman et al. 2018). Im Vordergrund stehen dabei Leber und Nieren (Jena et al. 2020) (Tab. 1).

**Tab. 1:** Klinisches Bild der milden und schweren Präeklampsie.

<b>Milde Präeklampsie</b>	<p>Blutdruck <math>\leq</math> 140/ 90mmHg + Proteinurie mit <math>\geq</math> 0,3 g Protein im 24h Urin.</p> <p>Klinische Zeichen: Zunehmende Ödeme, Kopfschmerzen, Sehstörungen.</p>
<b>Schwere Präeklampsie</b>	<p>Blutdruck <math>\geq</math> 160/ 110 mmHg.</p> <p>Leberbeteiligung: Oberbauchschmerzen, erhöhte Transaminasen; fetale Wachstumsrestriktion <math>\leq</math> 5.Perzentile; Hämolyse, Thrombozytopenie <math>&lt;</math> 100.000/ ml.</p> <p>Nierenversagen: Kreatininwert <math>\geq</math> 0,9 g/ l oder Oligurie <math>&lt;</math> 500 ml/ 24 h; Lungenödem; Eklampsie.</p>
<b>Schwerwiegende Komplikationen</b>	<p>Disseminierte intravasale Gerinnung (DIC), vorzeitige Plazentalösung, maternale Hirnblutung, extreme (iatrogene) Frühgeburt <math>&lt;</math> 32. SSW, Tod Mutter und/ oder Kind.</p>
Frühe Präeklampsie (early onset) $\leq$ 34. SSW; späte Präeklampsie (late onset) $>$ 34. SSW.	

Quelle: Modifizierter Reprint mit Genehmigung von [dem Lizenzgeber]: [Springer Nature] [Journal für Gynäkologische Endokrinologie/Schweiz] [Präeklampsie, Dröge und Verloren [COPYRIGHT] (2017).

Das Risiko für eine Präeklampsie ist besonders hoch, wenn bei den Frauen eine Thrombophilie vorliegt, wie zum Beispiel im Rahmen eines Antiphospholipid-Syndroms (Peraçoli et al. 2019). Auch andere Autoimmunerkrankungen und eine vorausgegangene Präeklampsie stellen ein hohes Risiko dar (Facchinetti et al. 2009; Gerhardt und Zotz 2014) (Tab. 2).

**Tab. 2:** Risikofaktoren für Präeklampsie.

	Relatives Risiko (RR)
Diabetes mellitus	2,0
Adipositas (BMI > 30 kg/ m <sup>2</sup> )	2,5
Primigravität	3,0
Alter > 40 Jahre	3,0
Mehrlings-Schwangerschaft	4,0
Präeklampsie in der Familie	5,0
Antiphospholipid-Syndrom	10,0
Chronische Hypertonie	10,0
Chronische Nierenerkrankung	20,0
Status nach schwerer Präeklampsie vor 28. SSW	120,0

Quelle: Modifizierter Reprint mit Genehmigung von [dem Lizenzgeber]: [Springer Nature] [Springer eBook] [Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen, Raio et al., [COPYRIGHT] (2016).

### 1.3 IUGR (Intrauterine Wachstumsrestriktion)

Von einer intrauterinen Wachstumsrestriktion (IUGR) wird gesprochen, wenn das Gewicht eines Fötus geringer ist als aufgrund des Gestationsalters erwartet wird und eine pathologische Störung vorliegt. Das ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) definierte als Diagnosekriterium für die IUGR ein Gestationsgewicht unterhalb der 10. Perzentile der Gesamtpopulation (ACOG 2001). Demgemäß weisen 10 % aller Neugeborenen ein zu geringes Geburtsgewicht auf (ca. < 3.000 g falls in der 40. SSW geboren). Die Arbeitsgruppe wies jedoch darauf hin, dass ein solches Geburtsgewicht

nicht zwingend pathologisch ist. Vielmehr ist mit Auffälligkeiten erst bei einem Geburtsgewicht zu rechnen, das unterhalb der 5. Perzentile liegt. Selbst Neugeborene mit einem Gewicht im Bereich der 3. bis 5. Perzentile weisen oft noch einen normalen Befund auf (McIntire et al. 1999; ACOG 2001; Schneider et al. 2016b).

Die IUGR stellt die zweithäufigste Ursache der perinatalen Mortalität und Morbidität nach der Präeklampsie dar. Abzugrenzen von der IUGR sind Fälle, in denen die Kinder ein zu geringes Geburtsgewicht aufweisen, ohne dass pathologische Störungen vorliegen (SGA = Small for Gestational Age) (Huppertz und Schneider 2012). Die Diagnosekriterien von IUGR und SGA überlappen sich und es kommt teils zu einer unklaren Differenzierung.

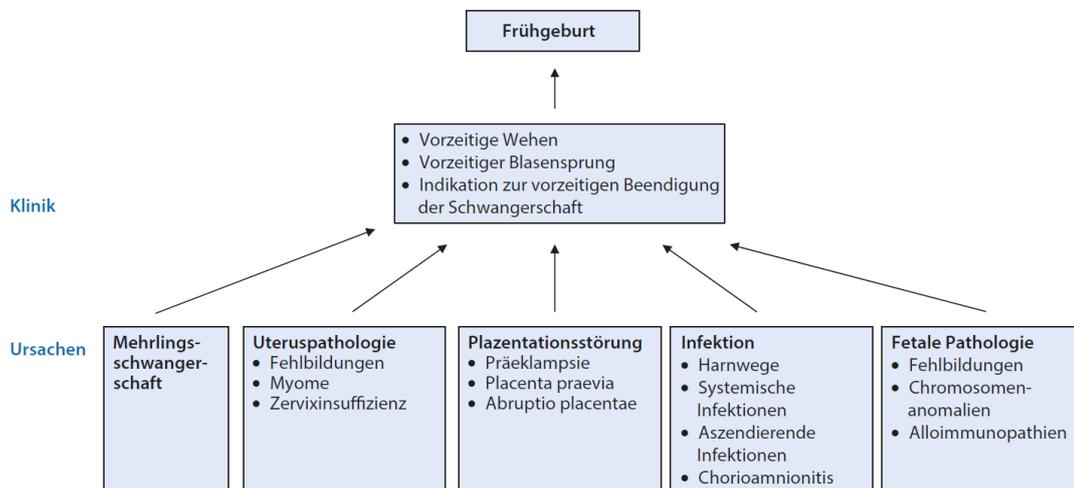
Die IUGR stellt außerdem den größten Risikofaktor für den intrauterinen Fruchttod bzw. die Fehlgeburt dar (Flenady et al. 2011). Daneben ist im Zuge der IUGR auch das Frühgeburts-Risiko um den Faktor zwei bis drei erhöht (Lackman et al. 2001).

Etwa 15 bis 30 % der Frauen, bei denen während der Schwangerschaft eine Hypertonie bzw. eine Präeklampsie diagnostiziert wird, gebären Kinder mit einem Gewicht unterhalb der 10. Perzentile (Chauhan et al. 2017). Es haben sich ferner deutliche Hinweise dahingehend ergeben, dass die IUGR vermehrt dann auftreten kann, wenn bei den Müttern Risikofaktoren für atherosklerotische Erkrankungen oder Störungen der Blutgerinnung im Sinne einer Thrombophilie vorliegen (Gerhardt und Zotz 2014).

Ätiologisch lassen sich im Hinblick auf die IUGR fetale und plazentare Faktoren voneinander unterscheiden. Zu den fetalen gehören zum Beispiel genetische Anomalien oder intrauterine Infektionen (Röteln, Zytomegalie). Plazentare Faktoren stehen in Zusammenhang mit verschiedenen Erkrankungen der Mutter wie Mangelernährung, Anämie oder Diabetes mellitus. Zu den plazentaren Störungen gehört auch die Präeklampsie, die wiederum bei vorbestehenden mütterlichen Erkrankungen häufiger vorkommt (Schneider et al. 2016b). Bemerkenswert ist, dass bis zu 50 % der Wachstumsretardierungen genetisch bedingt und davon größtenteils fetale Ursachen für das Krankheitsbild verantwortlich sind (Svensson et al. 2006).

## 1.4 Frühgeburtlichkeit

Als Frühgeburt wird eine Geburt bezeichnet, die vor der 37. Schwangerschaftswoche (SSW) stattfindet. Jährlich sterben weltweit fast eine Million frühgeborene Kinder in der neonatalen Phase (Fillenberg und Lasch 2017). Für das Jahr 2019 wies das Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen eine Frühgeburts-Rate von 8,4 % aus (Schill et al. 2020). Sofern diese Kinder überleben, muss mit zerebralen und respiratorischen Schädigungen, Visus- und Hörverlust sowie mit Entwicklungsstörungen gerechnet werden, was vor allem für extrem früh geborene Kinder gilt<sup>1</sup> (Mwaniki et al. 2012; Ream und Lehwald 2018). In Abhängigkeit vom Gestationsalter haben bis zu 30 % aller überlebenden Kinder schwerwiegende Gesundheitsstörungen mit meist langfristigen Folgen (Wen et al. 2004; Tucher und Henrich 2013). Etwa 10 % der Neugeborenen, die nach der 23. sowie vor der 26. SSW entbunden werden, entwickeln eine infantile Zerebralparese (Hafström et al. 2018). Die pathophysiologischen Faktoren von Frühgeburten sind in der folgenden Abbildung dargestellt (Abb. 2).



**Abb. 2:** Pathogenese der Frühgeburt.

Quelle: Reprint mit Genehmigung von [dem Lizenzgeber]: [Springer Nature] [Springer eBook] [Frühgeburt: Pränatale und intrapartale Aspekte, Helmer und Schneider, [COPYRIGHT] (2016).

<sup>1</sup> Bis zur 28. SSW wird von einer extremen Frühgeburt gesprochen, zwischen der 28. und 32. SSW von einer schweren Frühgeburt (Tucher und Henrich 2013).

Mehrlings-Schwangerschaften sind für 15 bis 20 % aller Frühgeburten verantwortlich, obwohl sie nur 2 bis 3 % aller Geburten ausmachen (Tucher und Henrich 2013). Ein hohes Risiko für Frühgeburtlichkeit stellt auch das Alter der Mutter dar. Während unter den jungen Frauen im Alter von 25 bis 29 Jahren in etwa 7 % der Fälle eine Frühgeburt auftritt, liegt die Rate in der Gruppe der 35- bis 39-Jährigen bei knapp 9 %. Mehr als 10 % der über 40-jährigen Frauen sind betroffen (Pöschl 2017) (Tab. 3).

**Tab. 3:** Risikofaktoren für eine Frühgeburt (Modifiziert nach Di Renzo et al. (2017)).

	Odds Ratio (OR)	95% CI
Z.n. spontaner Frühgeburt	3,6	3,2 - 4,0
Z.n. medizinisch induzierter Frühgeburt	1,6	1,3 - 2,1
Konisation	1,7	1,2 - 2,4
Letzte Geburt vor weniger als 12 Monaten	4,2	3,0 - 6,0
Alter der Mutter < 18 Jahre	1,7	1,0 - 3,1
Schlechte sozioökonomische Verhältnisse	1,8	1,7 - 1,9
Alleinstehende Mutter	1,6	1,3 - 2,1
Bakterielle Vaginose	1,4	1,2 - 1,8
Asymptomatische Bakteriurie	1,5	1,2 - 1,9
Vaginale Blutung in Früh-Schwangerschaft	2,0	1,7 - 2,3
Vaginale Blutung in Spät-Schwangerschaft	5,9	5,1 - 6,9
Zwillings-Schwangerschaft	6,0	Keine Angabe
Rauchen	1,7	1,3 - 2,2
Parodontitis	2,0	1,2 - 3,2
Anämie	1,5	1,2 - 2,2
Übergewicht (BMI > 25 kg/m <sup>2</sup> )	1,7	1,0 - 2,7
Diabetes mellitus	2,3	0,9 - 5,5

Quelle: Modifizierter Reprint mit Genehmigung von [dem Lizenzgeber]: [Springer Nature] [Der Gynäkologe] [Frühgeburt: Epidemiologie, Prädiktion und Prävention, Berger et al., [COPYRIGHT] (2020).

CI = Konfidenzintervall; Z.n. = Zustand nach.

Darüber hinaus liegen zwischenzeitlich zahlreiche Hinweise vor, dass genetische Faktoren Einfluss auf das Auftreten einer Frühgeburt haben (Bezold et al. 2013). Gemäß einer epidemiologischen Studie aus Schweden sind 25 % aller Frühgeburten durch genetische Einflüsse der Mutter bedingt. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass anders als bei der IUGR, die fetale Genetik hier keine größere Rolle zu spielen scheint bzw. der Einfluss hier bei nur 5 % liegt (Svensson et al. 2009).

### **1.5 Annexin**

Der Begriff Annexin leitet sich vom griechischen Terminus Annex ab und bedeutet wörtlich übersetzt ‚Anhang‘. Sinngemäß kann darunter auch ‚zusammenbringen‘ oder ‚etwas zusammenhalten‘ verstanden werden. Gewählt wurde die Bezeichnung, da Annexine biologische Strukturen, wie zum Beispiel Zellmembranen, zusammenhalten und weil sie an biologische Strukturen binden bzw. andocken. Entdeckt wurden sie gegen Ende der 1970er Jahre (Gerke und Moss 2002). Die Protein-Gruppe kann kalziumabhängig Phospholipide binden, weshalb zunächst von Lipocortinen gesprochen wurde und erst später von Annexinen. Im Jahr 1990 wurde erwirkt, diese Proteine als Annexin I bis VIII zu bezeichnen, was die Terminologie differenzierter gestaltete (Di Rosa et al. 1984; Crumpton und Dedman 1990).

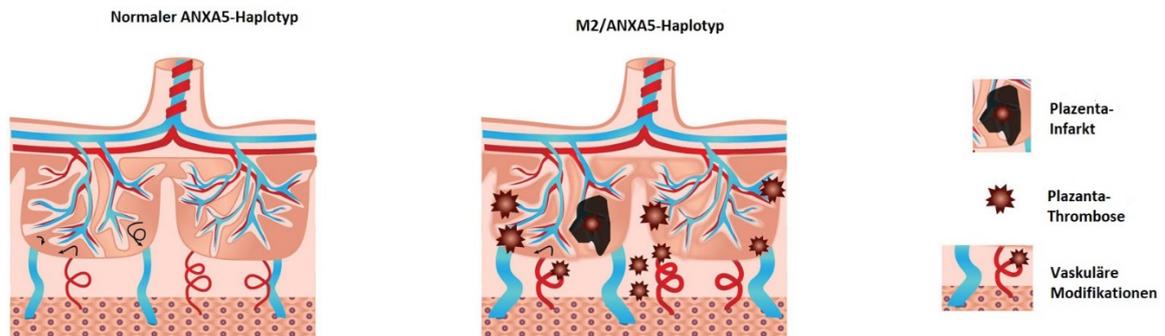
Annexin A5 (ANXA5) ist ein Protein mit gerinnungshemmender Wirkung (Römisch und Pâques 1991). Die Rolle dieses Proteins als natürlicher gerinnungshemmender Faktor wird bereits seit den 1980er Jahren untersucht (Funakoshi et al. 1987). ANXA5, auch als placental anticoagulant protein-I bezeichnet, wird in hohem Maß von den Trophoblasten der Plazenta synthetisiert, wobei es eine Rolle bei der Aufrechterhaltung des intervillösen Blutflusses spielt (Krikun et al. 1994; Rand et al. 1994). Es kommt jedoch fast überall im Körper vor, neben der Plazenta hauptsächlich in Niere und Leber (Morgan et al. 1998). Im intervillösen Raum verhindert ANXA5 die Gerinnung des mütterlichen Blutes (Gerke und Moss 2002). Deshalb wird angenommen, dass eine der physiologischen Wirkungen von ANXA5 darin besteht, Thrombosen zu verhindern (Gourvas et al. 2014). Außerdem kommt dem Protein eine Bedeutung bei der Reparatur von Zellwandschädigungen zu (Bouter et

al. 2015). ANXA5 soll neben der gerinnungshemmenden und antithrombotischen Wirkung an membranständigen Reparaturprozessen, durch Versiegelung geschädigter bzw. rupturierter Zellmembranen, beteiligt sein. Dies ist insbesondere für die Mikrovilli-Zellen von Bedeutung, da diese den hohen Scherkräften des maternalen Blutflusses ausgesetzt sind. Es ist somit ein Faktor, der auch die Wundheilung unterstützt (Bouter et al. 2011; Lin et al. 2020). Deshalb können verminderte Konzentrationen von ANXA5 sowohl die Blutgerinnung beeinflussen als auch Reparaturprozesse behindern (Lan et al. 2019).

Vor diesem Hintergrund wird verständlich, weshalb Störungen der ANXA5-Synthese mit Schwangerschaftskomplikationen, wie zum Beispiel einem rezidivierenden Verlust der Schwangerschaft, einhergehen können (Tüttelmann et al. 2013; Bouter et al. 2015).

ANXA5 wird vom ANXA5-Gen kodiert, wobei neben dem Wildtyp zwei weitere Haplotypen beschrieben wurden: Haplotyp M1 und M2 (Bogdanova et al. 2007). Der M2-Haplotyp kommt in der Allgemeinbevölkerung wesentlich häufiger vor als die M1-Variante (ca. 15 vs. 6 %) (Tiscia et al. 2009). In Abhängigkeit von der ethnischen Zugehörigkeit ist allerdings mit einer großen Streubreite zu rechnen, die zwischen etwa 10 und 40 % liegt (Ang et al. 2019). Der M1-Haplotyp weist an zwei Stellen der genetischen Sequenz Abweichungen (SNPs = Single Nucleotide Polymorphism) vom Wildtyp auf. Beim M2/ANXA5-Haplotyp liegt eine Kombination der M1-Mutation zusammen mit zwei weiteren SNPs vor, weshalb der Einfluss von M2 auf die mRNA-Expression und somit auf die Expression des Proteins selbst größer ist als der des M1-Haplotyps (Bogdanova et al. 2007; Chinni et al. 2009; Markoff et al. 2010; Rogenhofer et al. 2013). Der M2-Haplotyp geht mit einer verminderten Expression von ANXA5-Molekülen einher (Krikun et al. 1994; Markoff et al. 2010; Rogenhofer et al. 2021). Die ANXA5-Genexpression ist auf die Hälfte reduziert (Chinni et al. 2009).

Dies äußert sich durch Perfusionsstörungen der Plazenta, u.a. durch thrombotische Störungen infolge der Hyperkoagulation (Bogdanova et al. 2007; Tüttelmann et al. 2013; Markoff et al. 2016) (Abb. 3).



**Abb. 3:** Resultierende Pathologie der Annexin A5-Verminderung bei Vorliegen des M2-Haplotyps.

Quelle: Modifizierter und übersetzter Reprint mit Genehmigung von [dem Lizenzgeber]: [Springer Nature] [Journal of Assisted Reproduction and Genetics] [Maternal carriers of the ANXA5 M2 haplotype are exposed to a greater risk for placenta-mediated pregnancy complications, Aranda et al., [COPYRIGHT] (2018).

Das Risiko ist auch dann erhöht, wenn beim Vater ein M2-Haplotyp vorliegt (Tüttelmann et al. 2013; Demetriou et al. 2015; Rogenhofer et al. 2021). Im Jahr 2007 konnte der M2-Haplotyp erstmals beschrieben werden. Es wurde in initialen Studien dokumentiert, dass der Haplotyp mit wiederholten Fehlgeburten assoziiert ist und sich die Rate hierfür, bei Vorliegen des Haplotyps, mehr als verdoppelt (Bogdanova et al. 2007; Tiscia et al. 2009). In diesem Zusammenhang scheint es keine Rolle zu spielen, ob es sich beim M2-Haplotyp um ein Allel handelt, das vom Vater oder der Mutter stammt (Rogenhofer et al. 2012; Tüttelmann et al. 2013). Diese Tatsache konnte auch im Hinblick auf das rezidivierende Implantationsversagen nach assistierter Reproduktion (IVF = In-Vitro-Fertilisation/ ICSI = Intrazytoplasmatische Spermieninjektion) demonstriert werden, wobei sich für die maternale und die paternale Trägerschaft ein relatives Risiko von 1,6 bzw. 1,9 ergeben hatte (Rogenhofer et al. 2021). In einer Studie zur Einschätzung des Infertilitäts-Risikos zeigte sich ferner, dass bei Frauen und Männern der M2-Haplotyp gleichermaßen häufig vorkam (24 bzw. 26 %) (Fishel et al. 2014). Ähnliche Befunde hatten sich auch im Hinblick auf rezidivierende Spontanaborte ergeben (Demetriou et al. 2015). Das Risiko dieser Kompl-

kationen ist somit eher durch embryonale Eigenschaften bedingt als durch spezifische Pathologien der Mutter. Dies unterscheidet Störungen, die im Zusammenhang mit dem M2-Haplotyp verursacht werden, von anderen Thrombophilien, die mit Schwangerschaftskomplikationen assoziiert sind. Hier dominieren meist maternale Faktoren (Toth et al. 2008; Bogdanova und Markoff 2010; Markoff et al. 2010; Rogenhofer et al. 2012; Fishel et al. 2014). Liegt beim Vater eine Thrombophilie vor (z.B. Faktor-V-Leiden-Mutation), so ist das Risiko für rezidivierende Fehlgeburten nicht erhöht (Toth et al. 2008).

Bemerkenswert ist die Diskrepanz zwischen den ANXA5-mRNA-Spiegeln, die bei Präeklampsie extrem gering sind, und den Proteinexpressionsspiegeln, die nur mäßig reduzierte Werte aufweisen. Diese Diskrepanz könnte durch Faktoren erklärt werden, die die mRNA-Langlebigkeit posttranskriptionell verringern oder die Proteinstabilisierung erhöhen und den Abbau posttranslational verringern (Gourvas et al. 2014). Von Bedeutung ist im Hinblick auf die Präeklampsie ferner, dass in frühen Studien bei etwa 20 % der Patientinnen Antikörper gegen ANXA5 nachgewiesen werden konnten (Matsuda et al. 1994), was die Vielschichtigkeit und Komplexität des Krankheitsbildes weiter untermauert. Davon abgesehen ergaben sich in den letzten Jahren stetig mehr Anzeichen dafür, dass die Trägerschaft des M2-Haplotyps, zumindest in einem gewissen Umfang, auch für andere geburtshilfliche Komplikationen verantwortlich ist und mit einem gesteigerten Risiko für intrauterine Wachstumsverminderung einhergeht (Chinni et al. 2009; Tiscia et al. 2009).

## 2 Zielsetzung

Fehl- und Frühgeburten, Geburten mit zu geringem Geburtsgewicht sowie die Präeklampsie gehören zu den schwerwiegenden Schwangerschaftskomplikationen. Die Ursachen sind vielfältig, wobei sich zeigte, dass oftmals plazentare Störungen eine Rolle spielen. Ebenso stellen genetisch bedingte Thrombophilien einen relevanten Faktor dar. In diesem Zusammenhang steht seit einigen Jahren auch das antithrombotisch wirksame Protein ANXA5 im Fokus des Interesses. Mehrfach wurde gezeigt, dass das Fehlgeburts-Risiko bei Vorliegen des M2/ANXA5-Haplotyps um mehr als das Doppelte erhöht ist (Bogdanova et al. 2007; Rogenhofer et al. 2012; Tüttelmann et al. 2013). Ferner wurde ein negativer Einfluss auf andere Komplikationen wie die Präeklampsie oder die IUGR dargelegt (Chinni et al. 2009; Tiscia et al. 2009). Zwischenzeitlich verdichteten sich Hinweise darauf, dass auch das väterliche M2-Allel eine Rolle bei Schwangerschaftskomplikationen spielt (Rogenhofer et al. 2012; Fishel et al. 2014).

Der M2-Haplotyp des Annexin A5-Gens wurde bislang hauptsächlich in Hinsicht auf das Fehlgeburts-Risiko untersucht. Die meisten Studien berücksichtigten nur maternale und nicht die paternale Trägerschaft, obgleich der Fötus und die extraembryonalen Membranen aus Proteinmolekülen stammen, die von maternal und paternal vererbten Genen kodiert werden (Toth et al. 2008).

Ziel dieser Arbeit war es, an einem größeren Kollektiv den Einfluss des M2/ANXA5-Haplotyps auf das Risiko für Präeklampsie, IUGR und Frühgeburtlichkeit zu untersuchen, wobei insbesondere der Einfluss der paternalen M2-Trägerschaft interessierte.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studiendesign**

Diese Arbeit behandelt eine Studie, die im Zeitraum zwischen 2010 und 2015 in dem Hormon- und Kinderwunschzentrum der Klinik und Poliklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe der Ludwig-Maximilians-Universität München erfolgte. Von den teilnehmenden ProbandInnen wurden Blutproben zur genetischen Analyse entnommen und zusammen mit den bereits vorhandenen Daten ausgewertet.

Die Studie richtete sich nach den ethischen Vorgaben der beteiligten Institutionen. Eine Genehmigung der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München wurde eingeholt (Projekt-Nummer: 209-12). Von allen TeilnehmerInnen lag eine schriftliche Einverständniserklärung vor, nachdem zuvor ein Aufklärungsgespräch stattgefunden hatte. Soweit anwendbar wurden die STREGA-Kriterien (Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies) eingehalten.

### **3.2 Studienkollektiv und Kontrollgruppen**

#### **3.2.1 Rekrutierung**

Von den Elternpaaren, die sich in den o.g. Abteilungen vorstellten, wurden insgesamt 288 Paare mit Risikoschwangerschaften ausgewählt, wobei in je 96 Fällen eine IUGR, eine Frühgeburt oder eine Präeklampsie aus der Vorgeschichte bekannt war. Als Vergleich bzw. Kontrolle dienten zwei Kontrollkollektive: (1) eine Münchner Kontrollgruppe (Münchner KG) und (2) eine Bevölkerungs-Stichprobe (PopGen KG). Bei der Münchner Kontrollgruppe handelte es sich um 89 fertile Frauen europäischer Herkunft, bei denen mindestens eine normale Schwangerschaft (normale Dauer, keine Gestationspathologien) und die Geburt eines einzelnen, gesunden sowie normalgewichtigen Säuglings dokumentiert war. Es lag keine Schwangerschaftskomplikation in der Historie vor. Diese Gruppe war zuvor in dem Hormon- und Kinderwunschzentrum der Klinik und Poliklinik für Gynä-

kologie und Geburtshilfe der Ludwig-Maximilians-Universität München rekrutiert worden. Bei der zweiten Kontrollgruppe handelte es sich um eine Bevölkerungs-Stichprobe von insgesamt 533 weiblichen und männlichen ProbandInnen der PopGen-Biobank des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH) in Kiel. Die Gruppe bestand aus 266 gesunden Frauen sowie 267 gesunden Männern und enthielt drei Altersgruppen, nämlich 18- bis 30-Jährige, 31- bis 50-Jährige und 51- bis 80-Jährige. Außerdem lagen jeweils Angaben zur Verteilung der Genotypen des Annexin A5-Gens vor.

### 3.3 Ein- und Ausschlusskriterien

#### 3.3.1 Einschlusskriterien

Eingeschlossen in die Studie wurden Elternpaare, die folgende Kriterien erfüllten:

- |  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Alter zwischen 18 und 40 Jahren (Frauen) bzw. 18 und 49 Jahren (Männer)</li><li>• Body Mass Index (BMI) zwischen 19 und 24 kg/ m<sup>2</sup> (Normalgewicht)</li></ul> |
|--|

Außerdem sollte eine der folgenden Schwangerschaftskomplikationen bei den Elternpaaren aufgetreten sein (Tab. 4).

**Tab. 4:** Definitionen der drei untersuchten Schwangerschaftskomplikationen.

IUGR	Neugeborene mit Geburtsgewicht $\leq$ 5. Perzentile und nicht perzentilengerechtes Wachstum im Schwangerschaftsverlauf sowie auffällige Dopplersonographie.
Frühgeburt	Entbindung zwischen der Schwangerschaftswoche 23+5 und 36+5; ausschließlich idiopathische Frühgeburtlichkeit.
Präeklampsie	Schwangerschaftshypertonie ( $\geq$ 140 mmHg systolisch und 90 mmHg diastolisch bei mind. zwei Messungen im Intervall von mind. sechs Stunden) und Proteinurie ( $\geq$ 300 mg/ 24 h-Urin) nach der 20. SSW.

Quelle: Die Definitionen wurden unter Berücksichtigung der allgemeinen Kenntnisse selbst festgelegt.

IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

### 3.3.2 Ausschlusskriterien

Bei Vorliegen einer der Variablen wurden die ProbandInnen von der Studie ausgeschlossen, sofern diese Pathologien nicht Merkmal einer der drei untersuchten Schwangerschaftskomplikationen selbst waren:

- Angeborene Thrombophilien (z.B. Faktor-V-Leiden-Mutation, Prothrombin-Mutation, Antithrombinmangel, Protein-C-Mangel, Protein-S-Mangel) sowie Antiphospholipid-Syndrom
- Endokrinologische Dysfunktionen (z.B. polyzystisches Ovarialsyndrom (PCO), Hyperprolaktinämie, Hyperandrogenämie, thyreoidale Dysfunktionen oder thyreoidale Antikörper)
- Diabetes mellitus, Anämien, Kollagenosen, Nieren- und Lungenerkrankungen sowie Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems (z.B. Hypertonus)
- Infektionen (z.B. Zytomegalie, Malaria, Parovirus-Infektion, Rubella-Infektion, Toxoplasmose, Herpes-simplex-Virus-Infektion, Humanes Immundefizienz-Virus (HIV))
- Klinische Zeichen einer Infektion (vorzeitiger Blasensprung, vorzeitige Wehen, Zervixinsuffizienz und vorzeitige Muttermundseröffnung bspw. bei Zervizitis oder Chorioamnionitis)
- Plazentanomalien (z.B. Placenta praevia, Insertio velamentosa)
- Uterusanomalien (z.B. Uterusmyome, Müller-Gang-Anomalien)
- Bekannte Chromosomenstörungen sowie fetale Missbildungen
- Assistierte reproduktionsmedizinische Behandlungen in der Vorgeschichte
- Mehrlings-Schwangerschaften
- Alkohol-, Drogen- sowie Nikotinabusus

Bei allen Probandinnen sollte nur eine Schwangerschaftskomplikation beschrieben sein:

- Im Falle einer IUGR wurden möglichst alle Probandinnen ausgeschlossen, bei denen zusätzlich eine Präeklampsie dokumentiert war oder die eine Frühgeburt hatten, die nicht auf dem Boden anderer Ursachen als der IUGR selbst aufgetreten war.
- Im Falle einer Frühgeburt wurden möglichst alle Probandinnen ausgeschlossen, die gleichzeitig eine Präeklampsie oder eine IUGR aufwiesen.
- Im Falle einer Präeklampsie wurden möglichst alle Probandinnen ausgeschlossen, bei denen eine IUGR oder eine Frühgeburt auf dem Boden anderer Ursachen als der Präeklampsie selbst entstanden waren.

### 3.4 Genotypisierung

Für die Genotypisierung wurde den Studienteilnehmenden 10 ml Vollblut in EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure) als Antikoagulans abgenommen. Daraus erfolgte mittels Dichtegradienten-Zentrifugation die Isolation der Leukozyten, die als DNA-Quelle dienten. Die DNA wurde aus den Leukozyten mittels QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) gemäß Herstellerangaben extrahiert und bis zur Weiterverwendung in 100 µl Aliquot mit einer DNA-Konzentration von 100–200 ng/ µl bei 4 °C aufbewahrt. Zuvor fand die spektroskopische Bestimmung der DNA-Konzentration über ihre Absorption bei einer Wellenlänge von 260 nm statt. Die Qualität der DNA, d.h. der Grad der Verunreinigung durch Proteine oder bei der Extraktion verwendete Chemikalien, ließ sich anhand des Quotienten aus den Absorptionen bei 260 nm und 280 nm bestimmen, wobei ein Quotient von 1,8 als reine DNA galt.

Die gesamte Kernpromotorregion des ANXA5-Gens wurde mit spezifischen Polymerase-Kettenreaktion (PCR)-Primerpaaren amplifiziert. Dabei fand das unten dargestellte Primerpaar Verwendung (Abb. 4). Die amplifizierte Kernpromotorregion umfasste das erste nicht translatierte Exon sowie 270 Basenpaare (bp) der 5' Untranslated Region (UTR). Nach der PCR-Amplifikation erfolgte die direkte Sequenzierung der Amplifikate.

ANX5.P+ex1.F CCGAGCCCTGGACAGCTCCCCA ANX5.P+ex1.R GCCCCGCGACCACGCTCTCCTCT
---

**Abb. 4:** Primerpaar zur Amplifikation des ANXA5-Gens.

Quelle: Bogdanova et al. (2007).

Die PCR-Reaktionen wurden mithilfe des TProfessional Thermocycler (Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland) mit 100–200 ng genomischer DNA in einem Gesamtvolumen von 25 µl durchgeführt.

Das Reaktionsgemisch bestand in Anlehnung an Bogdanova et al. aus:

- 50 mM Tris Hydrochloride (Tris HCl), pH 9,5,
- 20 mM Ammoniumsulfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),
- mM Dithiothreitol (DTT), 0,005 % Nonidet P-40 (NP-40),
- 1,5 mM Magnesiumchlorid (MgCl<sub>2</sub>),
- 1 M Betain,
- 5 % Dimethylsulfoxid (DMSO),
- je 20 pM der forward and reverse Primer,
- 300 mM Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTP),
- 100–200 ng DNA,
- 1,25 U *Thermus aquaticus* (Taq)-Polymerase (Bogdanova et al. 2007).

Die PCR erfolgte mit folgenden Zyklusbedingungen: Die DNA wurde bei 94 °C für 45 s denaturiert, gefolgt von einem 30-s-Annealing bei 62 °C und einer Elongation des Amplifikationsprodukts bei 68 °C für 1 min. Die PCR umfasste 25 Zyklen.

Ein Aliquot der PCR-Produkte konnte mittels Agarosegel-Elektrophorese ((BioRad PowerPac 300) Life Technologies GmbH, Carlsbad, USA) visualisiert werden. Das dabei verwendete Agarosegel bestand aus 2 % Agarose in 89 mM Tris-Borat-EDTA-Puffer (TBE-Puffer) und Ethidiumbromid mit einer abschließenden Konzentration von 0,5 µg/ml. Die Elektrophorese wurde ebenfalls in TBE-Puffer bei einer Spannung von 250 V für ca. 30–45 min durchgeführt, mittels UV-Transilluminator bei einer Wellenlänge von 312 nm über ihre Ethidiumbromid-Fluoreszenz visualisiert und mit einer Kamera dokumentiert.

Anschließend fand die Reinigung der PCR-Produkte der Promotorregion mittels MultiScreen-PCRµ96-Platten (Millipore GmbH, Eschborn, Deutschland) gemäß den Anweisungen des Herstellers statt.

Die gereinigten PCR-Produkte wurden daraufhin direkt in diesen 96-Well-Platten unter Verwendung eines BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies GmbH, Carlsbad, USA) und mit Hilfe des TProfessional Thermocycler (Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland) sequenziert.

Der Reaktionsansatz enthielt:

- 2 µl gereinigtes PCR-Produkt,
- 10 pmol des Sequenzierprimers ANXA5P.SP Reverse (Sequenz: 5' – CCCC GGCTGCGACCA – 3'),
- 0,5 µl BigDye Dye Terminator Ready Reaction Mix,
- 5x 2 µl Sequenzierungspuffer,
- 2,5 µl deionisiertes Wasser.

Die Sequenzierungsreaktion wurde in 26 Zyklen mit folgenden Reaktionsbedingungen durchgeführt: Denaturierung für 10 s bei 94 °C, gefolgt von einer 5-s-Annealingphase bei 50 °C und einer 2-min-Elongation bei 60 °C. Anschließend erfuhr die Reaktion eine Abkühlung auf 14 °C. Die nicht inkorporierten Dye-Terminator-Nukleotide wurden mittels Filtrierung über MultiScreen-PCRµ96-Platten (Millipore GmbH, Eschborn, Deutschland) entfernt.

Die Analyse der Sequenzierungsreaktionen erfolgte mit einem ABI 3730 DNA Analyser (Abi Applied Biosystems GmbH, Weiterstadt, Deutschland). Es existieren 67 bekannte intragene SNPs, die unter Verwendung der TaqMan-Technologie (Abi Applied Biosystems GmbH, Weiterstadt, Deutschland) genotypisiert wurden (Bogdanova et al. 2007).

### 3.5 Statistik

Alle Berechnungen wurden mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics Version 26 (International Business Machines Corporation, Ehningen, Deutschland) durchgeführt.

Die errechneten Durchschnittswerte sind als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) angegeben. Ebenso sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (Min und Max) aufgeführt.

Für einfache Zahlenvergleiche kam der Chi-Quadrat-Test zur Anwendung.

Die Odds Ratio (OR)-Berechnungen wurden mittels einer Vierfeldertafel-Analyse durchgeführt.

Für die Korrelations-Analysen kam als nicht-parametrisches Verfahren die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (Spearman's  $\rho$ ) zum Einsatz.

Das Signifikanz-Niveau wurde in allen Fällen mit  $p < 0,05$  festgelegt (zweiseitig).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Alter und Herkunft

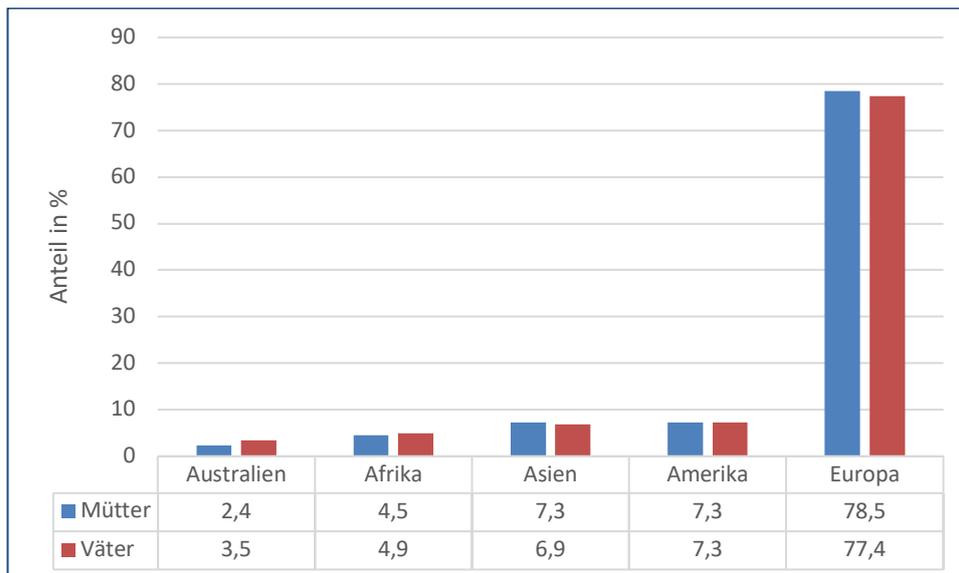
Insgesamt wurden die Daten von 288 Elternpaaren ausgewertet. Die Altersverteilung der weiblichen und männlichen ProbandInnen zeigt folgende Tabelle (Tab. 5).

**Tab. 5:** Altersverteilung des Studienkollektivs.

	n	Mittelwert (Jahre)	SD	Median (Jahre)	Minimum (Jahre)	Maximum (Jahre)
Mütter	288	28,8	6,0	29,0	18	40
Väter	288	31,0	6,1	30,0	18	49

SD = Standardabweichung.

78,5 % der Studienteilnehmerinnen und 77,4 % der männlichen Probanden waren europäischer Herkunft. Andere Kontinente spielten als Herkunft mit Anteilen von weniger als 10 % eine untergeordnete Rolle (Abb. 5).



**Abb. 5:** Prozentualer Anteil des Studienkollektivs in Abhängigkeit von der Herkunft.

Die Schwangerschaftskomplikationen waren im Studienkollektiv gleich verteilt. Es fanden sich jeweils 96 Fälle IUGR, Frühgeburtlichkeit bzw. Präeklampsie. Das mittlere Alter der Mütter und Väter in den drei Subgruppen entsprach dem Altersdurchschnitt des gesamten Studienkollektivs. Die größte Abweichung ergab sich für die IUGR-Gruppe, wobei die Mütter im Median zwei Jahre jünger waren als im gesamten maternalen Studienkollektiv (27,0 vs. 29,0 Jahre) (Tab. 6).

**Tab. 6:** Altersverteilung des Studienkollektivs gesamt sowie in Abhängigkeit von den Subgruppen.

Komplikation	n	Alter Mütter (Jahre)		Alter Väter (Jahre)	
		MW±SD	Median	MW±SD	Median
IUGR	96	28,0 ± 5,6	27,0	30,4 ± 5,5	29,0
Frühgeburt	96	29,2 ± 6,3	29,0	31,2 ± 6,6	31,0
Präeklampsie	96	29,2 ± 6,0	29,0	31,6 ± 6,0	30,5
Gesamt	288	28,8 ± 6,0	29,0	31,0 ± 6,1	30,0

MW±SD = Mittelwert und Standardabweichung; IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

In der folgenden Tabelle ist die Häufigkeit der Herkunft der Probandinnen abhängig von den Subgruppen IUGR, Frühgeburtlichkeit und Präeklampsie dargestellt (Tab. 7).

**Tab. 7:** Häufigkeit der Herkunft des maternalen Studienkollektivs in Abhängigkeit von den Subgruppen.

Herkunft	IUGR		Frühgeburt		Präeklampsie	
	n	%	n	%	n	%
Europa	80	35,4	73	32,3	73	32,3
Amerika	6	28,6	8	38,1	7	33,3
Asien	5	23,8	8	38,1	8	38,1
Afrika	4	30,8	5	38,5	4	30,8
Australien	1	14,3	2	28,6	4	57,1
Gesamt	96	33,3	96	33,3	96	33,3

IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

Im Hinblick auf die paternale Herkunft ergab sich, verglichen mit der maternalen, eine ähnliche Verteilung in den Subgruppen (Tab. 8).

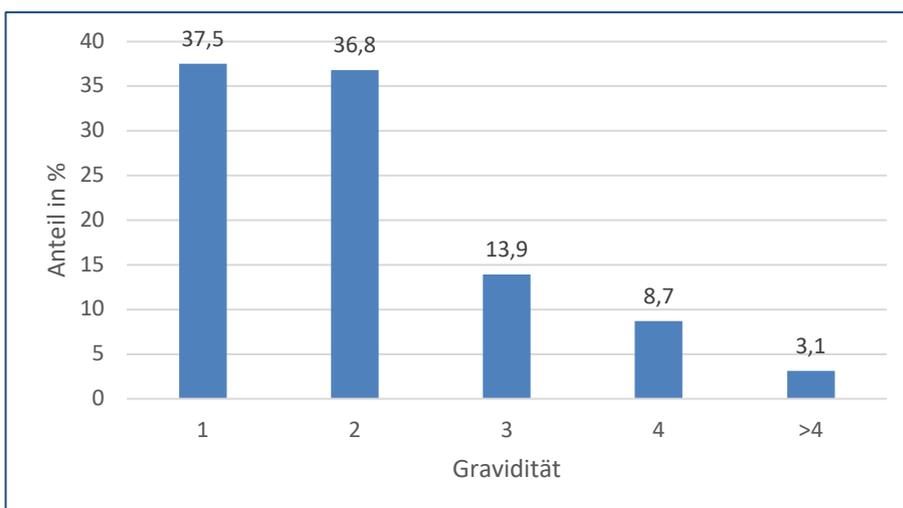
**Tab. 8:** Häufigkeit der Herkunft des paternalen Studienkollektivs in Abhängigkeit von den Subgruppen.

Herkunft	IUGR		Frühgeburt		Präeklampsie	
	n	%	n	%	n	%
Europa	82	36,8	70	31,4	71	31,8
Amerika	4	19,0	7	33,3	10	47,6
Asien	4	20,0	10	50,0	6	30,0
Afrika	5	35,7	5	35,7	4	28,6
Australien	1	10,0	4	40,0	5	50,0
Gesamt	96	33,3	96	33,3	96	33,3

IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

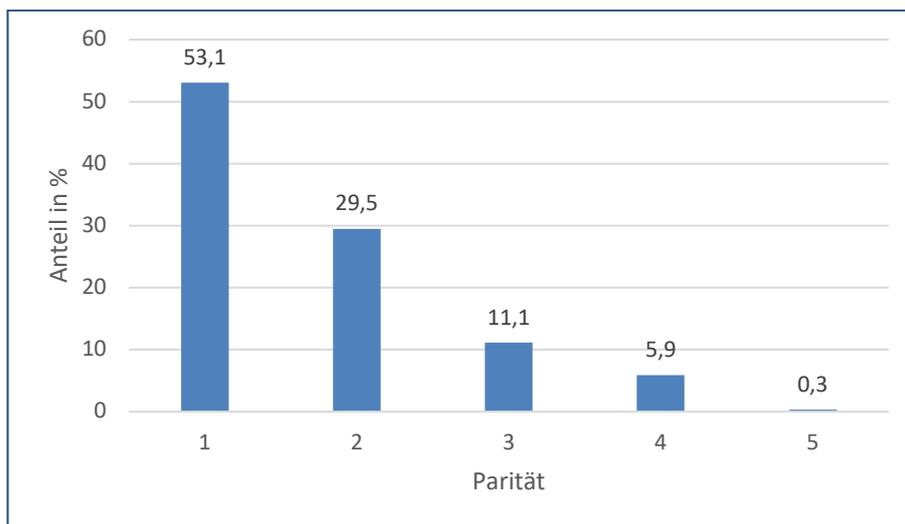
## 4.2 Schwangerschaftsanamnese

Die durchschnittliche Anzahl der vorausgegangenen Schwangerschaften (Gravidität) des Studienkollektivs lag bei  $2,0 \pm 1,1$  (Median: 2,0 [Min: 1; Max: 6]). In 37,5 % der Fälle handelte es sich um die erste Schwangerschaft; in 36,8 % der Fälle um die zweite Schwangerschaft. Graviditäten > 2 lagen bei 25,7 % vor (Abb. 6).



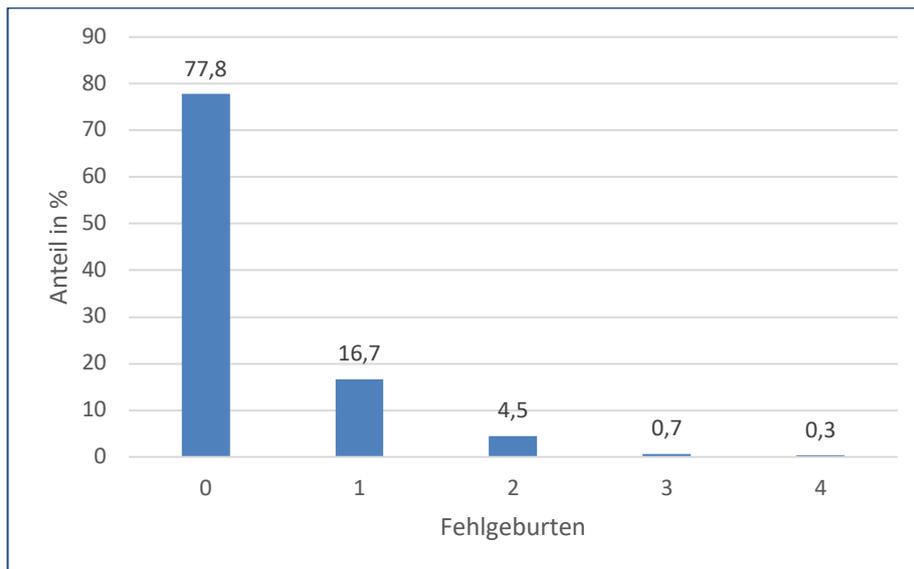
**Abb. 6:** Prozentualer Anteil des Studienkollektivs in Abhängigkeit von der Anzahl der bisherigen Schwangerschaften.

Die durchschnittliche Parität lag bei  $1,7 \pm 0,9$  (Median: 1,0 [Min: 1; Max: 5]). 53,1 % der Probandinnen waren Primiparae und 29,5 % hatten zwei Kinder geboren. Parität > 2 fand sich bei 17,3 % des Studienkollektivs (Abb. 7).



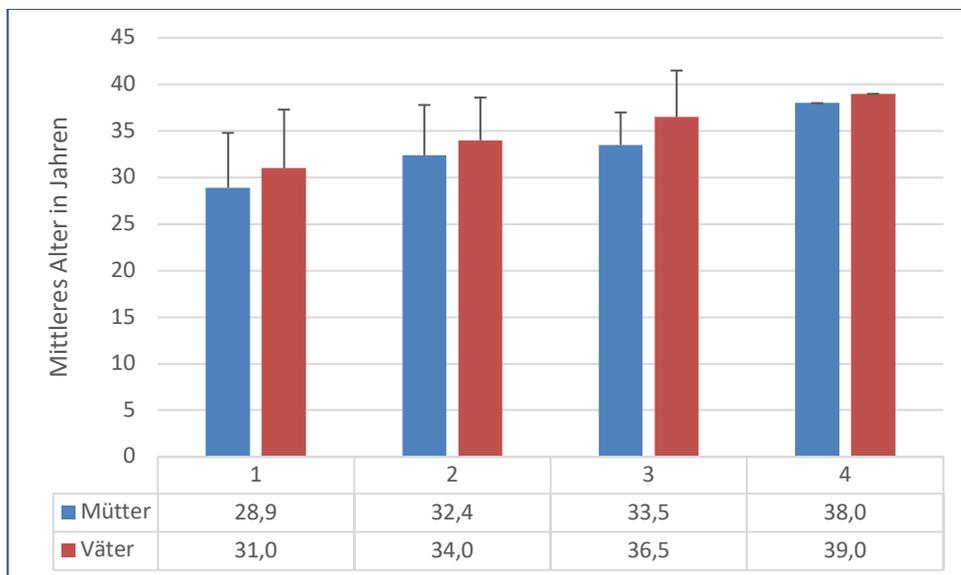
**Abb. 7:** Prozentualer Anteil des Studienkollektivs in Abhängigkeit von der Anzahl der bisherigen Geburten ab 20. SSW.

Die durchschnittliche Zahl der vorausgegangenen Fehlgeburten im Studienkollektiv lag bei  $0,3 \pm 0,6$  (Median: 0,0 [Min: 0; Max: 4]). Insgesamt wurde bei 22,2 % der Probandinnen mindestens eine Fehlgeburt registriert. Es handelte sich hierbei meist um eine oder zwei (16,7 bzw. 4,5 % des Studienkollektivs) Fehlgeburten (Abb. 8).



**Abb. 8:** Prozentualer Anteil der Probandinnen in Abhängigkeit von der Anzahl der stattgehabten Fehlgeburten.

Die Zahl der vorausgegangenen Fehlgeburten wies eine Korrelation von  $\rho: 0,30$  ( $p = 0,015$ ) mit dem Alter der Mütter auf. Väterlicherseits lag ein ähnliches Resultat vor (Spearman's  $\rho: 0,29$ ;  $p = 0,020$ ). Der Zusammenhang ist in Abb. 9 dargestellt. Während das durchschnittliche Alter der Mütter im Falle einer Fehlgeburt bei  $28,9 \pm 5,9$  (Median: 28,5 [Min: 19; Max: 40]) Jahren lag, erhöhte sich das Alter bei zwei Fehlgeburten auf  $32,4 \pm 5,4$  (Median: 33 [Min: 20; Max: 39]) Jahre. Bei den männlichen Probanden konnte eine ähnliche Verteilung festgestellt werden. Die Gruppen mit drei und vier Fehlgeburten waren aufgrund der geringen Fallzahl nicht aussagekräftig (Abb. 9).



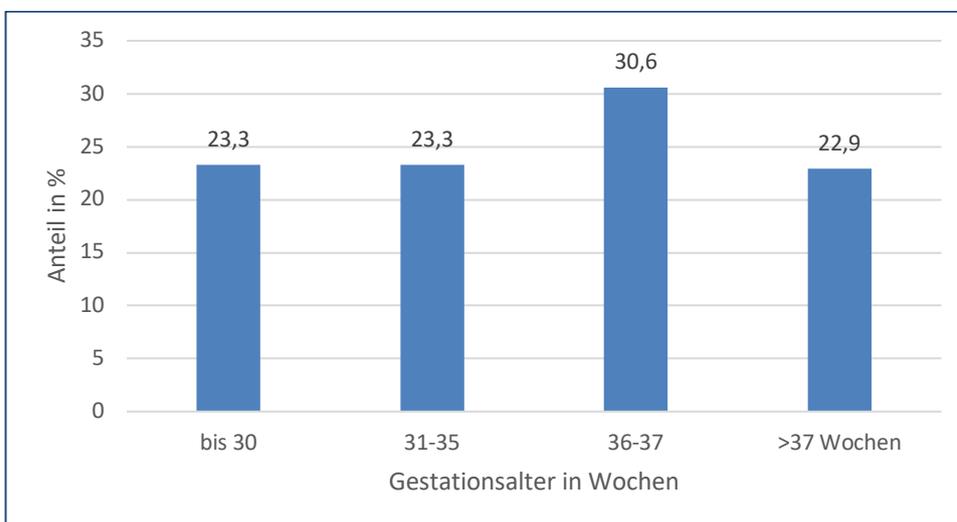
**Abb. 9:** Mittleres Alter des Studienkollektivs in Abhängigkeit von der Fehlgeburten-Anzahl.

1 Fehlgeburt:  $n = 48$ ; 2 Fehlgeburten:  $n = 13$ ; 3 Fehlgeburten:  $n = 2$ ; 4 Fehlgeburten:  $n = 1$ .

### 4.3 Kinder

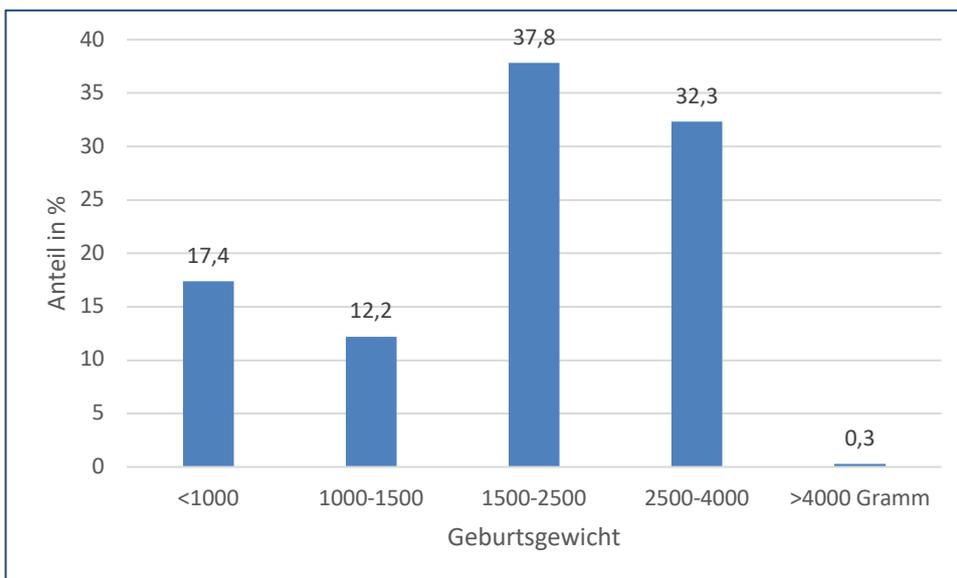
Bei den Neugeborenen handelte es sich um 144 weibliche und 144 männliche Kinder mit mittlerem Gestationsalter von  $34,1 \pm 4,7$  Wochen (Median: 36,0 Wochen [Min: 24; Max: 41]).

In Abb. 10 ist der prozentuale Anteil der Kinder, abhängig vom Gestationsalter in Wochen, illustriert. In 22,9 % der Fälle lag mit einer Dauer von mehr als 37 Wochen ein normales Gestationsalter vor (Abb. 10).



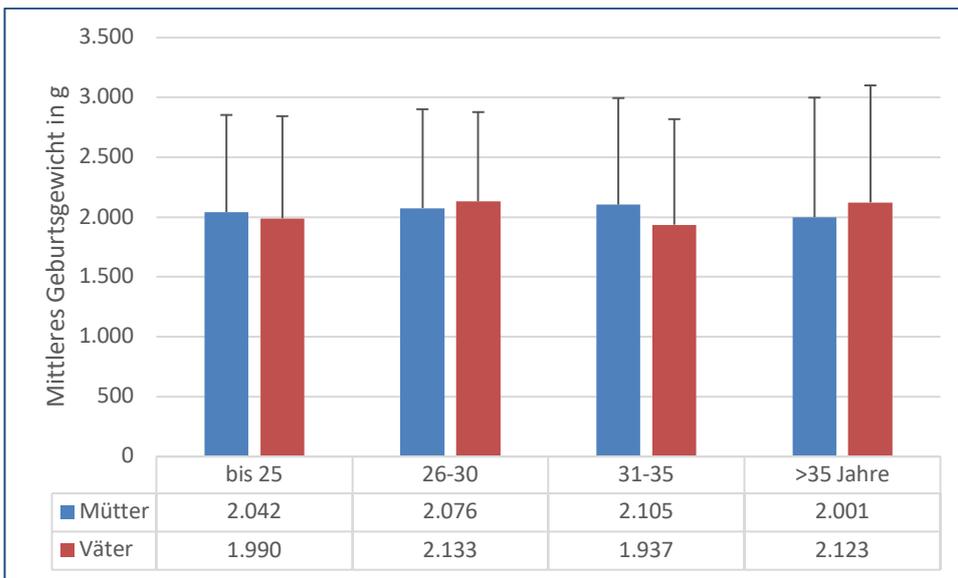
**Abb. 10:** Prozentualer Anteil der Kinder des Studienkollektivs in Abhängigkeit vom Gestationsalter in Wochen.

Das mittlere Geburtsgewicht lag bei  $2.058 \pm 864$  Gramm (Median: 2.096 g [Min: 576; Max: 4.489]). 67,4 % der Kinder wiesen ein zu geringes Gewicht von  $< 2.500$  Gramm auf, wobei für 36,1 % der Kinder nicht mehr als die 10. Perzentile dokumentiert war (Abb. 11).



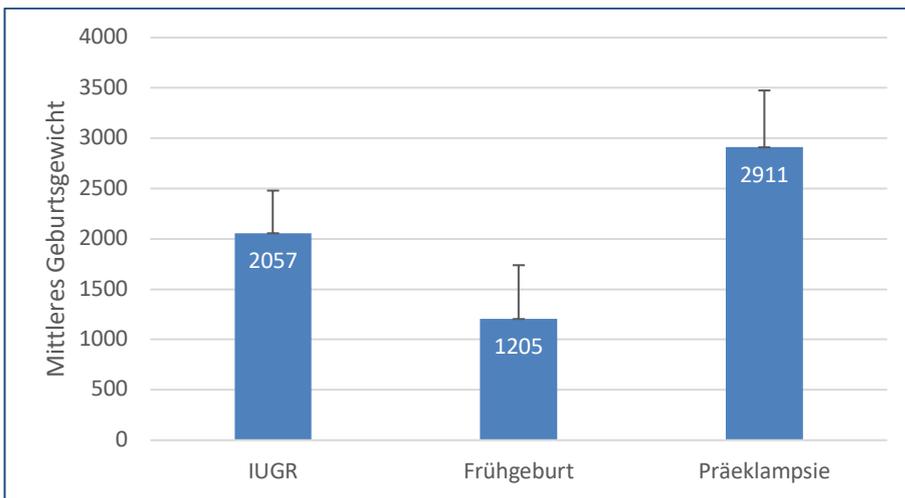
**Abb. 11:** Prozentualer Anteil der Kinder des Studienkollektivs in Abhängigkeit vom Geburtsgewicht.

Das Geburtsgewicht der Kinder wies keine signifikante Korrelation mit dem Alter des Studienkollektivs auf (Mütter: Spearman's  $\rho$ : -0,02;  $p = 0,721$ ; Väter: Spearman's  $\rho$ : 0,02;  $p = 0,735$  (Abb. 12).



**Abb. 12:** Mittleres Geburtsgewicht der Kinder des Studienkollektivs in Abhängigkeit vom Alter ihrer Eltern.

In der folgenden Abb. ist das mittlere Geburtsgewicht der Kinder, abhängig von der Schwangerschaftskomplikation, dargestellt. Die Legende beinhaltet u.a. auch die jeweiligen Perzentilen (Abb. 13).



**Abb. 13:** Mittleres Geburtsgewicht der Kinder des Studienkollektivs in Abhängigkeit von den Schwangerschaftskomplikationen IUGR, Frühgeburtlichkeit und Präeklampsie.

IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

Frühgeburtlichkeit: Geburtsgewicht  $1.205 \pm 534$  g [Min: 576; Max: 2.510], 84,4 % 11.-50. Perzentile u. 15,6 % 51.-90. Perzentile; IUGR:  $2.057 \pm 423$  g [Min: 927; Max: 2.789 g], 100 %  $\leq$  5. Perzentile; Präeklampsie:  $2.911 \pm 654$  g [Min: 1.193; Max: 4.489 g], 8,3 %  $\leq$  10. Perzentile, 59,4 % 11.-50. Perzentile, 30,2 % 51.-90. Perzentile, 2,1 % > 90. Perzentile.

#### 4.4 Genotypen des Annexin A5-Gens

Bei 66,0 % der Mütter und 65,3 % der Väter lag der ANXA5-Wildtyp (N/N) vor. Der M1-Haplotyp (M1/M1 oder N/M1) fand sich bei 7,9 % der Mütter und 13,2 % der Väter. Der M2-Haplotyp (M2/M2 oder N/M2) lag bei 25,7 % der Mütter und 20,5 % der Väter vor. Mütterlicherseits konnte in einem Fall der Genotyp M1/M2, der folgend auch als M2-Haplotyp beschrieben wird, festgestellt werden. Väterlicherseits trat diese Kombination in drei Fällen auf. Insgesamt lag folglich bei 26,0 % der Mütter und 21,5 % der Väter ein M2-Haplotyp vor (Tab. 9).

**Tab. 9:** Verteilung der Annexin A5-Genotypen in Abhängigkeit vom Geschlecht des Studienkollektivs.

Genotyp	Mütter		Väter	
	n	%	n	%
N/N (Wildtyp)	190	66,0	188	65,3
N/M1	22	7,6	35	12,2
M1/M1	1	0,3	3	1,0
N/M2	71	24,7	57	19,8
M2/M2	3	1,0	2	0,7
M1/M2	1	0,3	3	1,0
Gesamt	288	100	288	100

Wildtyp = Genotyp N/N; M1-Haplotyp = Genotyp N/M1 oder M1/M1; M2-Haplotyp = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.

Beim Vergleich mit den zwei Kontrollgruppen PopGen KG und Münchner KG zeigte sich, dass die Frauen des Studienkollektivs mit den untersuchten Schwangerschaftskomplikationen den M2-Haplotyp häufiger aufweisen (25,0 bis 27,1 % vs. 14,6 bis 15,4 %) (Tab. 10).

**Tab. 10:** Häufigkeit der Annexin A5-Genotypen in den Subgruppen des Studienkollektivs (maternal), verglichen mit den Kontrollgruppen PopGen KG\* und Münchner KG\*\*.

<u>Mütter</u>	IUGR		Frühgeburt		Präeklampsie		PopGen KG*		Münchner KG**	
	Genotyp	n	%	n	%	n	%	n	%	n
N/N	62	64,6	65	67,7	63	65,6	415	77,9	61	68,5
M1	10	10,4	6	6,3	7	7,3	36	6,8	15	16,9
M2	24	<b>25,0</b>	25	<b>26,0</b>	26	<b>27,1</b>	82	<b>15,4</b>	13	<b>14,6</b>

N/N = Wildtyp; M1 = Genotyp N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.

KG = Kontrollgruppe; \*beide Geschlechter; \*\*nur Frauen; IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

Die paternalen Daten ergaben ein ähnliches Ergebnis, wobei der M2-Haplotyp paternal gehäuft nur für die IUGR und Frühgeburtlichkeit, nicht aber für die Präeklampsie registriert wurde (Tab. 11).

**Tab. 11:** Häufigkeit der Annexin A5-Genotypen in den Subgruppen des Studienkollektivs (paternal), verglichen mit den Kontrollgruppen PopGen KG\* und Münchner KG\*\*.

<u>Väter</u>	IUGR		Frühgeburt		Präeklampsie		PopGen KG*		Münchner KG**	
	Genotyp	n	%	n	%	n	%	n	%	n
N/N	57	59,4	65	67,7	66	68,8	415	77,9	61	68,5
M1	18	18,8	7	7,3	13	13,5	36	6,8	15	16,9
M2	21	<b>21,9</b>	24	<b>25,0</b>	17	<b>17,7</b>	82	<b>15,4</b>	13	<b>14,6</b>

N/N = Wildtyp; M1 = Genotyp N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.

KG = Kontrollgruppe; \*beide Geschlechter; \*\*nur Frauen; IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

Um die Risikoerhöhung des Studienkollektivs für die M2-Trägerschaft evaluieren zu können, wurden die Ergebnisse der ProbandInnen mit den zwei Kontrollgruppen PopGen KG und Münchner KG verglichen. Hierbei ergab sich eine Risikoerhöhung für die untersuchten Schwangerschaftskomplikationen:

M2-Trägerinnen des Studienkollektivs wiesen im Hinblick auf IUGR, Frühgeburtlichkeit und Präeklampsie im Vergleich mit der PopGen KG eine Odds Ratio (OR) von 1,9 auf ( $p < 0,001$ ). In der Gruppe der Väter mit M2-Haplotyp betrug die OR 1,5 ( $p = 0,034$ ) (Tab. 12).

**Tab. 12:** ORs für M2-Trägerschaft der Mütter und Väter des gesamten Studienkollektivs im Vergleich mit der PopGen KG\* (n = 82 von 533).

	Odds Ratio	95 % CI	p-Wert
<u>Mütter</u> n = 75 von 288	1,9	1,3-2,8	< 0,001
<u>Väter</u> n = 62 von 288	1,5	1,0-2,2	0,034
Gesamt n = 137 von 576	1,7	1,3-2,4	< 0,001

OR = Odds-Ratio; CI = Konfidenzintervall; KG = Kontrollgruppe; \*beide Geschlechter.

Analog sind in Tab. 13 die ORs im Hinblick auf die M2-Trägerschaft bei Vorliegen einer der untersuchten Schwangerschaftskomplikationen IUGR, Frühgeburtlichkeit und Präeklampsie im Vergleich mit der PopGen KG sowie der Münchner KG dargestellt (Tab. 13).

**Tab. 13:** ORs für M2-Trägerschaft der Mütter und Väter in den Subgruppen des Studienkollektivs im Vergleich mit der PopGen KG\* und der Münchner KG\*\*.

	Mütter vs. PopGen KG* (n = 82 von 533)		Mütter vs. Münchner KG** (n = 13 von 89)		Väter vs. PopGen KG* (n = 82 von 533)		Gesamt (n = 137 von 576) vs. PopGen KG* (n = 82 von 533)	
	OR (95 % CI)	p-Wert	OR (95 % CI)	p-Wert	OR (95 % CI)	p-Wert	OR (95 % CI)	p-Wert
IUGR	1,8 (1,1-3,2)	0,020	2,0 (0,9-4,4)	0,077	1,5 (0,9-2,7)	0,113	1,7 (1,1-2,6)	0,011
Frühgeburt	1,9 (1,1-3,3)	0,010	2,1 (0,9-4,6)	0,054	1,9 (1,1-3,2)	0,018	1,9 (1,2-2,9)	0,001
Präeklampsie	2,0 (1,2-3,5)	0,008	2,2 (1,0-4,9)	0,057	1,2 (0,6-2,2)	0,565	1,6 (1,0-2,5)	0,027

Mütter: Probandinnen des Studienkollektivs mit M2-Haplotyp n = 75 von 288 (IUGR: n = 24, Frühgeburt: n = 25, Prä-eklampsie n = 26);  
 Väter: Probanden des Studienkollektivs mit M2-Haplotyp n = 62 von 288 (IUGR: n = 21, Frühgeburt: n = 24, Präeklampsie n = 17).

OR = Odds-Ratio; CI = Konfidenzintervall; KG = Kontrollgruppe; \*beide Geschlechter; \*\*nur Frauen; IUGR = Intrauterine Wachstumsrestriktion.

Bei 61,3 % der Mütter mit M2-Trägerschaft wurde mindestens eine Fehlgeburt in der Vorgeschichte beobachtet. Die Ergebnisse sind erwartungsgemäß signifikant häufiger als bei den Frauen mit Wildtyp oder M1-Haplotyp, von denen 8,5 % eine Fehlgeburt hatten (Tab. 14).

**Tab. 14:** Häufigkeit der maternalen Annexin A5-Genotypen in Abhängigkeit von der Fehlgeburten-Anzahl.

<u>Mütter</u>	keine Fehlgeburt		1 Fehlgeburt		> 1 Fehlgeburt		Gesamt	
	n	%	n	%	n	%	n	%
N o. M1	195	91,5	14	6,6	4	1,9	213	100
M2	29	38,7	34	45,3	12	16,0	75	100

N oder M1 = Genotyp N/N, N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.  
 p < 0,001 (Chi-Quadrat-Test) in Bezug auf N oder M1 vs. M2.

Bei den Männern war der M2-Haplotyp hier nicht mit einer erhöhten Fehlgeburten-Rate ihrer Partnerinnen assoziiert (Tab. 15).

**Tab. 15:** Häufigkeit der paternalen Annexin A5-Genotypen in Abhängigkeit von der Fehlgeburten-Anzahl der Partnerinnen.

<u>Väter</u>	keine Fehlgeburt		1 Fehlgeburt		> 1 Fehlgeburt		Gesamt	
	n	%	n	%	n	%	n	%
N o. M1	174	77,0	39	17,3	13	5,8	226	100
M2	50	80,6	9	14,5	3	4,8	62	100

N oder M1 = Genotyp N/N, N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.  
 p = 0,829 (Chi-Quadrat-Test) in Bezug auf N oder M1 vs. M2.

Ein Einfluss der M2-Trägerschaft auf das Geburtsgewicht der Kinder des gesamten Studienkollektivs, unabhängig von den Subgruppen, war nicht erkennbar (Tab. 16 und Tab. 17).

**Tab. 16** Häufigkeit der maternalen Annexin A5-Genotypen in Abhängigkeit vom Geburtsgewicht der Kinder des Studienkollektivs.

<b>Mütter</b>	<b>extrem/sehr gering (bis 1.500 g)</b>		<b>gering (1.500-2.500 g)</b>		<b>normal (&gt; 2.500 g)</b>		<b>Gesamt</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
N o. M1	63	29,6	82	38,5	68	31,9	213	100
M2	22	29,7	27	36,5	25	33,8	74	100

N oder M1 = Genotyp N/N, N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.  
 p = 0,943 (Chi-Quadrat-Test) in Bezug auf N oder M1 vs. M2.

**Tab. 17:** Häufigkeit der paternalen Annexin A5-Genotypen in Abhängigkeit vom Geburtsgewicht der Kinder des Studienkollektivs.

<b>Väter</b>	<b>extrem/sehr gering (bis 1.500 g)</b>		<b>gering (1.500-2.500 g)</b>		<b>normal (&gt; 2.500 g)</b>		<b>Gesamt</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
N o. M1	63	28,0	86	38,2	76	33,8	225	100
M2	22	35,5	23	37,1	17	27,4	62	100

N oder M1 = Genotyp N/N, N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.  
 p = 0,463 (Chi-Quadrat-Test) in Bezug auf N oder M1 vs. M2.

Auch im Hinblick auf das Gestationsalter konnte, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, kein signifikanter Zusammenhang mit dem M2/ANXA5-Haplotyp aufgezeigt werden. Tendenziell wurde ein zu frühes Gestationsalter häufiger bei TrägerInnen des Wildtyps oder des M1-Haplotyps beobachtet als bei TrägerInnen des M2-Haplotyps (Tab. 18 und Tab. 19)

**Tab. 18:** Häufigkeit der maternalen Annexin A5-Genotypen in Abhängigkeit vom Gestationsalter der Kinder des Studienkollektivs.

<u>Mütter</u> Genotyp	bis 30 Wochen		31-35 Wochen		36-37 Wochen		> 37 Wochen	
	n	%	n	%	n	%	n	%
N o. M1	49	23,0	52	24,4	70	32,9	42	19,7
M2	18	24,0	15	20,0	18	24,0	24	32,0

N oder M1 = Genotyp N/N, N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.  
 p = 0,135 (Chi-Quadrat-Test) in Bezug auf N oder M1 vs. M2.

**Tab. 19:** Häufigkeit der paternalen Annexin A5-Genotypen in Abhängigkeit vom Gestationsalter der Kinder des Studienkollektivs.

<u>Väter</u> Genotyp	bis 30 Wochen		31-35 Wochen		36-37 Wochen		> 37 Wochen	
	n	%	n	%	n	%	n	%
N o. M1	50	22,1	50	22,1	69	30,5	57	25,2
M2	17	27,4	17	27,4	19	30,6	9	14,5

N oder M1 = Genotyp N/N, N/M1 oder M1/M1; M2 = Genotyp N/M2, M2/M2 oder M1/M2.  
 p = 0,307 (Chi-Quadrat-Test) in Bezug auf N oder M1 vs. M2.

## 5 Diskussion

### 5.1 Allgemeiner Hintergrund

Die Schwangerschaft stellt eine Phase mit verstärkter Gerinnungsaktivität bzw. Thrombophilie dar (Heit et al. 2005; Bates 2019). Während der Schwangerschaft ist die Hämostase zugunsten der Gerinnungsneigung verschoben. So ist das Risiko für tiefe Beinvenenthrombosen bei schwangeren Frauen etwa sechsfach höher als bei nicht schwangeren Frauen gleichen Alters (Melis et al. 2004). Gemäß einer epidemiologischen Studie aus Kanada sind etwa zwölf von 10.000 Schwangerschaften betroffen (Liu et al. 2009).

Liegt neben der physiologischen Umstellung zusätzlich eine hereditäre thrombophile Störung vor, ist das Risiko für thromboembolische Komplikationen deutlich erhöht. Thromboembolien treten dann mit einer Häufigkeit von etwa 40 bis 100 pro 10.000 Schwangerschaften auf (Bates 2019). Es ist davon auszugehen, dass das Thromboembolie-Risiko im Mittel etwa zehnmal höher ist als bei Schwangerschaften ohne diese Prädisposition, wobei die Form der Thrombophilie eine maßgebliche Rolle spielt (Croles et al. 2017).

Von besonderer Relevanz ist im Hinblick auf die vorliegende Studie, dass in diesen Fällen auch mit einer höheren Rate an Schwangerschaftskomplikationen, wie zum Beispiel häufigeren Fehlgeburten, zu rechnen ist (Bates 2019; Freed und Bauer 2019). Pathophysiologisch ist dies durch Störungen der utero-plazentaren Blutzirkulation bedingt. Für einen erfolgreichen Schwangerschaftsverlauf mit physiologischer Blutzirkulation scheint eine adäquate Trophoblasteninvasion in den mütterlichen Uterus Voraussetzung zu sein. Ist dieser Prozess gestört, sind Komplikationen wie Fehlgeburten, Frühgeburten, Präeklampsien und IUGRs die Folge (Rai und Regan 2006; Brenner und Aharon 2007).

Das antithrombotisch wirksame Protein Annexin A5 (ANXA5) hat in diesem Zusammenhang während der Schwangerschaft eine wichtige gerinnungsmodulierende Wirkung. Liegt der M2/ANXA5-Haplotyp vor, führt dies vermutlich zu einer verminderten ANXA5-Expression. Folglich steigt die thrombotische Aktivität im intervillösen Raum der Plazenta (Chinni et al. 2009).

Im Rahmen dieser Studie wurden die Daten von 288 Elternpaaren ausgewertet, um den Einfluss des M2/ANXA5-Haplotyps auf die Entwicklung der Schwangerschaftskomplikationen Präeklampsie, IUGR und Frühgeburtlichkeit zu untersuchen. Von besonderem Interesse war hier die M2-Trägerschaft der Väter.

## 5.2 Präeklampsie

Unsere Ergebnisse zeigten in der Präeklampsie-Gruppe eine maternale M2-Trägerschaft von 27,1 %. In den beiden Kontrollgruppen war jener Anteil mit ca. 15 % nur etwa halb so hoch. Die Daten bestätigten Befunde von Tiscia et al., die bei 27,5 % der Frauen mit Präeklampsie einen M2-Haplotyp nachweisen konnten, verglichen mit einem Anteil von 15 % in der Kontrollgruppe (Tiscia et al. 2009). Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Aranda et al., wobei sich in der Präeklampsie-Gruppe ein M2-Haplotyp-Anteil von 34,1 % ergeben hatte, versus 17 % bei der Kontrolle (Aranda et al. 2018). Außerdem zeigte sich in einer kleineren Studie mit 17 Präeklampsie-Patientinnen, dass eine negative Korrelation zwischen dem Gestose-Index (GI) und der ANXA5-Konzentration im Gewebe vorlag. Ein hoher GI war mit einer verminderten Konzentration des Proteins verbunden. Mikroskopisch und immunhistologisch konnten im intervillösen Raum der Plazenta diffuse Fibrinablagerungen nachgewiesen werden, die sich bei gesunden Schwangeren nicht fanden ( $r = -0,81$ ;  $p < 0,001$ ) (Shu et al. 2000). In diesem Zusammenhang wurde zwischenzeitlich demonstriert, dass die Verminderung der ANXA5-Konzentration durch eine verminderte Syntheseleistung und nicht durch einen erhöhten Verbrauch verursacht ist (Tiscia et al. 2009).

In Ergänzung zu diesen Studien konnte festgestellt werden, dass der M2-Haplotyp im Falle einer Präeklampsie in der Plazenta mehr als doppelt so oft nachzuweisen ist wie bei Kontrollen (25,5 vs. 10,0 %). Im Blut hingegen war dieser Unterschied nur marginal (13,0 vs. 11,3 %) (Ota et al. 2013). Dies veranlasste die Autoren zu der Hypothese, dass der M2-Haplotyp im Plazentagewebe vom Embryo stammt, zumindest aber nicht allein von der Mutter. Demzufolge rückte auch der Einfluss der paternalen M2/ANXA5-Trägerschaft in den Fokus.

Bereits vor mehr als 20 Jahren wurde in einer großen epidemiologischen Studie aus Norwegen postuliert, dass neben der maternalen auch die paternale Genetik für das Präeklampsie-Risiko der Partnerin von Relevanz ist. Das Risiko wurde mit 1,9 (OR) angegeben (Lie et al. 1998). Demgegenüber stehen Studienergebnisse, die den fehlenden fetalen Einfluss vererbter Thrombophilien auf das Präeklampsie-Risiko der Mütter belegen (Vefring et al. 2004). Dekker et al. hingegen vermutete, dass das paternale Genom bei der Entwicklung der Plazenta eine größere Rolle spielt als das maternale (Dekker et al. 2011).

In unserer Analyse der Präeklampsie-Gruppe paternal fand sich nur in 17,7 % der Fälle ein M2-Haplotyp, was gegenüber der Verteilung in der normalen Bevölkerung keine signifikante Abweichung darstellt, wenn davon ausgegangen wird, dass der M2-Haplotyp-Anteil in der Normalbevölkerung bei Männern und Frauen gleich ist. Die maternale M2-Trägerschaft ergab demgegenüber ein zweifach erhöhtes Präeklampsie-Risiko (OR 2,0; 95 % CI 1,2-3,5;  $p = 0,008$ ).

Unsere eigenen Daten zeigten keine paternale Assoziation auf. Vorbehaltlich der relativ kleinen Stichprobe ( $n = 96$ ) ist eine mögliche Erklärung, dass bei der Präeklampsie eher der maternale als der fetale M2-Haplotyp die maßgebliche Rolle spielt. Dieser Unterschied zu den anderen Schwangerschaftskomplikationen ist weiterhin eingehend zu beleuchten.

### **5.3 IUGR (Intrauterine Wachstumsrestriktion)**

Vor über 20 Jahren konnten schon Hinweise auf die fruchtschädigende und wachstumshemmende Wirkung eines ANXA5-Mangels im Tiermodell (Mausstudie) demonstriert werden. Es zeigte sich, dass die Applikation von ANXA5-Antikörpern eine erfolgreiche Schwangerschaft verhindert, wobei schwere Thrombosen, Nekrosen und schließlich der Verlust der Schwangerschaft beobachtet wurden (Wang et al. 1999).

In Rahmen der vorliegenden Arbeit ergab sich in der IUGR-Gruppe für beide Geschlechter ein etwa doppelt so hoher Anteil des M2-Haplotyps im Vergleich zu den Kontrollgruppen

PopGen KG und Münchner KG. Somit konnten wir erstmalig darlegen, dass auch der paternale M2-Haplotyp mit einem erhöhten IUGR-Risiko verbunden ist.

In der Literatur fanden sich wegweisend ähnliche Ergebnisse: In einer Studie aus Italien wurden 78 Frauen mit SGA-Kindern (Small for Gestational Age) und 195 Kontrollen untersucht. Der M2-Haplotyp war mit einem zwei- bis dreifach erhöhtem Risiko für ein zu geringes Geburtsgewicht verbunden (Tiscia et al. 2012). Aranda et al. (2018) bestätigten in ihrer Arbeit diese Befunde. Ebenso wurde bereits gezeigt, dass die ANXA5-mRNA-Konzentration im Falle einer IUGR gegenüber Kontrollen deutlich reduziert ist. Interessanterweise konnte kein signifikanter Unterschied bei der ANXA5-Proteinkonzentration im Plasma festgestellt werden (Sifakis et al. 2010). Dies legte den Verdacht nahe, dass nicht allein die Konzentration des Proteins für die Schwangerschaftskomplikationen verantwortlich ist. Sifakis et al. (2010) postulierten wahrscheinliche Ursachen für die geringen mRNA-Konzentrationen, bei weitgehend normalen ANXA5-Protein-Spiegeln. Es könnte davon ausgegangen werden, dass hierfür entweder eine gesteigerte Apoptose verantwortlich ist oder dass bei IUGR-Schwangerschaften ein Ausgleich der verminderten Proteinkonzentration über ANXA5-Quellen außerhalb der Plazenta stattfindet.

Die Rolle von ANXA5 ist in diesem komplexen multifaktoriellen System zukünftig genauer zu klären.

## **5.4 Frühgeburtlichkeit**

Der Aspekt der Frühgeburtlichkeit wurde im Hinblick auf genetische Störungen im Sinne von Thrombophilien in der Literatur bisher kaum berücksichtigt. In einer aktuelleren Übersichtsarbeit finden sich Hinweise, dass hereditäre Thrombophilien mit Frühgeburten assoziiert sein könnten (Trasca et al. 2019).

In der hier vorliegenden Untersuchung wurde gezeigt, dass genetische Einflüsse eine Rolle hinsichtlich der Frühgeburtlichkeit spielen. Bei Betrachtung des gesamten Studienkollektivs ergab die M2-Haplotyp-Trägerschaft, in Übereinstimmung mit der Auswahl der Stichprobe, erwartungsgemäß keinen signifikanten Einfluss auf das Gestationsalter. Eine

spezifischere Betrachtung der Subgruppe Frühgeburtlichkeit belegte, dass 26 % der Frauen und 25 % der männlichen Partner einen M2-Haplotyp aufweisen. Somit zeigte sich für diese Gruppe eine deutliche Erhöhung des Frühgeburts-Risikos.

Hinweise darauf, dass auch paternale Faktoren eine Rolle spielen, konnten anhand einer kürzlich publizierten Datenanalyse von ca. 785.000 Geburten erbracht werden. Es fiel auf, dass paternale Komorbiditäten mit einem erhöhten Risiko einhergehen. Die Frühgeburts-Rate war bei Vorliegen eines metabolischen Syndroms des Vaters um 19 % erhöht; außerdem wiesen 23 % der Kinder ein zu geringes Geburtsgewicht auf, was auf fetale Wachstumsstörungen schließen lässt (Kasman et al. 2020).

Demzufolge wurde vermutet, dass epigenetische Veränderungen des paternalen Erbguts für das erhöhte Risiko von Schwangerschaftskomplikationen verantwortlich sind (Murugappan et al. 2021). Ähnliche Annahmen waren auch von anderen Autoren bestätigt worden (Ibrahim und Hotaling 2018).

Perspektivisch gilt es die genetischen Abweichungen im Zusammenhang mit der Entstehung von Frühgeburtlichkeit genauer zu differenzieren.

### **5.5 Schlussfolgerungen und Ausblick**

Für einen unkomplizierten Schwangerschaftsverlauf ist eine funktionierende Blutzirkulation mit koordinierter embryonal-endometrialer Interaktion sowie Kommunikation unabdingbar. Pathophysiologisch können bei Abweichung Fehlgeburten, Frühgeburten, IUGRs und Präeklampsien als schwerwiegende Schwangerschaftskomplikationen auftreten (Schneider et al. 2016b).

Bislang lagen nur wenige Daten über einen möglichen Zusammenhang zwischen paternalen Faktoren und den Folgen für Mutter und Kind vor, obgleich der Vater die Hälfte des Genoms kodiert (Kasman et al. 2020).

Eine besondere geburtshilfliche und reproduktive Bedeutung, im Hinblick auf genetisch bedingte Schwangerschaftskomplikationen, kommt dem M2/ANXA5-Haplotyp zu.

Hinweisend zeigte sich, dass neben der maternalen auch die paternale Genomabweichung eine Rolle spielt. Elternpaare, die sich wegen Kinderwunsch bei Infertilität in IVF-Behandlung begaben und bei denen keine Ursache für die Infertilität gefunden wurde, wiesen für Männer und Frauen eine ähnliche Häufigkeit der erhöhten M2-Trägerschaft auf (Fishel et al. 2014).

Unsere Ergebnisse bestätigen, dass der M2-Haplotyp in Bezug auf Präeklampsie, IUGR und Frühgeburtslichkeit von wichtiger Bedeutung ist, wobei wir erstmalig aufzeigen konnten, dass die paternale M2-Trägerschaft, mit Ausnahme für Präeklampsie, zur gleichen Risikoerhöhung wie die maternale Trägerschaft führt. Der paternale Einfluss auf das Präeklampsie-Risiko war gering, was darauf hindeutet, dass in diesem speziellen Zusammenhang in erster Linie der maternale M2-Haplotyp eine Rolle spielt.

Der Vollständigkeit halber wurde die Assoziation zwischen M2/ANXA5-Trägerschaft und Fehlgeburten in der paternalen Stichprobe des Studienkollektivs betrachtet, zeigte jedoch aufgrund der erwartbar niedrigeren Effektstärke, bei dem aktuellen Stichprobenumfang, keine ausreichende Signifikanz. Die vorliegende Arbeit untermauert jedoch die starke Korrelation zwischen maternaler M2-Trägerschaft und vorausgegangenen Aborten.

Insgesamt handelt es sich bei den untersuchten Schwangerschaftskomplikationen um multifaktorielle Phänomene. Speziell im Hinblick auf den M2-Haplotyp sind noch viele Fragen offen, wenngleich jene Haplotyp-Trägerschaft vermutlich einen signifikanten Einfluss auf den Verlauf von Schwangerschaften hat. Unabhängig wird vor dem Hintergrund dieser Studie und den Daten aus der Literatur deutlich, dass bei der Schwangerschaftsberatung auch der paternale Status mehr Berücksichtigung erfahren sollte.

Zu beachten ist die hohe Prävalenz des M2-Haplotyps in der Allgemeinbevölkerung. Der Haplotyp findet sich fünf bis siebenmal häufiger als die Faktor-V-Leiden-Mutation, die zu den etablierten Untersuchungsparametern in der Klinik gehört. Spekulativ bleibt, inwiefern sich TrägerInnen des M2-Haplotyps im Hinblick auf andere Krankheitsrisiken von Nicht-M2-TrägerInnen unterscheiden.

## 6 Zusammenfassung

**Hintergrund:** Genetische Faktoren haben einen wesentlichen Einfluss auf schwerwiegende Schwangerschaftskomplikationen. In den letzten Jahren verdichteten sich die Hinweise auf eine paternale Beteiligung. Ferner konnten Veränderungen der plazentaren Annexin A5 (ANXA5)-Konzentration als bedeutsame Einflussgröße identifiziert werden. Es zeigte sich, dass der M2/ANXA5-Haplotyp mit einer verminderten ANXA5-Genexpression und mit einer erhöhten Rate an rezidivierenden Fehlgeburten assoziiert ist. Gegenstand dieser Studie war es, den M2-Haplotyp im Hinblick auf die Schwangerschaftskomplikationen Präeklampsie, IUGR und Frühgeburtlichkeit zu untersuchen. Besonderes Interesse lag dabei auf dem Einfluss des paternalen M2/ANXA5-Haplotyps.

**Methodik:** Es wurden die Daten von 288 Elternpaaren (n = 576) mit Risikoschwangerschaften analysiert. In diesem Studienkollektiv waren die Schwangerschaftskomplikationen Präeklampsie, IUGR und Frühgeburtlichkeit zu gleichen Teilen (n = 96) repräsentiert. Als Kontrolle dienten zwei Gruppen: Münchner Kontrollgruppe aus unserem Zentrum (n = 89) sowie PopGen Kontrollgruppe, eine Bevölkerungs-Stichprobe aus der PopGen Bio-Bank UKSH Kiel (n = 533). Die ProbandInnen des Studienkollektivs waren zum Großteil europäischer Abstammung und zwischen 18 und 40 Jahre (Frauen) bzw. 18 und 49 Jahre (Männer) alt. Das mittlere Alter lag bei  $28,8 \pm 6,0$  bzw.  $31,0 \pm 6,1$  Jahren.

**Ergebnisse:** 26,0 % der Frauen und 21,5 % der Männer wiesen einen M2-Haplotyp auf, versus der Kontrollgruppen mit ca. 15 % ( $p < 0,001$ ). Im Falle einer Präeklampsie fand sich bei 27,1 % der Frauen ein M2-Haplotyp. In den Subgruppen IUGR und Frühgeburtlichkeit lagen die Raten für M2/ANXA5-Trägerschaft bei 25,0 und 26,0 %. Die entsprechenden Anteile aufseiten der Männer betragen 17,7 % (Präeklampsie), 21,9 % (IUGR) und 25,0 % (Frühgeburtlichkeit). Die paternale M2/ANXA5-Trägerschaft erhöhte das Präeklampsie-Risiko nicht signifikant. Das Vorliegen des maternalen M2-Haplotyps verdoppelte das Risiko für alle drei Komplikationen (OR 1,8 bis 2,0). Im Hinblick auf die männlichen M2/ANXA5-Träger ergaben sich folgende ORs: Frühgeburtlichkeit 1,9; IUGR 1,5 und Präeklampsie 1,2.

**Schlussfolgerung:** In unserer Analyse erwies sich die paternale M2/ANXA5-Trägerschaft als signifikanter Einflussfaktor auf die Schwangerschaftskomplikationen Frühgeburtlichkeit und IUGR. Dabei zeigte sich eine ähnliche Risikoerhöhung bei paternaler wie bei maternaler M2-Trägerschaft. Bezüglich der Präeklampsie scheint der paternale Einfluss eine eher untergeordnete Rolle zu spielen.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Abalos, E; Cuesta, C; Grosso, A L.; Chou, D; Say, L (2013): Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 170: S. 1-7.
2. ACOG (2001): Intrauterine growth restriction. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 72: S. 85-96.
3. ACOG (2013): Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 122: S. 1122-1131.
4. Ang, K-C; Bogdanova, N; Markoff, A; Ch'ng, E Seng; Tang, T Hock (2019): Association between M2/ANXA5 haplotype and repeated pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril* 111: 971-981.e2.
5. Aranda, F; Udry, S; Perés Wingeyer, S; Amshoff, L Christina; Bogdanova, N; Wieacker, P; Latino, J Omar; Markoff, A; Larrañaga, G de (2018): Maternal carriers of the ANXA5 M2 haplotype are exposed to a greater risk for placenta-mediated pregnancy complications. *J Assist Reprod Genet* 35: S. 921-928.
6. Bates, S M. (2019): Thrombophilia in Pregnancy. In: Konkle, BA., Kitchens, CS., Kessler, CM. und Garcia, DAllen (Hg.): *Consultative hemostasis and thrombosis* (4. Aufl.). Philadelphia, PA: Elsevier: S. 665-694.
7. Berger, R; Abele, H; Garnier, Y; Kuon, R; Rath, W; Mail, H (2020): Frühgeburt: Epidemiologie, Prädiktion und Prävention. *Gynäkologe* 53: S. 331–337.
8. Bezold, K Y.; Karjalainen, M K.; Hallman, M; Teramo, K; Muglia, L J. (2013): The genomics of preterm birth: from animal models to human studies. *Genome Med* 5: S. 34.
9. Bogdanova, N; Horst, J; Chlystun, M; Croucher, P J. P.; Nebel, A; Bohring, A; Todorova, A; Schreiber, S; Gerke, V; Krawczak, M; Markoff, A (2007): A common haplotype of the annexin A5 (ANXA5) gene promoter is associated with recurrent pregnancy loss. *Hum Mol Genet* 16: S. 573-578.
10. Bogdanova, N; Markoff, A (2010): Hereditary thrombophilic risk factors for recurrent pregnancy loss. *J Community Genet* 1: S. 47-53.
11. Bouter, A; Carmeille, R; Gounou, C; Bouvet, F; Degrelle, S A.; Evain-Brion, D; Brisson, A R. (2015): Review: Annexin-A5 and cell membrane repair. *Placenta* 36 Suppl 1: S43-9.
12. Bouter, A; Gounou, C; Bérat, R; Tan, S; Gallois, B; Granier, T; d'Estaintot, B Langlois; Pöschl, E; Brachvogel, B; Brisson, A R. (2011): Annexin-A5 assembled into two-dimensional arrays promotes cell membrane repair. *Nat Commun* 2: S. 270.
13. Brenner, B; Aharon, A (2007): Thrombophilia and adverse pregnancy outcome. *Clinics in Perinatology* 34: 527-41, v.

14. Burton, G J.; Redman, C W.; Roberts, J M.; Moffett, A (2019): Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ* 366: l2381.
15. Chauhan, S P.; Rice, M Murguia; Grobman, W A.; Bailit, J; Reddy, U M.; Wapner, R J.; Varner, M W.; Thorp, J M.; Leveno, K J.; Caritis, S N.; Prasad, M; Tita, A T. N.; Saade, G; Sorokin, Y; Rouse, D J.; Tolosa, J E. (2017): Neonatal Morbidity of Small- and Large-for-Gestational-Age Neonates Born at Term in Uncomplicated Pregnancies. *Obstet Gynecol* 130: S. 511-519.
16. Chinni, E; Tiscia, G Luca; Colaizzo, D; Vergura, P; Margaglione, M; Grandone, E (2009): Annexin V expression in human placenta is influenced by the carriership of the common haplotype M2. *Fertil Steril* 91: S. 940-942.
17. Croles, F Nanne; Nasserinejad, K; Duvekot, J J.; Kruip, M JHA; Meijer, K; Leebeek, F Wg (2017): Pregnancy, thrombophilia, and the risk of a first venous thrombosis: systematic review and bayesian meta-analysis. *BMJ* 359: j4452.
18. Crumpton, M J.; Dedman, J R. (1990): Protein terminology tangle. *Nature* 345: S. 212.
19. Dadelszen, P von; Magee, L A.; Roberts, J M. (2003): Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 22: S. 143-148.
20. Dekker, G; Robillard, P Yves; Roberts, C (2011): The etiology of preeclampsia: the role of the father. *J Reprod Immunol* 89: S. 126-132.
21. Demetriou, C; Abu-Amero, S; White, S; Peskett, E; Markoff, A; Stanier, P; Moore, G E.; Regan, L (2015): Investigation of the Annexin A5 M2 haplotype in 500 white European couples who have experienced recurrent spontaneous abortion. *Reprod Biomed Online* 31: S. 681-688.
22. DGGG (2019): Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen: Diagnostik und Therapie. AWMF-Leitlinie.
23. Di Renzo, G Carlo; Pacella, E; Di Fabrizio, L; Giardina, I (2017): Preterm Birth: Risk Factors, Identification and Management. In: Malvasi, A, Tinelli, A und Di Renzo, GCarlo (Hg.): *Management and Therapy of Late Pregnancy Complications. Third Trimester and Puerperium*. Cham: Springer International Publishing: S. 81-94.
24. Di Rosa, M; Flower, R J.; Hirata, F; Parente, L; Russo-Marie, F (1984): Antiphospholipase proteins. *Prostaglandins* 28: S. 441-442.
25. Dröge, L Antonia; Verlohren, S (2017): Präeklampsie. *J Gynäkol Endokrinol* 20: S. 157-161.
26. Duley, L (2003): Pre-eclampsia and the hypertensive disorders of pregnancy. *Br Med Bull* 67: S. 161-176.
27. Duley, L (2009): The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol* 33: S. 130-137.

28. Facchinetti, F; Marozio, L; Frusca, T; Grandone, E; Venturini, P; Tiscia, G Luca; Zatti, S; Benedetto, C (2009): Maternal thrombophilia and the risk of recurrence of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 200: 46.e1-5.
29. Fillenberg, S; Lasch, L (2017): Geburtshilfe. In: Lasch, L und Fillenberg, S (Hg.): *Basiswissen Gynäkologie und Geburtshilfe*. Berlin: Springer (Springer eBook Collection Medicine): S. 171-257.
30. Fishel, S; Patel, R; Lytollis, A; Robinson, J; Smedley, M; Smith, P; Cameron, C; Thornton, S; Dowell, K; Atkinson, G; Shaker, A; Lowe, P; Kazem, R; Brett, S; Fox, A (2014): Multicentre study of the clinical relevance of screening IVF patients for carrier status of the annexin A5 M2 haplotype. *Reprod Biomed Online* 29: S. 80-87.
31. Flenady, V; Koopmans, L; Middleton, P; Frøen, J Frederik; Smith, G C.; Gibbons, K; Coory, M; Gordon, A; Ellwood, D; McIntyre, H David; Fretts, R; Ezzati, M (2011): Major risk factors for stillbirth in high-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 377: S. 1331-1340.
32. Freed, J; Bauer, K A. (2019): Thrombophilia: Clinical and Laboratory Assessment and Management. In: Konkle, BA., Kitchens, CS., Kessler, CM. und Garcia, DAllen (Hg.): *Consultative hemostasis and thrombosis* (4. Aufl.). Philadelphia, PA: Elsevier: S. 242-265.
33. Friese, K; Husslein, P (2014): Frühgeburt und Frühgeborenes. *Gynäkologe* 47: S. 832.
34. Funakoshi, T; Hendrickson, L E.; McMullen, B A.; Fujikawa, K (1987): Primary structure of human placental anticoagulant protein. *Biochemistry* 26: S. 8087-8092.
35. Gathiram, P; Moodley, J (2016): Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovasc J Afr* 27: S. 71-78.
36. Gerhardt, A; Zotz, R B. (2014): Thrombophile Gerinnungsstörung und Antiphospholipidsyndrom. In: Gnoth, C und Mallmann, P (Hg.): *Perikonzeptionelle Frauenheilkunde*. Berlin, Heidelberg: Springer: S. 325-345.
37. Gerke, V; Moss, S E. (2002): Annexins: from structure to function. *Physiol Rev* 82: S. 331-371.
38. Gopman, S; Leeman, L; Wagner, L K. (2018): Preeclampsia. In: Lammi-Keefe, CJ., Couch, SC. und Kirwan, JP. (Hg.): *Handbook of Nutrition and Pregnancy*. Cham: Springer International Publishing: S. 221-229.
39. Gourvas, V; Soultzis, N; Konstantinidou, A; Dalpa, E; Koukoura, O; Koutroulakis, D; Spandidos, D A.; Sifakis, S (2014): Reduced ANXA5 mRNA and protein expression in pregnancies complicated by preeclampsia. *Thrombosis research* 133: S. 495-500.
40. Hafström, M; Källén, K; Serenius, F; Maršál, K; Rehn, E; Drake, H; Ådén, U; Farooqi, A; Thorngren-Jerneck, K; Strömberg, B (2018): Cerebral Palsy in Extremely Preterm Infants. *Pediatrics* 141.
41. Heihoff-Klose, A; Stepan, H (2016): Prävention und Früherkennung der Präeklampsie. *gynäkologie + geburtshilfe* 21: S. 26-31.

42. Heit, J A.; Kobbervig, C E.; James, A H.; Petterson, T M.; Bailey, K R.; Melton, L Joseph (2005): Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: a 30-year population-based study. *Ann Intern Med* 143: S. 697-706.
43. Helmer, H; Schneider, H (2016): Frühgeburt: Pränatale und intrapartale Aspekte. In: Schneider, H, Husslein, P und Schneider, K-TM. (Hg.): *Die Geburtshilfe*. Berlin, Heidelberg: Springer: S. 257-306.
44. Huppertz, B; Schneider, H (2012): Implantationsstörungen, Präeklampsie und intrauterine Wachstumsrestriktion. *Gynäkologe* 45: S. 514-519.
45. Ibrahim, Y; Hotaling, J (2018): Sperm Epigenetics and Its Impact on Male Fertility, Pregnancy Loss, and Somatic Health of Future Offsprings. *Semin Reprod Med* 36: S. 233-239.
46. Jena, M Kumar; Sharma, N Raj; Petitt, M; Maulik, D; Nayak, N Ranjan (2020): Pathogenesis of Preeclampsia and Therapeutic Approaches Targeting the Placenta. *Biomolecules* 10.
47. Kasman, A M.; Zhang, C A.; Li, S; Stevenson, D K.; Shaw, G M.; Eisenberg, M L. (2020): Association of preconception paternal health on perinatal outcomes: analysis of U.S. claims data. *Fertil Steril* 113: S. 947-954.
48. Krikun, G; LOCKWOOD, C; WU, X; ZHOU, X; GULLER, S; CALANDRI, C; GUHA, A; NEMERSON, Y; RAND, J (1994): The expression of the placental anticoagulant protein, annexin V, by villous trophoblasts: Immunolocalization and in vitro regulation. *Placenta* 15: S. 601-612.
49. Lackman, F; Capewell, V; Richardson, B; daSilva, O; Gagnon, R (2001): The risks of spontaneous preterm delivery and perinatal mortality in relation to size at birth according to fetal versus neonatal growth standards. *Am J Obstet Gynecol* 184: S. 946-953.
50. Lan, Y; Wang, J; Zhang, Q; Yang, X; Li, L; Yin, J; Li, H; Song, X; Chen, Z; Liu, Y (2019): Genetic variations and haplotypes in the annexin A5 gene are associated with the risk of recurrent pregnancy loss. *J Cell Physiol* 234: S. 18308-18316.
51. Lie, R T.; Rasmussen, S; Brunborg, H; Gjessing, H K.; Lie-Nielsen, E; Irgens, L M. (1998): Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. *BMJ* 316: S. 1343-1347.
52. Lin, Y-C; Chipot, C; Scheuring, S (2020): Annexin-V stabilizes membrane defects by inducing lipid phase transition. *Nat Commun* 11: S. 230.
53. Liu, S; Rouleau, J; Joseph, K S.; Sauve, R; Liston, R M.; Young, D; Kramer, M S. (2009): Epidemiology of Pregnancy-associated Venous Thromboembolism: A Population-based Study in Canada. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* 31: S. 611-620.
54. Markoff, A; Gerdes, S; Feldner, S; Bogdanova, N; Gerke, V; Grandone, E (2010): Reduced allele specific annexin A5 mRNA levels in placentas carrying the M2/ANXA5 allele. *Placenta* 31: S. 937-940.

55. Markoff, A; Kurahashi, H; Grandone, E; Bogdanova, N (2016): Annexin A5 haplotype M2 is not a risk factor for recurrent spontaneous abortion in Northern Europe: is there sufficient evidence? *Reprod Biomed Online* 32: S. 469-473.
56. Matsuda, J; Gotoh, M; Saitoh, N; Gohchi, K; Tsukamoto, M; Yamamoto, T (1994): Anti-annexin antibody in the sera of patients with habitual fetal loss or preeclampsia. *Thrombosis research* 75: S. 105-106.
57. McIntire, D D.; Bloom, S L.; Casey, B M.; Leveno, K J. (1999): Birth weight in relation to morbidity and mortality among newborn infants. *N Engl J Med* 340: S. 1234-1238.
58. Melis, F; Vandenbrouke, J P.; Büller, H R.; Colly, L P.; Bloemenkamp, K W. M. (2004): Estimates of risk of venous thrombosis during pregnancy and puerperium are not influenced by diagnostic suspicion and referral basis. *Am J Obstet Gynecol* 191: S. 825-829.
59. Morgan, R O.; Bell, D W.; Testa, J R.; Fernandez, M P. (1998): Genomic locations of ANX11 and ANX13 and the evolutionary genetics of human annexins. *Genomics* 48: S. 100-110.
60. Murugappan, G; Li, S; Leonard, S A.; Winn, V D.; Druzin, M L.; Eisenberg, M L. (2021): Association of preconception paternal health and adverse maternal outcomes among healthy mothers. *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM* 3: S. 100384.
61. Mwaniki, M K.; Atieno, M; Lawn, J E.; Newton, C RJC (2012): Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review. *Lancet* 379: S. 445-452.
62. Nilsson, E; Salonen Ros, H; Cnattingius, S; Lichtenstein, P (2004): The importance of genetic and environmental effects for pre-eclampsia and gestational hypertension: a family study. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 111: S. 200-206.
63. Ota, S; Miyamura, H; Nishizawa, H; Inagaki, H; Inagaki, A; Inuzuka, H; Suzuki, M; Miyazaki, J; Sekiya, T; Udagawa, Y; Kurahashi, H (2013): Contribution of fetal ANXA5 gene promoter polymorphisms to the onset of pre-eclampsia. *Placenta* 34: S. 1202-1210.
64. Peraçoli, J Carlos; Borges, V Therezinha Medeiros; Ramos, J Geraldo Lopes; Cavalli, R de Carvalho; Costa, S Hofmeister de Almeida Martins; Oliveira, L Gustavo de; Souza, F Lazaro Pereira de; Korkes, H Augusto; Brum, I Rodrigues; Costa, M Laura; Corrêa Junior, M Dias; Sass, N; Diniz, A Lemos Debs; Prado, C Antonio de Campos; Da Cunha Filho, E Viera (2019): Pré-eclâmpsia/Eclâmpsia. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia : revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia* 41: S. 318-332.
65. Pöschl, J (2017): Moderne Neonatologie: Frühgeburten. In: Toth, B (Hg.): *Fehlgeburten Totgeburten Frühgeburten. Ursachen, Prävention und Therapie*. Berlin, Heidelberg: Springer: S. 291-294.
66. Rai, R; Regan, L (2006): Recurrent miscarriage. *Lancet* 368: S. 601-611.
67. Raio, L; Baumann, M; Schneider, H (2016): Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen. In: Schneider, H, Husslein, P und Schneider, K-TM. (Hg.): *Die Geburtshilfe*. Berlin, Heidelberg: Springer: S. 449-494.

68. Rand, J H.; Wu, X-X; Guller, S; Gil, J; Guha, A; Scher, J; Lockwood, C J. (1994): Reduction of annexin-V (placental anticoagulant protein-I) on placental villi of women with antiphospholipid antibodies and recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 171: S. 1566-1572.
69. Ream, M A.; Lehwald, L (2018): Neurologic Consequences of Preterm Birth. *Curr Neurol Neurosci Rep* 18: S. 48.
70. Rogenhofer, N; Engels, L; Bogdanova, N; Tüttelmann, F; Markoff, A; Thaler, C (2012): Paternal and maternal carriage of the annexin A5 M2 haplotype are equal risk factors for recurrent pregnancy loss: a pilot study. *Fertil Steril* 98: S. 383-388.
71. Rogenhofer, N; Engels, L; Bogdanova, N; Tüttelmann, F; Thaler, C J.; Markoff, A (2013): Independent association of the M2/ANXA5 haplotype with recurrent pregnancy loss (RPL) in PCOS patients. *Metabolism* 62: S. 1057-1060.
72. Rogenhofer, N; Markoff, A; Ennerst, X; Bogdanova, N; Thaler, C (2021): Maternal and paternal carriage of the annexin A5 M2 haplotype: a possible risk factor for recurrent implantation failure (RIF). *J Assist Reprod Genet* 38: S. 235-242.
73. Römisch, J; Pâques, E P. (1991): Annexins: calcium-binding proteins of multi-functional importance? *Med Microbiol Immunol* 180: S. 109-126.
74. Schill, S; Münch, D; Thomas, T; Heller, G (2020): Perinatalmedizin. In: IQTIG (Hg.): Qualitätsreport 2020. Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen. Berlin: S. 144-162.
75. Schneider, H; Schneider, K-T M.; Lobmaier, S M. (2016): Fetale Wachstumsrestriktion (FGR). In: Schneider, H, Husslein, P und Schneider, K-TM. (Hg.): Die Geburtshilfe. Berlin, Heidelberg: Springer: S. 341-365.
76. Shu, F; Sugimura, M; Kanayama, N; Kobayashi, H; Kobayashi, T; Terao, T (2000): Immunohistochemical study of annexin V expression in placentae of preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 49: S. 17-23.
77. Sibai, B; Dekker, G; Kupferminc, M (2005): Pre-eclampsia. *Lancet* 365: S. 785-799.
78. Sifakis, S; Soufla, G; Koukoura, O; Soultzis, N; Koutroulakis, D; Maiz, N; Konstantinidou, A; Melissari, E; Spandidos, D A. (2010): Decreased annexin A5 mRNA placental expression in pregnancies complicated by fetal growth restriction. *Thrombosis research* 125: S. 326-331.
79. Spratte, J; Fluhr, H (2017): Plazentationsstörungen und fetale Wachstumsretardierung. In: Toth, B (Hg.): Fehlgeburten Totgeburten Frühgeburten. Ursachen, Prävention und Therapie. Berlin, Heidelberg: Springer: S. 307-310.
80. Staff, A Cathrine; Benton, S J.; Dadelszen, P von; Roberts, J M.; Taylor, R N.; Powers, R W.; Charnock-Jones, D Stephen; Redman, C W. G. (2013): Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension* 61: S. 932-942.
81. Stepan, H; Jank, A (2009): Angiogene Faktoren und ihre Rolle in der Entstehung und Vorhersage der Präeklampsie. *Z Geburtshilfe Neonatol* 213: S. 101-105.

82. Svensson, A C.; Pawitan, Y; Cnattingius, S; Reilly, M; Lichtenstein, P (2006): Familial aggregation of small-for-gestational-age births: the importance of fetal genetic effects. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 194: S. 475-479.
83. Svensson, A C.; Sandin, S; Cnattingius, S; Reilly, M; Pawitan, Y; Hultman, C M.; Lichtenstein, P (2009): Maternal effects for preterm birth: a genetic epidemiologic study of 630,000 families. *Am J Epidemiol* 170: S. 1365-1372.
84. Tiscia, G; Colaizzo, D; Chinni, E; Pisanelli, D; Sciannamè, N; Favuzzi, G; Margaglione, M; Grandone, E (2009): Haplotype M2 in the annexin A5 (ANXA5) gene and the occurrence of obstetric complications. *Thromb Haemost* 102: S. 309-313.
85. Tiscia, G; Colaizzo, D; Favuzzi, G; Vergura, P; Martinelli, P; Margaglione, M; Grandone, E (2012): The M2 haplotype in the ANXA5 gene is an independent risk factor for idiopathic small-for-gestational age newborns. *Mol Hum Reprod* 18: S. 510-513.
86. Toth, B; Vocke, F; Rogenhofer, N; Friese, K; Thaler, C J.; Lohse, P (2008): Paternal thrombophilic gene mutations are not associated with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 60: S. 325-332.
87. Trasca, L Florentina; Patrascu, N; Bruja, R; Munteanu, O; Cirstoiu, M; Vinereanu, D (2019): Therapeutic Implications of Inherited Thrombophilia in Pregnancy. *American Journal of Therapeutics* 26: e364-e374.
88. Tucher, E von; Henrich, W (2013): Frühgeburt und Amnioninfektionssyndrom. In: Wacker, J, Sillem, M, Bastert, G und Beckmann, MW. (Hg.): *Therapiehandbuch Gynäkologie und Geburtshilfe* (2. Aufl.). Dordrecht: Springer: S. 117-141.
89. Tüttelmann, F; Ivanov, P; Dietzel, C; Sofroniou, A; Tsvyatkovska, T M.; Komsa-Penkova, R S.; Markoff, A; Wieacker, P; Bogdanova, N (2013): Further insights into the role of the annexin A5 M2 haplotype as recurrent pregnancy loss factor, assessing timing of miscarriage and partner risk. *Fertil Steril* 100: S. 1321-1325.
90. Varughese, B; Bhatla, N; Kumar, R; Dwivedi, S N.; Dhingra, R (2010): Circulating angiogenic factors in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Natl Med J India* 23: S. 77-81.
91. Vefring, H; Lie, R T.; ØDegård, R; Mansoor, M A.; Nilsen, S T. (2004): Maternal and fetal variants of genetic thrombophilias and the risk of preeclampsia. *Epidemiology* 15: S. 317-322.
92. Wang, X; Campos, B; Kaetzel, M A.; Dedman, J R. (1999): Annexin V is critical in the maintenance of murine placental integrity. *Am J Obstet Gynecol* 180: S. 1008-1016.
93. Wen, S Wu; Smith, G; Yang, Q; Walker, M (2004): Epidemiology of preterm birth and neonatal outcome. *Seminars in fetal & neonatal medicine* 9: S. 429-435.
94. Zhong, Y; Tuuli, M; Odibo, A O. (2010): First-trimester assessment of placenta function and the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Prenat Diagn* 30: S. 293-308.

## Danksagung

**Herrn Prof. Dr. Thaler** danke ich zunächst ganz herzlich dafür, dass ich die Studie im Rahmen meiner Promotion in dem von ihm geleiteten Hormon- und Kinderwunschzentrum durchführen durfte.

Mein ganz besonderer Dank gilt **Frau Prof. Dr. Rogenhofer** für die Heranführung an die Thematik dieser Arbeit sowie ihr außergewöhnliches Engagement als meine Betreuerin.

**Herrn Prof. Dr. Friese** und **Herrn Prof. Dr. Mahner** danke ich für die Annahme als Doktorandin in der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU.

Auch den **ProbandInnen**, ohne die diese Studie nicht möglich gewesen wäre, danke ich ganz ausdrücklich für ihr Vertrauen und den geleisteten Beitrag zur Wissenschaft.

Den **Mitarbeiterinnen** des Archivs sowie des Labors der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU danke ich für ihre stets geduldige Unterstützung und die freundliche Atmosphäre bei der Arbeit.

**Herrn Prof. Dr. Wieacker** als ehemaligem Leiter des Instituts für Humangenetik der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster und seinen **MitarbeiterInnen** danke ich für die kooperative, bereichernde Zusammenarbeit. Hier gilt mein außerordentlicher Dank **Herrn Prof. Dr. Markoff** sowie Frau **Prof. Dr. Bogdanova**, die während des gesamten Prozesses der Arbeit für jegliche Fragen erreichbar waren. Auch **Frau Amshoff** und **Herrn Dr. Petroff** danke ich für den stets unkomplizierten gemeinsamen Austausch.

Nicht zuletzt danke ich **meiner Familie** und **meinen Freunden** für ihren geduldigen und liebevollen emotionalen Beistand beim Erstellen dieser Dissertation.

## **Eidesstattliche Versicherung**

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

**„Maternale und paternale Trägerschaft des M2/ANXA5-Haplotyps als Risikofaktor für plazentavermittelte Schwangerschaftskomplikationen“**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Im Rahmen der Zusammenarbeit mit dem Institut für Humangenetik des Universitätsklinikums Münster (UKM) entsteht dort eine weitere Dissertation zu der o.g. Thematik.

Starnberg, 20. Januar 2023

---

Ort, Datum

Lara Ronja Maria Scharl

---

Unterschrift Doktorandin