

Aus der Klinik und Poliklinik für
Frauenheilkunde und Geburtshilfe
Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Sven Mahner

**Geschlechtsabhängige Expression von Glucocorticoid-
Rezeptoren und Histonmodifikationen der Plazenta bei
Intrauteriner Wachstumsrestriktion**

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

vorgelegt von
Julia Maria Clara Nassiri (geb. Messner)
aus Stuttgart
2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Udo Jeschke

Mitberichterstatter: PD Dr. Katrin Karl
Prof. Dr. Susanne Bechtold-Dalla Pozza

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. Stefan Hutter

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 30.03.2023

Für Amira

1. EINLEITUNG.....	7
1.1. Intrauterine Wachstumsrestriktion	7
1.1.1. Definition und Klassifikation.....	7
1.1.2. Epidemiologie und Ätiologie.....	9
1.1.4. Diagnostik und Differenzialdiagnostik.....	12
1.1.5 Management und Therapieansätze	14
1.1.6 Kurzzeit- und Langzeit-Outcome / Morbidität und Mortalität.....	16
1.2. Die Plazenta.....	17
1.2.1 Entwicklung und Aufbau der humanen Plazenta.....	17
1.2.2 Funktion der humanen Plazenta.....	19
1.2.3 Die Chorionkarzinomzelllinie BeWo als Trophoblastzellmodell.....	20
1.3 Glucocorticoide.....	21
1.3.1 Der Glucocorticoidrezeptor.....	22
1.4 Epigenetik und Histonmodifikationen	24
1.5 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	26
2. MATERIAL UND METHODEN.....	27
2.1. Material	27
2.1.1. Patientenkollektiv	27
2.1.2 Gewinnung des plazentaren Gewebes.....	28
2.1.3. Verwendete Materialien.....	29
2.2. Methoden in der Immunhistologie	33
2.2.1. Anfertigung der Paraffinschnitte	33
2.2.2. Durchführung der immunhistochemischen Färbungen.....	33
2.2.3. Positivkontrollen	35
2.2.4. Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	36
2.2.5. Durchführung der Immunfluoreszenz-Doppelfärbung	37
2.3. Methoden in der Zellkultur	38
2.3.1. Stimulation der BeWo Zellen für die Immunzytochemie.....	38
2.3.2. Durchführung der immunzytochemischen Färbungen	39
2.3.3. Stimulation der BeWo-Zellen mit Predinsolon für die PCR	40
2.3.4. Durchführung der RNA-Isolation.....	41
2.3.5. Durchführung der Reversen Transkription.....	42
2.3.6. Durchführung der quantitativen Real-Time PCR	42
2.4. Methoden zur statistischen Auswertung	44

3. ERGEBNISSE	45
3.1. Immunhistochemische Färbung	45
3.1.1. Expression von Glucocorticoidrezeptor α	45
3.1.2. Expression von Glucocorticoidrezeptor β	47
3.1.3. Expression von H3K4me	50
3.1.4. Expression von H3K9ac	52
3.2. Immunfluoreszenz-Doppelfärbung	54
3.2.1. Doppelexpression von GR α und CK 7	54
3.2.2. Doppelexpression von GR β und CK 7	55
3.2.3. Doppelexpression von H3K9ac und CK 7.....	56
3.3. Ergebnisse in der Immunzytochemie	57
3.3.1. Expression von H3K4me in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon	57
3.3.2. Expression von H3K9ac in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon.....	59
3.4. Quantitative Real-Time Polymerase-Kettenreaktion	61
4. DISKUSSION	62
4.1 Zusammenhang zwischen IUGR und GCs	62
4.2 Geschlechtsabhängige Unterschiede	64
4.3 Die Rolle von Histonmodifikationen bei Schwangerschafts-.....	66
komplikationen	66
4.4 Zusammenhang zwischen GR-Expression und Histonmodifikationen.....	68
4.5 Fetale Programmierung als Ursache für Erkrankungen im Erwachsenenalter	70
5. ZUSAMMENFASSUNG	75
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	77
TABELLENVERZEICHNIS	78
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	79

LITERATURVERZEICHNIS	82
DANKSAGUNG	117
PUBLIKATIONSLISTE	118
EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	119

1. Einleitung

1.1. Intrauterine Wachstumsrestriktion

1.1.1. Definition und Klassifikation

Unter dem Begriff der intrauterinen Wachstumsrestriktion (englisch Intrauterine growth restriction = IUGR) versteht man, dass ein Fetus sein genetisch determiniertes Wachstumspotenzial aufgrund einer Pathologie nicht ausschöpfen kann. Sie ist mit einer erhöhten perinatalen Morbidität und Mortalität assoziiert und die Folgen können bis ins Erwachsenenalter reichen. Wichtig ist die Abgrenzung zu SGA (Small for Gestational Age)-Feten, deren Geburtsgewicht zwar unterhalb der 10. Perzentile bezogen auf das Gestationsalter liegt, dies aber konstitutionell bedingt ist (Ananth und Vintzileos 2009). Bisher gibt es keinen international einheitlichen Grenzwert für das fetale Schätzwert oder Geburtsgewicht um die IUGR zu definieren. Die deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe definiert die IUGR in der aktuellen Leitlinie wie folgt:

- „SGA = fetales Schätzwert oder Geburtsgewicht < der 10. Perzentile
- IUGR = fetales Schätzwert < der 10. Perzentile und/oder
 - nicht perzentilengerechtes Wachstum im Verlauf und
 - pathologische Dopplersonographie der A. umbilicalis oder
 - pathologische Dopplersonographie der Aa. uterinae oder
 - Oligohydramnion.“ (Kehl et al. 2017)

Per definitionem können somit auch Feten mit einem Gewicht oberhalb der 10. Perzentile wachstumsrestringiert sein, was bei etwa 25 Prozent der IUGR-Feten beobachtet werden kann (Crombach 2007). Eine Literaturanalyse der Jahre 1994, 2004 und 2014 von Beune et al. hat ergeben, dass die Mehrheit der Studien ein Geburtsgewicht unterhalb der 10. Perzentile als Grenzwert für die Definition einer IUGR verwendet haben (Beune et al. 2018). Auch international renommierte Leitlinien wie beispielsweise die des American College of Obstetrics and Gynecology (ACOG) definieren die IUGR ab einem fetalen Schätzwert unterhalb der 10. Perzentile (ACOG Practice bulletin no. 134 2013). Das Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) empfiehlt in seiner Leitlinie als Diagnosekriterium für eine IUGR nicht nur ein fetales Schätzwert unterhalb der 10. Perzentile sondern auch einen Abdomenumfang unterhalb der 10. Perzentile (RCOG 2014). Weitere zahlreiche Definitionen in der Literatur sind ein Geburtsgewicht unter 2500 Gramm, ein Gewicht unterhalb der 5. oder der 25. Perzentile, mehr als 2 Standardabweichungen unter dem Mittelwert sowie ein Ponderal Index (Körpergewicht/Körperlänge³) unterhalb der 10. Perzentile (Seeds 1984; Pollack und Divon 1992).

Die prospektive Multicenterstudie PORTO (Prospective Observational Trial to Optimize Pediatric Health in Intrauterine Growth Restriction) führte zwischen den Jahren 2010-2012 sonographische Untersuchungen bei 1100 Feten mit einem fetalen Schätzwert unterhalb der 10. Perzentile zur Optimierung der IUGR-Definition durch und kam zu dem Ergebnis, dass ein pathologischer Doppler der A. umbilicalis und ein fetales Schätzwert unterhalb der 3. Perzentile am stärksten mit einer erhöhten perinatalen Morbidität und Mortalität assoziiert sind (Unterscheider et al. 2013). Die Heterogenität der Definitionen führte dazu, dass kürzlich ein internationales Expertenkomitee über eine Delphi Konsensus Methode Algorithmen zur Definition einer frühen und späten IUGR nach Ausschluss kongenitaler Anomalien festlegte. Die frühe IUGR wurde definiert als Abdomenumfang oder fetales Schätzwert unterhalb der 3. Perzentile, einem diastolischen Nullfluss in der Umbilicalarterie, einem Abdomenumfang oder fetalen Schätzwert unterhalb der 10. Perzentile kombiniert mit einem Pulsatilitätsindex über der 95. Perzentile in der Umbilicalarterie oder den Aa. uterinae (Gordijn et al. 2016). Die späte IUGR wurde definiert als Abdomenumfang oder fetales Schätzwert unterhalb der 3. Perzentile oder als Kombination aus zwei der drei Parameter Abdomenumfang oder fetales Schätzwert unter der 10. Perzentile, Kreuzen der Wachstumsperzentilen über zwei Quartilen, cerebroplazentare Ratio (CPR) unter der 5. Perzentile oder Pulsatilitätsindex über der 95. Perzentile in der Umbilicalarterie (Gordijn et al. 2016).

Bisherige Studien zum klinischen Nutzen der CPR haben uneinheitliche Ergebnisse geliefert, daher ist die Bedeutung für die klinischen Praxis aktuell umstritten (Vollgraff Heidweiller-Schreurs et al. 2018; Conde-Agudelo et al. 2018).

Historisch teilte man die IUGR nach dem fetalen Wachstumsmuster hinsichtlich des Verhältnisses zwischen Kopf- und Abdomenumfang ein. Typ 1 bezeichnete die symmetrische, hypoplastische Form, bei welcher Abdomenumfang und Kopfumfang proportional zueinander verringert sind (Nardoza et al. 2012). Diese Form tritt aufgrund kongenitaler Störungen, welche die Zellzahl einschränken bereits vor der 28. Schwangerschaftswoche (SSW) auf und betrifft 25 Prozent der wachstumsrestringierten Feten (Wollmann 1998). Die asymmetrische oder hypotrophe Form der IUGR (Typ 2) hingegen zeigt ein Wachstumsmuster, bei welchem der Abdomenumfang dysproportional zum Kopfumfang verringert ist (Nardoza et al. 2012). Bei diesen 75 Prozent der IUGR-Feten liegt eine nach der 28. SSW auftretende Plazentainsuffizienz zugrunde, welche zu einer Reduktion der Zellgröße führt (Wollmann 1998).

Die mittlerweile geläufigere Einteilung erfolgt nach dem Zeitpunkt des Auftretens vor oder nach der 34. SSW in eine frühe oder späte Form, da die Mehrheit der asymmetrischen IUGR-Feten im Verlauf symmetrisch werden und es zwischen den beiden Formen keinen prognostischen Vorteil bezüglich des fetalen Outcomes gibt (Gujral und Nayar 2014; Dashe et al. 2000).

Die Unterschiede zwischen den beiden Phänotypen sind in Tabelle 1 nach Figueras (Figueras et al. 2018) aufgeführt:

Tabelle 1: Unterschiede zwischen früher und später IUGR

	Frühe IUGR	Späte IUGR
Prävalenz	0,5-1%	5-10%
Problem	Management	Diagnosestellung
Anzeichen für Plazentainsuffizienz	Schwer	Mild
	70% pathologischer Doppler der A. umbilicalis	10% pathologischer Doppler der A. umbilicalis
	60% Assoziation zur Präeklampsie	15% Assoziation zur Präeklampsie
	Schwere angiogenetische Dysbalance	Milde angiogenetische Dysbalance
Pathophysiologie und Sauerstofffluss zum Gehirn	Fetale Hypoxie mit systemischer kardiovaskulärer Adaptation	Fetale Hypoxie mit/ohne zentraler kardiovaskulärer Adaptation
Klinische Bedeutung	Hohe Morbidität und Mortalität	Niedrige Morbidität und Mortalität + hohe Prävalenz = große Fraktion für schlechtes Outcome

Eine Kohortenstudie mit 656 IUGR-komplizierten Schwangerschaften ergab als optimalen Cutoff die 32. SSW um zwischen einer frühen und späten IUGR zu unterscheiden (Savchev et al. 2014).

1.1.2. Epidemiologie und Ätiologie

Definitionsgemäß kommen 10 Prozent aller Kinder als SGA zur Welt, wovon bis zu 30 Prozent eine IUGR aufweisen, während 70 Prozent konstitutionell klein sind (Peleg et al. 1998). Die Inzidenz wachstumsrestringierter Neugeborener wird mit 3-7 Prozent angegeben (Romo et al. 2009). Im Vergleich dazu geht man von einer bis zu sechsmal höheren Inzidenz in Entwicklungsländern aus, wobei dort die Mehrheit der Neugeborenen nach der Geburt nicht gewogen werden, wodurch die Datenerhebung erschwert wird (Sharma et al. 2016; Wardlaw 2004). Eine Analyse des Geburtenjahrgangs 1992 in der Bundesrepublik Deutschland (BRD) konnte zeigen, dass die maternale Konstitution Körperhöhe, Körpergewicht, Parität und Alter in dieser Rangfolge maßgeblich mit dem Gewicht des Neugeborenen korrelieren (Voigt et al. 1997). Diese Einflussfaktoren konnten bei Schwangeren mit mittlerem bis hohem sozioökonomischem Status aus zehn verschiedenen Ländern in einer kürzlich durchgeführten Studie der Welt-Gesundheits-Organisation (WHO) ebenfalls nachgewiesen werden und weiterhin zeigte sich, dass geographische und kulturelle Unterschiede das fetale Gewicht signifikant beeinflussen (Kiserud et al. 2018). Aus der Datenbank für sichere Mutterschaft der WHO geht hervor, dass das Risiko als wachstumsrestringiert geboren zu werden am höchsten in Asien (75

Prozent), gefolgt von Afrika (20 Prozent) und Latein-Amerika (5 Prozent) ist (Onis et al. 1998). Auch die NICHD (National Institute of Child Health and Human Development) Fetal Growth Studie konnte signifikante Unterschiede beim fetalen Schätzwert in einem nationalen Niedrigrisiko-Kollektiv mit verschiedenen Ethnizitäten nach der 20. SSW feststellen (Buck Louis et al. 2015). Im Gegensatz dazu kam das INTERGROWTH 21st Projekt zu dem Schluss, dass in acht verschiedenen geographischen Umgebungen (Brasilien, Indien, China, Italien, Kenia, USA und Großbritannien) unter optimalen medizinischen, Ernährungs- und Umweltbedingungen das fetale Wachstum und die Länge Neugeborener ähnlich sind (Villar et al. 2014).

Das fetale Geschlecht spielt ebenfalls eine Rolle für das fetale Gewicht und es kann in allen Trimestern beobachtet werden, dass männliche Feten sowohl schneller wachsen als auch bei Geburt schwerer sind als weibliche (Cogswell und Yip 1995; Schwärzler et al. 2004; Rizzo et al. 2016). Eine retrospektive Studie hat zwischen den Jahren 1995-2006 das geschlechtsspezifische Outcome von 66.387 Einlingsschwangerschaften ausgewertet und ergeben, dass weibliche Feten ein höheres Risiko für eine IUGR haben (Melamed et al. 2010). Obwohl männliche Feten intrauterin schneller wachsen als weibliche und bei Geburt tendenziell größer sind, ist das männliche Geschlecht mit einem schlechteren Outcome assoziiert (Eriksson et al. 2010).

Es ist bekannt, dass nach Geburt eines wachstumsrestringierten Kindes ein Wiederholungsrisiko in der Folgeschwangerschaft besteht (Patterson et al. 1986; Ananth et al. 2007). Die Erhebung der Familienanamnese spielt eine wichtige Rolle, da das Gewicht der Mutter bei ihrer Geburt einen Vorhersagewert für das Geburtsgewicht ihrer eigenen Kinder hat und Vererbungsmuster identifiziert werden konnten (Skjaerven et al. 2000; Ghezzi et al. 2003). Weitere Ursachen sind in Tabelle 2 nach Maulik (Maulik 2006) aufgeführt:

Tabelle 2: Ursachen für die IUGR

Mütterliche Ursachen	Blutdruckerkrankungen <ul style="list-style-type: none"> • Präeklampsie • Chronische Hypertension • Sekundäre Hypertension
	Nierenerkrankungen
	Diabetes mit Vaskulopathie
	Autoimmunerkrankungen <ul style="list-style-type: none"> • Systemischer Lupus erythematoses • Antiphospholipidsyndrom
	Thrombophilie
	Zyanotische Herzfehler
	Asthma
	Hämoglobinopathie
	Phenylketonurie
	Uterusfehlbildungen <ul style="list-style-type: none"> • Große submuköse Myome • Uterusseptum • Synechien
	Life-style-Faktoren <ul style="list-style-type: none"> • Rauchen • Drogen (Heroin, Kokain, Methadon etc.) • Alkohol
	Medikamente
	Mangelernährung
	Umweltfaktoren
	Plazentare Ursachen
Plazenta praevia	
Abruptio placentae	
Plazenta circumvallata	
Plazentainfarkte	
Plazenta accreta	
Hämangiome	
Fetale Ursachen	Aneuploidie <ul style="list-style-type: none"> • Trisomie 13, 18, 21 • Triploidie
	Genomic imprinting und Uniparentale Disomie
	Fehlbildungen <ul style="list-style-type: none"> • Gastroschisis • Omphalocele • Zwerchfellhernie • Kongenitale Herzfehler
	Frühgeburt
	Intrauterine Infektionen <ul style="list-style-type: none"> • Malaria • TORCH
	Erhöhtes alpha-Fetoprotein
	Mehrlingsschwangerschaft

1.1.4. Diagnostik und Differenzialdiagnostik

Eine pränatal unentdeckte IUGR ist im Vergleich zur pränatal diagnostizierten IUGR mit einem signifikant erhöhten Risiko für ein schlechtes perinatales Outcome und intrauterinem Fruchttod (IUFT) assoziiert (Lindqvist und Molin 2005; Gardosi et al. 2013).

Der Stand der Gebärmutter soll gemäß deutscher Mutterschaftsrichtlinie zunächst alle vier Wochen und in den letzten zwei Schwangerschaftsmonaten alle zwei Wochen bestimmt werden (Mutterschafts-Richtlinie 2016). Diese nicht-invasive, kostengünstige Methode zur fetalen Gewichtsschätzung weist jedoch eine hohe Falsch-negativ-Rate auf, wird durch den maternalen Body-Mass-Index (BMI), Polyhydramnion und Uterus myomatosus beeinflusst und ist vor allem dann nützlich, wenn keine Ultraschalldiagnostik zur Verfügung steht (Pay et al. 2015; Morse et al. 2009; Mongelli und Gardosi 2004). Zur Ermittlung des genauen Gestationsalters und der somatischen Entwicklung des Feten wird gemäß deutscher Mutterschaftsrichtlinie in jedem Trimester ein Ultraschallscreening durchgeführt (Mutterschafts-Richtlinie 2016). Die sonographische Messung der Scheitelsteißlänge in der Frühschwangerschaft bzw. des biparietalen Durchmessers zwischen der 12. und 14. SSW ist der verlässlichste Parameter um bei spontan konzipierten Schwangerschaften das exakte Gestationsalter zu bestimmen (Butt und Lim 2014). Im zweiten und dritten Trimenon sind die am häufigsten verwendeten biometrischen Parameter zur fetalen Gewichtsschätzung der biparietale Durchmesser, Kopfumfang, Abdomenumfang und die Femurlänge. Mit einer Ultraschall-integrierten Software ist es möglich das fetale Gewicht durch Kombination der Parameter in einer Formel abzuschätzen, wobei die Formel nach Hadlock am häufigsten verwendet wird (Bamberg und Kalache 2004; Hadlock et al. 1984). Die Formel weist im Vergleich zu anderen Formeln bei einer Sensitivität von 72-100 Prozent und Spezifität von 41-88 Prozent die höchste Rate auf, SGA-Feten zu detektieren (Burd et al. 2009). Weiterhin sollten angepasste Wachstumskurven, welche maternale Ethnizität, Parität, Größe und Gewicht sowie Gestationsalter und fetales Geschlecht berücksichtigen, verwendet werden, da im Vergleich zu populationsbasierten Kurven sowohl weniger Fehldiagnosen gestellt werden, als auch weniger SGA-Feten übersehen werden (Gardosi et al. 1992). Bei vorliegendem Verdacht auf eine intrauterine Wachstumsrestriktion ist laut Mutterschaftsrichtlinie die Durchführung dopplersonographischer Untersuchungen indiziert (Mutterschafts-Richtlinie 2016). Bereits im ersten Trimenon ist ein dopplersonographisch erhöhter Widerstand in den Aa. uterinae mit einem fünffach erhöhten Risiko für das Auftreten einer IUGR assoziiert (Dugoff et al. 2005). Die Dopplersonographie der A. umbilicalis ermöglicht Rückschlüsse auf die Funktion der Plazenta zu ziehen und somit zwischen SGA und IUGR zu unterscheiden (Soothill et al. 1999). Bei einem normalen Flussmuster in der Umbilicalarterie ist bei kleinen Feten mit einem guten perinatalen Outcome zu rechnen (O'Dwyer et al. 2014). Da die späte Form der IUGR jedoch auf einer milden Plazentainsuffizienz beruht und der A.

umbilicalis Doppler dadurch physiologisch sein kann, ist der beste Einzelparameter die cerebroplazentare Ratio (Quotient aus Pulsatilitätsindex der A. cerebri media und Pulsatilitätsindex der A. umbilicalis), um zusätzlich die leichte Abnahme des Gefäßwiderstands im fetalen Gehirn zu ermitteln (Figueras und Gratacós 2014). Die CPR hat zwar einen hohen Vorhersagewert für das Vorliegen eines SGA-Feten im dritten Trimenon, jedoch nicht für das Auftreten von perinataler Asphyxie und Mortalität (Bonnevier et al. 2021). Ein pathologischer Doppler des Ductus venosus zeigt bei bereits früh gefährdeten IUGR-Feten eine weitere Verschlechterung des Zustands an und geht mit einem kurzfristig erhöhten Risiko für intrauterinen Fruchttod und perinataler Mortalität einher (Schwarze et al. 2005; Turan et al. 2011).

Ein Oligohydramnion als Marker für eine Plazentainsuffizienz in Zusammenhang mit einem kleinen Feten spricht für das Vorliegen einer Pathologie und geht daher in die Definition mit ein (Easter et al. 2017).

Das CTG (Cardio-Tokogramm) ist die am häufigsten durchgeführte Untersuchung um eine fetale Gefährdung zu erkennen, wobei es keine eindeutige Evidenz dafür gibt, dass dadurch das perinatale Outcome verbessert wird (Hui und Challis 2008; Grivell et al. 2015). Die in den letzten Jahren entwickelte computerbasierte CTG-Auswertung ermöglicht eine objektive Beurteilung der Kurzzeit-Variabilität (STV), wobei eine eingeschränkte STV bei IUGR-Feten ein erhöhtes Risiko für eine fetale Azidose und IUFT vorhersagen kann (Speer R 2009; Anceschi et al. 2003; Street et al. 1991).

Kongenitale Infektionen mit TORCH-Erregern (Toxoplasmose, Varizella zoster, Parvovirus B19, Listerien, Syphilis, Röteln, Cytomegalie, Hepatitis, Herpes und Humanes Immundefizienz-Virus (HIV)) (Mylonas et al. 2006) spielen bei 5-15 Prozent der IUGR-Fälle eine Rolle (Cordier et al. 2011), weiterhin ist die Malariainfektion mit einer fetalen Wachstumsrestriktion assoziiert (Briand et al. 2016). Deshalb sollte bei Diagnosestellung ein entsprechendes TORCH-Screening in Betracht gezogen werden. Weiterhin sind bei ca. 20 Prozent der IUGR-Feten chromosomale Anomalien, insbesondere Trisomie 13, 18 und 21 und kongenitale Fehlbildungen wie Gastroschisis (20 Prozent d. F.) zu beobachten (Resnik 2002; Mirza et al. 2015). Je früher die IUGR in Erscheinung tritt, desto häufiger liegt eine Aneuploidie vor (Anandakumar et al. 1996). Daher sollte eine sonographische und ggf. invasive Fehlbildungsdiagnostik (Karyotypisierung) zur weiteren Differenzialdiagnostik in Erwägung gezogen werden.

1.1.5 Management und Therapieansätze

Das Vorgehen bei einer IUGR ist eine individuelle Einzelfallentscheidung und vom klinischen Schweregrad der Ausprägung abhängig. Die Betreuung der Schwangeren und des Kindes sollte in einem Perinatalzentrum mit Maximalversorgung stattfinden. Als Überwachungsmöglichkeiten dienen Kardiotokographie und Dopplersonographie. Die Herausforderung für die Geburtshelfer besteht darin, den optimalen Entbindungszeitpunkt festzulegen und die Folgen einer iatrogenen Frühgeburt gegen die der intrauterinen Mangelversorgung, die bis hin zum fetalen Versterben in utero reichen kann, abzuwägen. Wenn die Geburt innerhalb der nächsten sieben Tage erwartet wird und das Gestationsalter zwischen der 24. und 34. SSW liegt, sollte eine Lungenreifeinduktion mit Glucocorticoiden (GC) durchgeführt werden (Committee Opinion 2017). Auch bei frühgeborenen IUGR-Feten scheint die antenatale GC-Gabe die Rate an perinataler Morbidität und Mortalität zu senken (Bernstein et al. 2000; Melamed et al. 2016). Weiterhin konnte bei drohender Frühgeburt vor der 29. SSW die Gabe von Magnesiumsulfat das Risiko für neurologische Folgeschäden bei IUGR-Feten verringert werden (Stockley et al. 2018).

Die europaweite randomisierte kontrollierte Multicenterstudie GRIT (The Growth Restriction Intervention Trial) hat bei IUGR-Feten mit einem Gestationsalter unter der 36. SSW nach abgeschlossener Lungenreifeinduktion gezeigt, dass bei einer sofortigen Entbindung zwar weniger intrauterine Fruchttode auftraten, jedoch eine erhöhte neonatale Mortalität im Vergleich zum abwartenden Verhalten zu verzeichnen war (GRIT study group 2003). Im Langzeit Follow-up nach zwei Jahren wurde eine niedrigere Rate an schweren Beeinträchtigungen bei Neugeborenen mit einem Gestationsalter unter der 31. SSW festgestellt, wenn die Entbindung hinausgezögert wurde, jedoch war sonst kein signifikanter Unterschied hinsichtlich Morbidität und Mortalität in den beiden Gruppen zu verzeichnen (GRIT study group 2004).

Es ist wichtig, zwischen der frühen und späten IUGR zu unterscheiden, da teilweise unterschiedliche Pathologien zugrunde liegen, die ein unterschiedliches Management erforderlich machen.

Die randomisierte Multicenterstudie DIGITAT (the Disproportionate Intrauterine Growth Intervention Trial At Term) hat das fetale Outcome nach Geburtseinleitung versus spontanem Geburtsbeginn bei IUGR-Feten nach der 36. SSW verglichen und konnte keine Unterschiede bezüglich Outcome und operativem Entbindungsmodus in den beiden Gruppen feststellen, jedoch eine höhere postnatale Verlegungsrate auf die Kinderintensivstation bei Geburten vor der 38. SSW (Boers et al. 2010). Die Schlussfolgerung daraus ist, dass unnötige Geburtseinleitungen vor der 38. SSW vermieden werden sollten (Trudell et al. 2013).

In der TRUFFLE (Trial of Umbilical and Fetal Flow in Europe) -Studie wurden als Indikation zur Schwangerschaftsbeendigung bei der frühen Wachstumsrestriktion auffällige Kurzzeitvariabilität im Oxford-CTG, Pulsatilitäts-Index über der 95. Perzentile im Ductus venosus und fehlende a-Welle im Ductus venosus miteinander verglichen (Lees et al. 2015). Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen bezüglich des neurologischen Outcomes der Kinder nach zwei Jahren gezeigt werden. Jedoch gab es einen Trend zu einem besseren Outcome bei Kindern, die wegen einer fehlenden a-Welle im Ductus venosus entbunden wurden, was aber mit einer erhöhten perinatalen und kindlichen Mortalität einher ging (Lees et al. 2015). Der optimale Entbindungszeitpunkt lässt sich daher am besten durch Überwachung von IUGR-Feten anhand beider Parameter, Dopplersonographie des Ductus venosus und Kurzzeit-Variabilität im Oxford CTG bestimmen (Visser et al. 2017).

Es existiert eine Vielzahl von Vorschlägen um einer IUGR vorzubeugen. Während des zweiten Weltkriegs im Winter 1944/45 kam es in den Niederlanden zu einer Hungersnot und Analysen der Geburtenkohorte aus diesem Jahrgang zeigten, dass maternale Mangelernährung im ersten und zweiten Trimenon mit einem niedrigen Geburtsgewicht assoziiert ist (Lumey 1992). Studien konnten belegen, dass Schwangere aus Ländern mit niedrigem und mittlerem Einkommen, die eine Supplementierung mit Mikronährstoffen inklusive Eisen und Folsäure erhalten, weniger Kindern mit niedrigem Geburtsgewicht und SGA gebären (Haider und Bhutta 2017). Für den Einsatz von Omega-3-Fettsäuren, Zink, Kalzium und Vitamin D liegt bisher keine ausreichende Evidenz vor (Grieger und Clifton 2014). Eine Ernährungsumstellung oder diätetische Maßnahmen werden von aktuellen Leitlinien nicht empfohlen (Kehl et al. 2017; ACOG Practice bulletin no. 134 2013).

Ein weiterer Therapieansatz besteht darin, über eine Vasodilatation die Durchblutung zu steigern und somit die fetale Versorgung mit Nährstoffen zu verbessern. Jedoch können weder Supplementierung mit der essentiellen Aminosäure L-Arginin, aus welcher Stickstoffmonoxid (NO) gebildet wird, noch die Gabe von Sildenafil, Plasmavolumenexpander, Kalziumkanal-Blocker oder Betamimetika nach derzeitiger Studienlage empfohlen werden (Spiroski et al. 2016; Groom et al. 2019; Gülmezoglu und Hofmeyr 2000 a und b; Say et al. 2001). Auch vasoaktive Hormone wie Progesteron und Östrogen konnten in Studien keinen präventiven oder therapeutischen Nutzen zeigen (Say et al. 2003a; Meher und Duley 2006). Weiterhin wurden die Auswirkungen von Bettruhe und mütterlicher Sauerstofftherapie auf das fetale Wachstum untersucht. Diese konnten jedoch keinen Vorteil zeigen (Laurin und Persson 1987; Say et al. 2003b).

Daher sind bisher lediglich präventive Vorkehrungen, wie die Planung einer Schwangerschaft mit präkonzeptioneller Ausschaltung von Risikofaktoren für eine fetale Wachs-

tumsrestriktion und eine adäquate medizinische Versorgung während der Schwangerschaft entscheidend (Grivell et al. 2009). Bei Hochrisikoschwangerschaften kann eine niedrigdosierte Gabe von Acetylsalicylsäure (ASS), die vor der 16. SSW begonnen wird, das Risiko für eine IUGR senken und wird daher von den nationalen und den meisten internationalen Leitlinien empfohlen (Roberge et al. 2017; Mccowan et al. 2018; Kehl et al. 2017). Die prophylaktische Gabe von niedermolekularem Heparin in Hochrisikoschwangerschaften kann nach aktueller Datenlage nicht empfohlen werden (Groom et al. 2017; Skeith und Rodger 2017).

In der europäischen Multicenter Kohortenstudie EVERREST werden derzeit über einen Zeitraum von sechs Jahren prospektiv Sicherheit und Nutzen einer maternalen Gentherapie mit Erhöhung von vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGF) untersucht (Spencer et al. 2017).

1.1.6 Kurzzeit- und Langzeit-Outcome / Morbidität und Mortalität

Die Intrauterine Wachstumsrestriktion und Frühgeburtlichkeit sind die häufigsten Ursachen für neonatale Morbidität und Mortalität (Meyberg et al. 2000). Gleichzeitig sind die beiden Krankheitsbilder eng miteinander assoziiert (Zeitlin et al. 2000; Ott 1993).

Frühgeborene IUGR-Feten haben im Vergleich zu normalgewichtigen Frühchen ein erhöhtes Risiko für das Auftreten respiratorischer Komplikationen wie bronchopulmonale Dysplasie mit Ausbildung einer pulmonalen Hypertonie und Entwicklung einer chronischen Lungenerkrankung mit Bedarf einer Heimsauerstofftherapie (Sasi et al. 2015; Check et al. 2013). Weiterhin kommt es bei frühgeborenen IUGR-Feten signifikant häufiger zu einem Atemnotsyndrom, Hirnblutungen, nekrotisierender Enterokolitis und einer Retinopathie (Bernstein et al. 2000; Gilbert und Danielsen 2003; Lee et al. 2015; Garite et al. 2004).

Reifgeborene wachstumsretardierte Neugeborene haben ein erhöhtes Risiko für eine perinatale metabolische Azidose, Asphyxie, Hypoglykämie, Hypothermie, Hyperbilirubinämie und Polyzytämie (Perrotin et al. 2013; Doctor et al. 2001; Sharma et al. 2016). Weiterhin haben Neugeborene mit einem Geburtsgewicht unterhalb der 3. Perzentile einen niedrigen 5-Minuten Apgar-Score, müssen häufiger intubiert werden und die Inzidenz für Sepsis und Tod in der Neonatalperiode ist erhöht (McIntire et al. 1999). Das Risiko für Periventrikuläre Leukomalazie, Mekoniumaspiration, Krampfanfälle und Zerebralparese ist ebenfalls erhöht (Beckerath et al. 2013; Blair und Nelson 2015). Eine retrospektive Kohortenanalyse konnte keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich des perinatalen Outcomes bei fetaler Wachstumsrestriktion feststellen (Quiñones et al. 2005).

Bei früh- und reifgeborenen Kindern ist die Wachstumsrestriktion außerdem mit neurologischen Entwicklungsstörungen assoziiert, was sich in Kognitions- und Verhaltensauffälligkeiten sowie Schulschwierigkeiten äußert (Guellec et al. 2011; Hollo et al. 2002; van Wassenaer 2005).

Innerhalb der ersten sechs Lebensmonate zeigen die meisten SGA-Kinder ein Aufholwachstum, weisen danach aber eine niedrigere Körperhöhe, ein niedrigeres Gewicht und einen kleineren Kopfumfang als eutrophe Kinder auf (Hediger et al. 1998; Karlberg und Albertsson-Wikland 1995).

Weiterhin spielt ein niedriges Geburtsgewicht eine Rolle beim Auftreten endokriner und psychischer Störungen bei Jugendlichen. Bei jungen Männern zeigte sich ein Zusammenhang zwischen pränataler Mangelernährung und der Entwicklung einer schizoiden Persönlichkeitsstörung und antisozialen Verhalten (Hoek et al. 1996; Neugebauer et al. 1999). Bei Mädchen scheint ein niedriges Geburtsgewicht mit einem erhöhten Risiko für eine verfrühte Adrenarche und dem Syndrom polyzystischer Ovarien einher zu gehen (van Weissenbruch 2007; Sadrzadeh et al. 2017). Die Folgen eines verringerten fetalen Wachstums können bis in das Erwachsenenalter hineinreichen. Für Betroffene besteht ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Hypertonus, die Entwicklung von Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes mellitus Typ 2 und Hyperlipidämie und eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität (Osmond und Barker 2000).

1.2. Die Plazenta

1.2.1 Entwicklung und Aufbau der humanen Plazenta

Siebzig Prozent aller IUGR-Fälle lassen sich durch eine Plazentainsuffizienz erklären, wobei eine abnormal flache Trophoblastinvasion zu einer mangelhaften Umwandlung der Spiralarterien und zur Zottenarchitekturstörung führt (Schneider et al. 2007; Tang et al. 2017).

Die Blastozyste nistet sich am Anfang der zweiten SSW post conceptionem in das rezeptive Endometrium ein, welches von nun an als Dezidua bezeichnet wird. Dabei differenziert sich die Blastozyste zum Embryoblast, welcher sich zum Fetus weiterentwickelt und dem Trophoblast, aus welchem die Plazenta gebildet wird. Der Trophoblast besteht aus zwei Zellreihen, dem inneren teilungsaktiven Zytotrophoblast, dessen Zellen in den äußeren Syncytiotrophoblast (SCT) wandern (Weyerstahl und Stauber 2013). Die eigentliche Entwicklung der Plazenta beginnt mit der Fusion von einkernigen Trophoblastzellen zu einem mehrkernigen Synzytium (Schneider et al. 2007).

Nach der Implantation folgt die lakunäre Periode, in welcher sich im SCT Hohlräume, sog. Lakunen, bilden, welche von SCT-Bälkchen (Trabekeln) durchzogen werden

(Aumüller und Wurzinger 2010). Die Trophoblastinvasion führt zur Arrosion mütterlicher Kapillaren, wodurch mütterliches Blut in die Trophoblastlakunen einfließt (Weyerstahl und Stauber 2013). Zwischen dem 12. und 15. Tag p.c. dringen Zytotrophoblastzellen in die Trabekel ein, dadurch bilden sich die Primärzotten (Villi) (Aumüller und Wurzinger 2010). Diese ragen in die blutgefüllten Lakunen, was zu dem Begriff des intervillösen Raumes führt und zur Entstehung des utero-plazentaren Kreislaufs beiträgt (Aumüller und Wurzinger 2010). Im utero-plazentaren Kreislauf wandern Trophoblasten in die Spiralarterien des Endometriums ein und wandeln diese in weit dilatierte uteroplazentare Arterien um, wodurch der uteroplazentare Strömungswiderstand abnimmt, während der maternale Blutfluss im intervillösen Raum exponentiell steigt (Maulik et al. 2006).

Die Primärzotten wandeln sich durch Einwanderung von extraembryonalem Mesoderm in Sekundärzotten um (Welsch 2010). Ab der vierten Woche entstehen Blutkapillaren, die zum embryonalen Herzen führen, man spricht nun von Tertiärzotten (Welsch 2010). Damit ist die Grundlage für den fetoplazentaren Kreislauf gebildet (Aumüller und Wurzinger 2010). Die Form der hämochorialen Plazentation stellt sicher, dass die Kapillaren des fetoplazentaren Kreislaufs vor Druck- und Perfusionsschwankungen in uteroplazentaren Gefäßen geschützt werden (Sankaran und Kyle 2009).

Fetaler und maternaler Kreislauf sind durch die Plazentaschranke voneinander getrennt, welche zu Beginn der Schwangerschaft aus dem SCT, dem Zytotrophoblast, der Basallamina, Bindegewebe und dem fetalen Endothel besteht, später nur noch aus SCT, Basallamina und Endothel (Fritsch und Kühnel 2018).

Die Plazenta ist in der 13. SSW ausgereift und besteht aus der dem Embryo zugewandten Chorionplatte, dem davon ausgehenden Zottensystem und der zur mütterlichen Seite gewandten Basalplatte (Welsch 2010). Von der Basalplatte ausgehende Septen unterteilen die Plazenta in sog. Kotelydonen, die jeweils zwei oder mehr Zottenbäume enthalten und miteinander in Verbindung stehen (Weyerstahl und Stauber 2013). Die Plazenta wird durch Haftzotten zusammengehalten, welche den intervillösen Raum durchqueren und an der Basalplatte verankert sind (Zilles und Tillmann 2010). Außerdem führen außerhalb der Zotten vorkommende fetale Zellen, sog. Extravillöse Trophoblasten (EVT), durch ihr invasives Wachstum und proteolytische Aktivität zur Verankerung in der Uteruswand (Zilles und Tillmann 2010). Am Geburtstermin liegt der Durchmesser der Plazenta bei ca. 20 cm, die Dicke bei 2-4 cm und das Gewicht von etwa 500 g sollte bei unkomplizierten Schwangerschaften signifikant mit dem Geburtsgewicht des Kindes korrelieren (Weyerstahl und Stauber 2013). Dies bedeutet, dass Plazenten von IUGR-Feten kleiner sind als die von eutrophen Feten (Heinonen et al. 2001; Teasdale 1984).

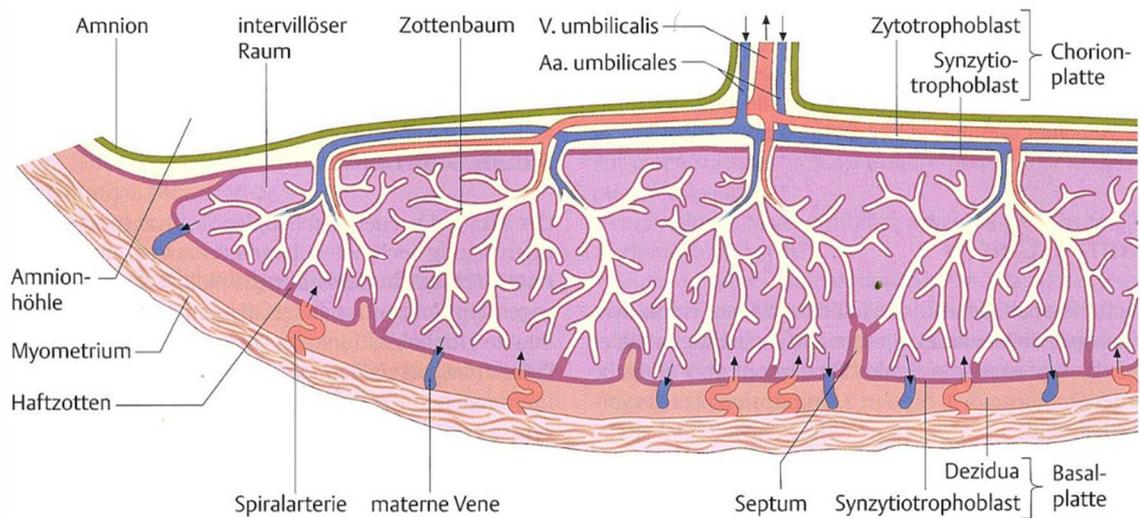


Abbildung 1: Aufbau einer reifen Plazenta (Weyerstahl und Stauber 2013)

1.2.2 Funktion der humanen Plazenta

Die häufigste Ursache für eine IUGR (80-90 Prozent der Fälle) ist eine mangelhafte Versorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff über die Plazenta (Bauer et al. 2003). Neben einer adäquaten Trophoblasteninvasion, einer Erhöhung des uteroplazentaren Blutflusses während der Schwangerschaft, ist der Transport von Nährstoffen wie Glukose und Aminosäuren von der Mutter zum Fetus sowie die Produktion und Übertragung wachstumsregulierender Hormone entscheidend (Murphy et al. 2006).

Die in der Nabelschnur verlaufende Umbilicalvene führt dem Fetus mit Sauerstoff und Nährstoffen angereichertes Blut zu. Sauerstoffarmes und mit Abbauprodukten beladenes Blut gelangt über zwei Umbilicalarterien zurück zur Plazenta. Damit Nährstoffe, Stoffwechselendprodukte und Gase die Plazentaschranke passieren können, existieren verschiedene Transportmechanismen, welche in Tabelle 3 nach Weyerstahl et al. (Weyerstahl und Stauber 2013) dargestellt werden:

Tabelle 3: Transportmechanismen der Plazenta

Vorgang	Substanz
Aktive Austauschmechanismen:	
Aktiver Transport	Anorganische Ionen, Fettsäuren, Aminosäuren, Vitamine, Hormone
Pinozytose	Proteine, Lipide, IgG
Passive Austauschmechanismen:	
Einfache Diffusion	O ₂ , CO ₂ , Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, Wasser, Medikamente
Erleichterte Diffusion	Glukose, Laktat
Diapedese	Erythrozyten, Leukozyten, Medikamente mit Molekulargewicht über 600, Viren, Bakterien, Protozoen

Neben diesen zahlreichen metabolischen Funktionen, besitzt die Plazenta auch Eigenschaften als endokrines Organ. Die Hormonproduktion von humanem Choriogonadotropin (hCG, dient auch zum Schwangerschaftsnachweis), Östrogen und Progesteron (Aufrechterhaltung der Schwangerschaft) sowie humanem Plazenta-Laktogen (hPL, stellt mütterliche Glucose und Fettsäuren für den Fetus bereit), findet im SCT statt (Welsch 2010).

Auch wenn die Plazenta selbst keine GCs synthetisiert, schützt das im SCT lokalisierte Enzym 11-beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (11 β -HSD) den Fetus vor maternalen GC-Exzessen, um eine daraus folgende fetale Wachstumsrestriktion zu verhindern (Huppertz und Schleußner 2018). Weiterhin exprimiert die Plazenta mehrere GR-Isoformen (Saif et al. 2014). Die immunsuppressiven Eigenschaften dieser Hormone tragen neben MHC-I-Molekülen und Zytokinen dazu bei, dass der Fetus als Allo-Transplantat nicht abgestoßen wird (Welsch 2010).

1.2.3 Die Chorionkarzinomzelllinie BeWo als Trophoblastzellmodell

In kultivierten Plazentaexplantaten kommt es nach 7-24 Stunden zu einer Apoptose der Trophoblasten (Di Santo et al. 2003). Weiterhin kommt es beim Geburtsvorgang, ebenso bei primären Sectiones, zu ischämiebedingten Gewebeveränderungen, so dass *ex-vivo*-Analysen erschwert durchführbar sind (Di Santo et al. 2003; Bloxam und Bobinski 1984; Kaufmann 1985).

Die Chorionkarzinomzelllinie BeWo wurde als Trophoblastzellmodell für *in vitro*-Analysen im Jahre 1968 von Pattillo et al. (Pattillo et al. 1968) etabliert.

Chorionkarzinomzellen entwickeln sich aus Trophoblasten und weisen daher die gleichen morphologischen und funktionellen Merkmale wie die Produktion plazentarer Hormone auf (Wadsack et al. 2003; Grümmer et al. 1994).

Daher dient das Trophoblastzellmodell als effektives Arbeitsmittel um die Biologie und endokrine Funktion von Trophoblastzellen sowie die Plazentaentwicklung zu verstehen (King et al. 2000).

1.3 Glucocorticoide

GCs sind Steroidhormone, die ausgehend von Cholesterol in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde gebildet werden (Nicolaidis et al. 2000; Zhou und Cidlowski 2005). Sie werden unter der Kontrolle der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPA) auf ultradiane, circadiane und stressabhängige Weise in das periphere Blut sezerniert (Nicolaidis et al. 2017; Zhou und Cidlowski 2005).

Das natürliche menschliche GC ist Cortisol, welches über negative Rückkopplung die Sekretion des Corticotropin-Releasing-Hormons (CRH) aus dem Hypothalamus und des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen reguliert (Chatuphonprasert et al. 2018).

Glucocorticoide regulieren beim Menschen ein breites Spektrum lebenswichtiger physiologischer Funktionen und spielen eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der basalen und stressbedingten Homöostase (Nicolaidis et al. 2009). Sie sind an fast jedem zellulären, molekularen und physiologischen Vorgang des Organismus beteiligt und spielen eine entscheidende Rolle bei biologischen Prozessen, wie Wachstum, Fortpflanzung, Apoptose, Stoffwechsel, Verhalten, Immun- und Entzündungsreaktionen sowie des zentralen Nerven- und Herz-Kreislauf-Systems (Nicolaidis et al. 2009; Zhou und Cidlowski 2005).

CRH ist in der Plazenta vor allem im Synzytiotrophoblasten und intermediären Trophoblast lokalisiert und an der Reifung der fetalen HPA-Achse beteiligt (Riley et al. 1991). Bei Frühgeburten kann ein Anstieg des CRH-Spiegels im mütterlichen Kreislauf beobachtet werden, während er bei Geburten nach dem errechneten Entbindungstermin signifikant vermindert ist (McLean et al. 1995).

Das Corticosteroid-bindende Globulin (CBG), welches die GCs im Plasma transportiert und somit die Konzentration an freiem, biologisch aktiven Cortisol begrenzt, steigt in der physiologischen Schwangerschaft deutlich an (Potter et al. 1987).

Das Enzym 11 β -HSD katalysiert die Umwandlung von aktivem Cortisol in das inaktive Cortison (Krozowski et al. 1999). Die Isoform 11 β -HSD2 ist in hohen Konzentrationen im SCT der Plazenta vorhanden, um den Fetus so vor hohen maternalen GC-Spiegeln zu schützen (Krozowski et al. 1995). So wird der größte Anteil an maternalem Cortisol bei

der Plazentapassage inaktiviert und bei Geburt stammen etwa drei Viertel des zirkulierenden Cortisols aus der fetalen Nebenniere (Beitins et al. 1973). Eine fetale Nebennierenhypertrophie führt daher zu einer erhöhten GC-Aktivität (Sankaran und Kyle 2009). Weiterhin sind GCs eine der am häufigsten verwendeten Therapeutika, die insbesondere bei der Behandlung von entzündlichen, autoimmunen und lymphoproliferativen Erkrankungen eingesetzt werden (Nicolaidis et al. 2009; Zhou und Cidlowski 2005). In der Schwangerschaft werden GCs hauptsächlich zur Prophylaxe von neonataler Morbidität und Mortalität bei einer drohenden Frühgeburt sowie bei Feten mit kongenitaler Nebennierenhyperplasie eingesetzt (Seckl und Meaney 2004). Dadurch lässt sich laut einer Cochrane Metaanalyse die Prävalenz für Respiratory-Disstress-Syndrom, Intraventrikuläre Hämorrhagie, Nekrotisierende Enterokolitis, mechanische Beatmung und systemische Infektionen in den ersten 48 Lebensstunden reduzieren, worauf sich auch die Empfehlungen zur Applikation antenataler Steroide in der aktuellen nationalen Leitlinie zur „Prävention und Therapie der Frühgeburt“ stützen (Roberts et al. 2017; Berger et al. 2019). Die Wirkung der GCs wird über den intrazellulären GC-Rezeptor (NR3C1) vermittelt (Kino und Chrousos 2004).

1.3.1 Der Glucocorticoidrezeptor

Die Wirkung der GCs wird durch den Glucocorticoid-Rezeptor (GR) vermittelt, der als ligandenabhängiger Transkriptionsfaktor fungiert und gemeinsam mit den Rezeptoren für Steroide, Retinsäure und Schilddrüsenhormone zur der Superfamilie der Kernrezeptoren gehört (Chrousos 2004). Die Kernrezeptoren sind nach dem gleichen Prinzip aufgebaut, wobei essentielle Strukturelemente die C-terminale Ligandenbindungsdomäne (LBD), die N-terminale Transaktivierungsdomänen (NTD) und DNA-Bindungsdomänen (DBD, enthält 2 sog. Zinkfinger motive) sind (Mangelsdorf et al. 1995). Die Aminosäuresequenz des GR wurde zuerst von Hollenberg beschrieben (Hollenberg et al. 1985) und ist auf Chromosom 5q31-32 lokalisiert (Gehring et al. 1985). Der GR besteht aus 9 Exons hat eine Größe von mindestens 80 Kilobasen (Encío und Detera-Wadleigh 1991). Unter basalen Bedingungen liegt der GR im Zytosol als Multiproteinkomplex gebunden an Chaperone (HSP90, HSP70, P23) und Immunophiline (FKBP4, FKBP5) vor (Pratt und Toft 1997).

Bindet ein GC-Molekül an seinen Rezeptor, erfährt dieser eine Konformationsänderung und dissoziiert von den Hitzeschockproteinen ab, um in den Zellkern zu wandern (Bohen und Yamamoto 1993). Im Kern reguliert der aktivierte GR die Transkription durch direkte Bindung an bestimmte DNA-Sequenzen, sog. Glucocorticoid Response Elements (GRE), die in der Promotorregion des Zielgens lokalisiert sind (Zhou und Cidlowski 2005). Alternativ kann der ligandengebundene GR an negative GREs (nGREs) in der Promotorregion von Zielgenen binden, um die Transkription zu unterdrücken (Zhou und

Cidlowski 2005). Weiterhin inhibiert der GR viele proinflammatorische Gene durch Induktion der Synthese von entzündungshemmenden Proteinen sowie durch Unterdrückung proinflammatorischer Transkriptionsfaktoren, wie z. B. Kernfaktor kappaB (NF-kappaB) oder Aktivatorprotein-1 (AP-1) (Smoak und Cidlowski 2004).

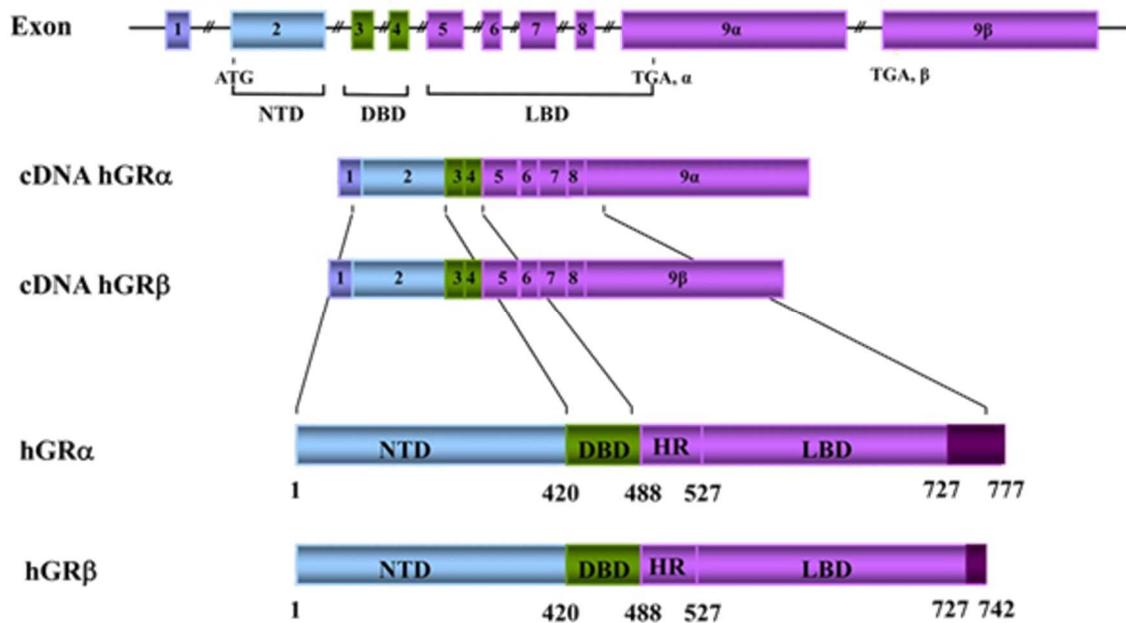


Abbildung 2: Schematische Darstellung des menschlichen GR (Nicolaides et al. 2009)

Durch alternatives Spleißen entstehen mehrere Varianten, von denen aufgrund ihrer Häufigkeit die Isoformen GR α und GR β besonders im Fokus wissenschaftlicher Studien stehen (Lu und Cidlowski 2006). Das Molekulargewicht der beiden Rezeptor-Isoformen beträgt 97 bzw. 94 Kilo-Dalton (Nicolaides et al. 2009). Die beiden Isoformen unterscheiden sich außerdem an ihrem C-Terminus, wobei die α-Form aus 777 und die β-Form aus 742 Aminosäuren besteht (Hollenberg et al. 1985). Der GR α wird in allen menschlichen Zellen und Geweben exprimiert und liegt im Zytosol vor (Kino et al. 2009b).

Im Gegensatz dazu befindet sich der GR β hormonunabhängig wahrscheinlich vorwiegend im Zellkern und bindet weder den GC-Agonist Dexamethason, noch den GC-Antagonist RU38486 in vivo (Oakley et al. 1996). In Abwesenheit von GR α ist GR β transkriptionell inaktiv, wenn die beiden Rezeptor-Isoformen jedoch in derselben Zelle exprimiert werden, fungiert GR β als dominant negativer Inhibitor von GR α (Oakley et al. 1996). Andere Untersuchungen zeigten, dass in Gegenwart von GCs GR β wahrscheinlich mit ligandengebundenem GR α heterodimerisiert und in den Kern transloziert, um als dominanter negativer Inhibitor des GR α zu wirken (Castro et al. 1996).

Der GR β scheint die Transkription primär indirekt durch Wechselwirkung mit anderen Transkriptionsfaktoren, Cofaktoren und Chromatin assoziierten Molekülen zu modulieren, anstatt direkt an GREs zu binden (Kino et al. 2009a).

Als endogener Inhibitor der GC-Wirkung, ist der GR β so an der Glucocorticoidsensitivität von Zielgeweben beteiligt (Bamberger et al. 1995).

1.4 Epigenetik und Histonmodifikationen

Der Begriff Epigenetik wurde erstmalig im Jahr 1942 von dem britischen Entwicklungsbiologen Conrad Hal Waddington als „der Zweig der Biologie, der die kausalen Wechselwirkungen zwischen Genen und ihren Produkten, die den Phänotyp hervorbringen, untersucht“, definiert (Waddington 2012).

Epigenetische Veränderungen sind bei Schwangerschaftskomplikationen von Bedeutung, da sie zu einem veränderten Phänotyp der Plazenta und des Feten führen können (Roman C 2014; Gheorghe et al. 2010). Die epigenetische Genregulation findet auch in der Plazenta auf drei Ebenen statt, dazu gehören DNA-Methylierung, Histonmodifikation und nicht-codierende RNA (Nelissen et al. 2011).

Im Weiteren soll auf die Histonmodifikation eingegangen werden:

Die Verpackungsproteine der DNA werden als Histone bezeichnet. Sie bilden gemeinsam das Nukleosom, indem sich je zwei der vier Histone H2 A, H2 B, H3 und H4 zu einem Oktamer zusammenlagern, um welches sich die DNA aus 147 Basenpaaren (bp) zweimal windet. Das Chromatin entsteht durch die Verbindung der Nukleosomen miteinander, was durch das Histon H1 gewährleistet wird. Die N- und C-terminalen Enden ragen aus dem Nukleosom heraus und bieten somit einen Angriffspunkt für posttranslationale Modifikationen, wie Methylierung, Acetylierung, Ubiquitylierung und Phosphorylierung (Zhang et al. 2015; Arnaudo und Garcia 2013). Die Histonacetylierung führt hauptsächlich zu einer Genaktivierung, während die Methylierung, je nach Position und Zustand sowohl zu einer Genrepression, als auch zu einer Aktivierung führen kann (Wang et al. 2008).

Bei der Histonacetylierung wird eine negativ geladene Acetylgruppe an Lysinreste der Histonproteine übertragen (Gräff und Tsai 2013). Dadurch wird die positive Ladung an den Lysinresten neutralisiert, was die Affinität zur DNA verringert und somit die Zugänglichkeit für Transkriptionsfaktoren an die Chromatinstruktur erhöht (Hong et al. 1993; Struhl 1998). Die Histonacetylierung wird durch die antagonistischen Funktionen der Histonacetyltransferasen (HATs) und Histondeacetylasen (HDACs) reguliert (Woo et al. 2017). Die HATs werden in die drei Untergruppen MYST (MOZ, Ybf2/Sas3, Sas2, Tip60), GNAT (Gcn5 related N-acetyltransferase) und p300 eingeteilt (Berndsen und Denu 2008). Die Acetylierung der Lysinreste von H3 findet hauptsächlich an den Positionen K9, K14, K18, K23 and K27 statt (Wirén et al. 2005).

Beim Menschen sind 18 HDAC Enzyme bekannt, die sich in vier Klassen einteilen lassen: Klasse I Rpd3-like Proteine (HDAC1, HDAC2, HDAC3, and HDAC8); Klasse II Hda1-like Proteine (HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 und HDAC10); Klasse

III Sir2-like Proteine (SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6, and SIRT7) und Klasse IV Proteine (HDAC11) (Seto und Yoshida 2014). Die Lysinacetylierung reguliert zahlreiche Prozesse wie DNA-Protein-Wechselwirkung, Transkriptionsaktivität, Stabilität und Signalwege, welche auch beispielsweise bei Krebs, neurodegenerativen- und Herz-Kreislaufkrankungen von Bedeutung sind (Peserico und Simone 2011).

Die Methylierung der Histone kann an Lysin (K)- und Argininresten (R) stattfinden und führt zu einer Änderung der Chromatinstruktur, entweder Kondensation oder Entspannung (Bannister und Kouzarides 2005). Es ist jedoch unwahrscheinlich, dass die relativ kleine Methylgruppe alleine zu einer Neutralisierung der Ladung beiträgt und zu einer Änderung der Chromatinstruktur führt, vielmehr schafft sie Bindungsstellen für regulatorische Proteine, die spezielle Bindungsdomänen enthalten (Bannister und Kouzarides 2005).

Die Methylierung von Lysinresten der Histone wird durch die Methyltransferasen (KMTs) und Demethylasen (KDMs) reguliert, wobei beispielsweise die H3K4-Methylierung mono-, di- oder trimethyliertes H3K4me (H3K4me1, H3K4me2 bzw. H3K3me3) erzeugt, während nicht methyliertes H3K4me als Kontrollsystem dient (Black et al. 2012; Collins et al. 2019). Argininreste können mono- oder dimethyliert (asymmetrisch oder symmetrisch) werden (Kouzarides 2007). Die am häufigsten untersuchten Methylierungsstellen sind bei H3 Lysin 4 (H3K4), H3K9, H3K27, H3K36, H3K79 und H4K20 (Greer und Shi 2012). Beim Menschen sind sechs H3K4-Methyltransferasen bekannt, welche zur Set1/COMPASS-Familie gehören (Shilatifard 2012).

Es sind bisher über zwanzig Demethylasen entdeckt und charakterisiert worden, welche entweder zur LSD (Lysin Specific Demethylase) - oder JmjC (Jumonji C)-Familie gehören (Shi und Tsukada 2013).

Die klinische Bedeutung der KMTs und KDMs besteht sowohl in einer normalen embryonalen Entwicklung, als auch bei der Genese neurologischer Erkrankungen sowie Tumoren unterschiedlicher Organsysteme, was für die Targeted Therapy zunehmend an Bedeutung gewinnt (Kooistra und Helin 2012; Husmann und Gozani 2019).

1.5 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Die IUGR ist eine Störung des fetalen Wachstums multifaktorieller Genese, welche mit einer erhöhten peri- und postnatalen Morbidität und Mortalität assoziiert ist (Hasmasanu et al. 2015).

Obwohl die IUGR häufig aus einer Plazentainsuffizienz resultiert, sind die molekularen Mechanismen, die an der Pathogenese der IUGR beteiligt sind und insbesondere der Mechanismus der fetalen Programmierung, weitgehend unbekannt (Monk 2015).

Grundlage für die fetale Programmierung ist die Barker-Hypothese, welche den Zusammenhang zwischen einer IUGR und der Entwicklung eines metabolischen Syndroms im Erwachsenenalter beschreibt (Osmond und Barker 2000).

GCs sind essenziell für die fetale Organreifung aber auch mit einem verringerten fetalen Wachstum assoziiert (Chatuphonprasert et al. 2018). Weiterhin wurden epigenetische Veränderungen als Ursache beobachtet.

Eine kürzlich erschienene Studie zeigte, dass die menschliche Plazenta mehrere GR-Isoformen exprimiert und ein Zusammenhang zur fetalen Wachstumsrestriktion und dem fetalen Geschlecht besteht. (Saif et al., 2014).

GC-Konzentrationen wurden zwar bereits im Serum von IUGR-Feten bestimmt, jedoch wurde die Expression der beiden Rezeptor-Isoformen GR α und β noch nicht in IUGR-Plazenten untersucht.

Weiterhin deuten aktuelle Erkenntnisse darauf hin, dass geschlechtsspezifische Adaptationen der Plazenta für Unterschiede beim fetalen Wachstum und Überleben von zentraler Bedeutung sind und somit bei der wissenschaftlichen Praxis berücksichtigt werden sollten (Clifton 2010).

Daher haben wir die Expression der GR α und β sowie der Histonproteine H3K4me und H3K9ac in IUGR-Plazenten untersucht und geschlechtsabhängige Unterschiede aufgezeigt.

Ziel dieser Arbeit war somit, den Einfluss von GCs und Histonmodifikationen auf die IUGR, unter Berücksichtigung des fetalen Geschlechts, zu untersuchen. Diese Erkenntnisse könnten eine Grundlage für weitere Forschung, auch in Hinblick auf Therapieansätze für dieses Krankheitsbild, liefern.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Patientenkollektiv

An dieser Untersuchung nahmen insgesamt 29 Patientinnen teil, die nach der Entbindung in der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München, Maistraße, ihre Plazenta zur Verfügung stellten. Bei den Feten von 14 dieser Patientinnen wurde pränatal eine IUGR diagnostiziert, während die weiteren 15 Patientinnen einen unauffälligen Schwangerschaftsverlauf hatten (Kontrollgruppe). In diesem Studienkollektiv wurde der Grenzwert zur Diagnosestellung einer IUGR bei einem Geburtsgewicht unterhalb der 5. Perzentile in Bezug auf das Gestationsalter festgelegt (Minas et al. 2007).

Zur Bestätigung des Gestationsalters musste eine Ultraschalluntersuchung mit Messung der Scheitel-Steiß-Länge aus der Frühschwangerschaft vorliegen und die Diagnose IUGR wurde nach der Entbindung reevaluiert, anderenfalls wurde die Patientin aus der Studie ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien dieser Studie waren vorbestehende chronische Erkrankungen der Schwangeren, wie arterieller Hypertonus, Nieren- und Herzerkrankungen, Diabetes mellitus und Bindegewebserkrankungen sowie andere Schwangerschaftskomplikationen im Sinne von Gestationsdiabetes, Amnioninfektionssyndrom und Präeklampsie.

Bei der Auswahl der Studienteilnehmerinnen wurde außerdem auf eine gleichmäßige Verteilung des fetalen Geschlechts geachtet. In der IUGR-Gruppe fanden sich jeweils 7 Plazenten von männlichen und weiblichen Feten, während in die Kontrollgruppe 7 weibliche und 8 männliche Plazenten eingeschlossen waren. Weitere klinische Kriterien der vier Gruppen sind in Tabelle 4 dargestellt.

Die Diagnose IUGR war für die Frühgeburtlichkeit in dieser Gruppe verantwortlich. Die Studie wurde durch das Ethik-Komitee der LMU München genehmigt (Nr. 158/00) und die Einverständniserklärung lag von allen Patientinnen in schriftlicher Form vor.

Tabelle 4: Klinische Kriterien des Studienkollektivs

	IUGR		Kontrollen	
	Männlich	Weiblich	Männlich	Weiblich
Gestationsalter bei Entbindung (in Wochen)	33 (SD 3.27)	37 (SD 4.30)	40 (SD 1.6)	40 (SD 0.9)
Kindliches Geburtsgewicht (in Gramm)	1400 (SD 496.65)	1950 (SD 625.7)	3157.5 (SD 480.3)	3440 (SD 249.19)
Nabelschnur pH	7.32 (SD 0.04)	7.36 (SD 0.08)	7.3 (SD 0.09)	7.39 (SD 0.08)
Apgar-Score nach 5 Min.	9 (SD 1.52)	9.5 (SD 2.34)	10 (SD 0)	10 (SD 0)
Apgar-Score nach 10 Min.	10 (SD 1.73)	10 (SD 1.6)	10 (SD 0)	10 (SD 0)
Mütterliches Alter (in Jahren)	32 (SD 5.43)	31 (SD 3.45)	30,5 (SD 6.4)	33 (SD 5.20)

2.1.2 Gewinnung des plazentaren Gewebes

Direkt nach der Entbindung wurde aus einem zentral gelegenen, gut durchbluteten Teil der Plazenta ein ca. 2x2 cm messender Gewebekblock entnommen. Es wurde darauf geachtet, dass dieser Dezidua, villöse und extravillöse Trophoblasten sowie Amnio-epithel enthält. Die Gewebeprobe wurde sofort in 4% neutral gepuffertem Formalin für 24 Stunden fixiert, um eine Autolyse zu verhindern. Danach wurden die Gewebeprobe in organischem Lösungsmittel entwässert und anschließend in Paraffin eingebettet.

2.1.3. Verwendete Materialien

Tabelle 5: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien

Gerät/Verbrauchsmaterial	Herstellerinformation
7500 Fast Real-Time PCR	Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland
Adhesive Film (Abdeckfolie) MicroAmp®	Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland
AxioCam	Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland
CO ₂ - Inkubator	Heraeus
Chamberslides, 8-Well	Nalge-Nunc, Rochester, USA
CO ₂ -Flasche	Linde, München, Deutschland
Deckgläser	Thermo Scientific, Menzel, Braunschweig, Deutschland
Dampfkochtopf vitavit®	Fissler GmbH, Idar-Oberstein, Deutschland
Elektrische Pipettierhilfe Easypet	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Eppendorf Reaktionsgefäße	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Falcons	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Feuchtkammer	Aus Eigenherstellung
Fluoreszenzmikroskop Axioskop	Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland
Gefrierschrank, - 20°C	Siemens, München, Deutschland
Gefrierschrank, - 80°C	Thermo Scientific, Waltham, USA
Kamerasystem	JVC, Yokohama, Japan
Kühlschrank, 4°C	Liebherr, Biberach an der Riss, Deutschland
Lichtmikroskop	Leitz, Wetzlar, Deutschland
Magnetrührer IKA-COMBIMAG RCH	IKA GmbH&Ko KG, Staufen, Deutschland
Mastercycler® Gradient	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Mikrotom Hn40	Reichert-Jung, Buffalo, USA

NanoPhotometer TM	Implen GmbH, München, Deutschland
Neubauer-Zählkammer	Marienfeld, Lauda-Königshofen, Deutschland
Objektträger Superfrost®	Menzel, Braunschweig, Deutschland
Optical Fast 96-Well-Platte	Applies Biosystems, Foster City, USA
PCR Sterile Bank Captair	Erlab, Val de Reuil cedex, Frankreich
pH-Meter	Schott, Mainz, Deutschland
Pipetten	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Quadriperm	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Scanning microscope und Software	PreciPoint GmbH, Freising, Deutschland
Steril Bank Uniflow UV 1200 mini	Kendro Laboratory Products, Asheville, USA
Stickstofftank	Taylor Wharton GmbH, Milstedt, Deutschland
Thermomixer Comfort	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Tischzentrifuge Mini Spin®	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Vortex Genie 2	Bender&Hobein, Bruchsal, Deutschland
Zellkulturflasche	Falcon Becton Dickinson Labware, New-Jersey, USA
Zentrifuge	Hermle, Wehingen, Deutschland

Tabelle 6: Verwendete Chemikalien

Chemikalie	Herstellerinformation
0,1 M Citronensäure	Merck, Darmstadt, Deutschland
0,1 M Na ⁺ -Citrat	Merck, Darmstadt, Deutschland
AEC+ High Sensitivity Substrate Chromogen Ready to use	Dako, Glostrup, Dänemark
Aqua dest.	Apothekenbedarf der LMU München
Aquatex	Merck, Darmstadt, Deutschland

Dako Antibody Diluent	Dako, Glostrup, Dänemark
DEPC treated DI water	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
DMEM	Biochrom AG, Berlin, Deutschland
Ethanol 50%, 70%, 96%, 100%	Apothekenbedarf der LMU München
Eukitt®	O. Kindler, Freiburg, Deutschland
FCS	Biochrom AG, Berlin, Deutschland
High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit	Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland
Liquid DAB+Substrat Chromogen System	Dako, Glostrup, Dänemark
Mercaptoethanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
NucleoSpin®RNAII Kit	Macherey-Nagel, Düren, Deutschland
PBS Dulbecco w/o Ca ²⁺ , w/o Mg ²⁺	Biochrom AG, Berlin, Deutschland
Prednisolon ("Prednisolut" = Prednisolone-21-hydrogensuccinate, 250 mg)	Mibe GmbH, Brehna, Deutschland
Saures Hämalalaun nach Mayer	Apothekenbedarf der LMU München
TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix	Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland
Trypanblau	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Trypsin	Biochem, Karlsruhe, Deutschland
Ultra V Block	Thermo Scientific, Waltham, USA
Vectashield Mounting Medium with DAPI	Vector Laboratories, Burlingame, USA
Vectastain Elite rabbit-IgG-Kit	Linaris, Dossenheim, Deutschland
Verdünnungsmedium	Dako, Glostrup, Dänemark
Wasserstoffperoxid	VWR International S.A.S., West Chester, USA
Xylol	Roth, Karlsruhe Deutschland

Tabelle 7: Lösungsansätze

Lösung	Gebrauchsanleitung
3%ige Wasserstoffperoxidlösung	6 ml 30%iges H ₂ O ₂ + 194 ml Methanol
ABC-Komplex (graue Flasche)	4 Tropfen Reagenz A + 4 Tropfen Reagenz B + 10 ml steriles PBS
Blockierungsserum (gelbe Flasche)	3 Tropfen Goat-Normalserum (Rabbit-Kit) + 10ml steriles PBS
DAB	1 ml Substratpuffer + 1 Tropfen DAB-Chromogen
Na+-Citratpuffer	Lösung A: 21,01 g 0,1 M Citronensäure + 1 l Aqua dest. Lösung B: 29,41 g 0,1 M Na-Citrat + 1 l Aqua dest. 18 ml Lösung A + 82 ml Lösung B + 900 ml Aqua dest.
Sekundärantikörper (blaue Flasche)	3 Tropfen Goat-Normalserum + 1 Tropfen Anti-rabbit-IgG + 10 ml PBS

Übersichten zu den verwendeten Antikörpern, Detektionssystemen und Primern finden sich im jeweiligen Abschnitt im Methodenteil.

2.2. Methoden in der Immunhistologie

2.2.1. Anfertigung der Paraffinschnitte

Aus den Paraffinblöcken wurden mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms 2-3 µm dicke Gewebsschnitte angefertigt und für die Verwendung in der Immunhistochemie und Immunfluoreszenz-Doppelfärbung auf SuperFrost/Plus Objektträgern aufgezogen. Diese haben den Vorteil, dass durch ein Beschichtungsverfahren eine positive Ladung entsteht, welche die Gewebsschnitte besser an ihnen haften lässt. Zusätzlich wurden die Gewebsschnitte für eine bessere Haftung an den Objektträgern über Nacht bei 56-58°C im Brutschrank inkubiert.

2.2.2. Durchführung der immunhistochemischen Färbungen

Die Immunhistochemie beruht auf dem Prinzip der Bindung eines Primärantikörpers an ein Antigen. Es existieren verschiedene Detektionsverfahren, mit welchen diese Bindung durch eine Farbreaktion sichtbar gemacht werden kann. In dieser Arbeit wurde hauptsächlich die ZytoChem-Plus HRP Polymer-Methode (Horse Radish Peroxidase) verwendet. Zunächst wird der Primärantikörper gebunden und dieser dann mittels eines Polymer, an das Mouse- und Rabbitantikörper, sowie HRP gekoppelt sind, detektiert.

Die Peroxidase wird aus Meerrettich erzeugt und hat ein Molekulargewicht von 40 kDa (Noll et al. 2000). Außerdem kam die ABC-Peroxidase-Methode (Avidin-Biotin-Complex) zum Einsatz. Durch eine enzymatische Reaktion der Peroxidase mit dem hinzugefügten Chromogen DAB, zeigt sich bei den beiden genannten Methoden lichtmikroskopisch ein Farbniederschlag.

Die Gewebsschnitte wurden zunächst für 20 Minuten in Xylol entparaffiniert und dann in 100% Ethanol geschwenkt. Im nächsten Schritt wurden die Gewebsschnitte für ebenfalls 20 Minuten in 3% Wasserstoffperoxid inkubiert, um die endogene Peroxidaseaktivität zu blockieren. Darauffolgend wurden die Gewebsschnitte in einer absteigenden Alkoholreihe (100%, 70% und 50%) rehydriert und anschließend in Aqua dest. gestellt. Die Demaskierung des jeweiligen Antigens erfolgte durch Hitzevorbehandlung im Dampfkochtopf mit Natrium-Citratpuffer (pH=6) für 5 Minuten. Anschließend wurden die Gewebsschnitte in Aqua dest. und darauffolgend für 2x2 Minuten in PBS gespült. Durch die 5-minütige Behandlung mit einem Blockiermedium, welches die elektrostatischen Ladungen im Gewebe neutralisiert, wurde eine unspezifische Anfärbung des Hintergrunds verhindert. Nun folgte die Inkubation mit dem Primärantikörper für 16 Stunden über Nacht bei 4°C in einer Feuchtkammer.

Danach wurden die Gewebsschnitte für 20 Minuten mit einem Verstärkungsreagenz (Post Block) und für 30 Minuten mit dem HRP-Polymer weiterbehandelt. Zwischen allen

Schritten wurde ein Waschgang in PBS durchgeführt. Die sich anschließende Substratfärbung erfolgte mittels des DAB-Chromogens in unterschiedlicher Dauer (siehe Tabelle 8). Nachdem die Färbereaktion in Aqua dest. gestoppt wurde, fand die Gegenfärbung in saurem Hämalaun nach Mayer für 2 Minuten statt. Anschließend wurden die Gewebsschnitte für 5 Minuten in Leitungswasser gebläut und durchliefen eine aufsteigende Alkoholreihe (50%, 70% und 100%) bis zum Xylol. Im letzten Schritt wurden die Objektträger mit Eukitt und einem Deckgläschen versehen.

Der GR α wurde mittels der ABC-Peroxidase-Methode detektiert, daher unterscheiden sich einige Schritte von der oben beschriebenen Vorgehensweise. Dieser Methode liegt die Affinität von Avidin (Glycoprotein) zu Biotin (wasserlösliches Vitamin) zugrunde. Ein biotinylierter Brückenantikörper stellt die Verbindung zum ABC-Komplex her. Weiterhin ist an diesen Komplex ein Enzym, die Peroxidase, gekoppelt. Gibt man ein Substrat (in diesem Fall DAB) hinzu, wird eine enzymatische Reaktion mit der Peroxidase gestartet, welche lichtmikroskopisch als Farbniederschlag erkennbar ist (Noll et al. 2000).

Nach der Vorbehandlung mit Natrium-Citratpuffer für 5 Minuten im Dampfkochtopf wurden die Gewebsschnitte für 20 Minuten mit dem Blockierungsserum weiterbehandelt. Danach folgte die Inkubation mit dem Primärantikörper bei 4°C für 16 Stunden über Nacht. Am nächsten Tag wurde nach einem Waschgang in PBS der Sekundärantikörper für 30 Minuten auf die Gewebsschnitte aufgetropft. Für weitere 30 Minuten wurde nach einem Waschgang in PBS der ABC-Komplex aufgetragen. Das weitere Procedere richtete sich nach der oben beschriebenen Vorgehensweise. Details zu den verwendeten Antikörpern, Verdünnungen und Dauer der Substratfärbung sind in Tabelle 8 dargestellt:

Tabelle 8: Details zu den verwendeten Antikörpern, Verdünnungen und Dauer der Substratfärbung in der Immunhistochemie

Antikörper	Isotyp	Verdünnung	Hersteller	Detektion	Substratfärbung
GR α	Rabbit IgG polyclonal	1:200 in PBS	Abcam	Vectastain Elite rabbit-IgG-Kit, Linaris	2 Minuten DAB
GR β	Rabbit IgG polyclonal	1:200 in PBS	BIOSS (Biozol)	ZytoChem Plus HRP Polymer System mouse/rabbit Zytomed	2 Minuten DAB
H3K4me	Rabbit IgG polyclonal	1:500 in PBS	Abcam	ZytoChem Plus HRP Polymer System mouse/rabbit Zytomed	1 Minute DAB
H3K9ac	Rabbit IgG monoclonal	1:200 in PBS	Abcam	ZytoChem Plus HRP Polymer System mouse/rabbit Zytomed	½ Minute DAB

2.2.3. Positivkontrollen

Als Positivkontrolle bezeichnet man Gewebe, welches sicher das gesuchte Antigen enthält. Bei jedem Färbegang wird ein Präparat mit untersucht, um sicherzustellen, dass die Färbung funktioniert hat.

Bei dieser Untersuchung wurden für GR α Mammakarzinomgewebe (Abbildung 3 A) und für GR β Kolonkarzinomgewebe (Abbildung 3 B) als Positivkontrollen eingesetzt. Für die Histone H3K4me und H3K9ac diente gesundes Kolongewebe (Abbildung 3 C und D) als Positivkontrolle.

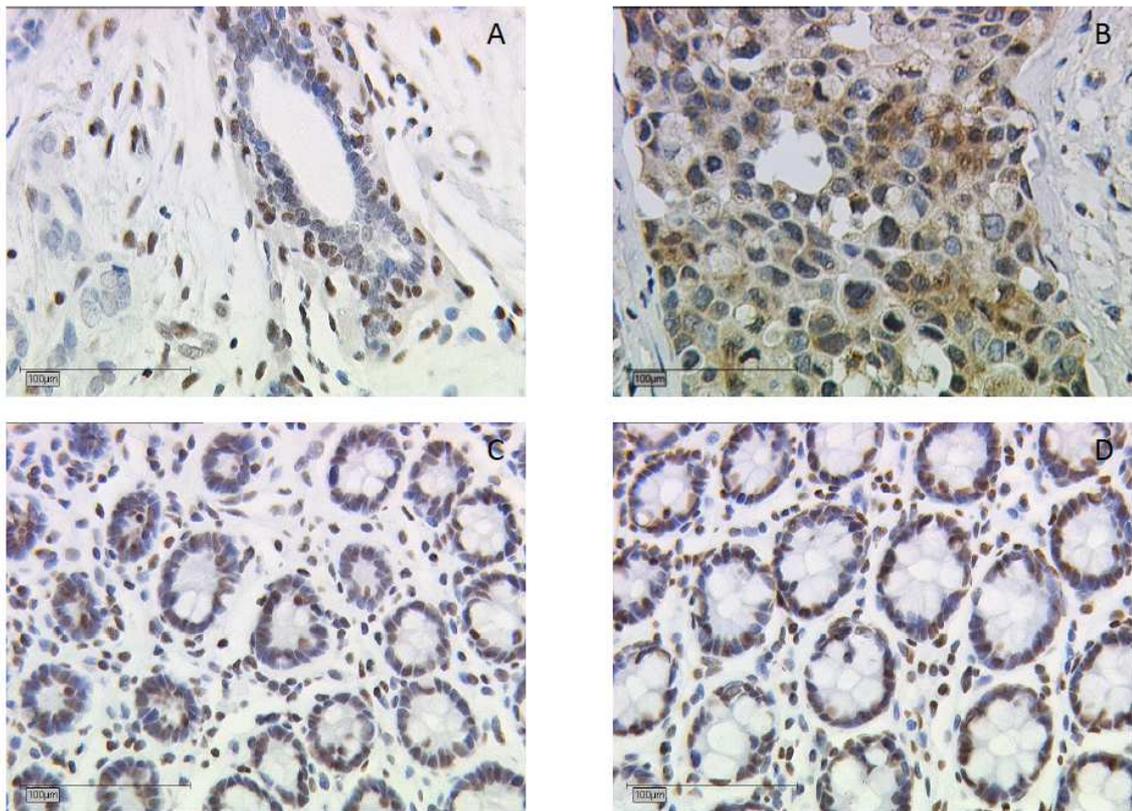


Abbildung 3: Positivkontrollen in der Immunhistochemie

A: GR α , Mammakarzinomgewebe ; B: GR β Kolonkarzinomgewebe

C: H3K4me, gesundes Kolongewebe D: H3K9ac, gesundes Kolongewebe

2.2.4. Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen erfolgte anhand des semiquantitativen immunreaktiven Scores (IRS) nach Remmele (Remmele und Stegner 1987). Hierfür wurde die Farbintensität mit dem prozentualen Anteil gefärbter Zellkerne multipliziert und daraus der IRS ermittelt, siehe Tabelle 9.

Tabelle 9: IRS nach Remmele et al. 1987

Farbintensität	Anteil positiv gefärbter Zellkerne	IRS
0 = keine	0 = keine	0-1 = keine Expression
1 = schwach	1 = <10 %	2-3 = schwache Expression
2 = mittel	2 = 11-50%	4-8 = mäßig starke Expression
3 = stark	3 = 51-80%	9-12 = starke Expression
	4 = >80%	

Zur besseren Unterscheidung zwischen zytoplasmatischer und nukleärer Färbung wurden ein Scanning-Mikroskop mit entsprechender Software (PreciPoint GmbH) verwendet, welche die zytoplasmatische Färbung löscht und somit die separate Auswertung der Kernfärbung ermöglicht.

2.2.5. Durchführung der Immunfluoreszenz-Doppelfärbung

Die Immunfluoreszenz basiert wie die Immunhistochemie auf der Bindung eines Primärantikörpers an ein Antigen mit dem Unterschied, dass dieser durch Fluoreszenzfarbstoffe visualisiert wird und mehrere Antigene nachweisbar sind.

Die Vorbehandlung glich dem Verfahren in der oben beschriebenen Immunhistochemie. Um eine unspezifische Anfärbung des Hintergrunds zu vermeiden, wurden die Gewebsschnitte mit Ultra-Vision-Block für 15 Minuten bei Raumtemperatur behandelt. Danach folgte die Inkubation bei 4°C für 16 Stunden über Nacht mit den Primärantikörpern, welcher zuvor mit Anti-Cytokeratin 7 (CK 7), einem speziellen Marker für EVT, gemischt wurde. Danach wurden die Gewebsschnitte in PBS gespült und von nun an im Dunkeln gearbeitet, um das Zerfallen der Fluorochrome zu vermeiden. Der mit Cy2- und Cy3-markierte Sekundärantikörper wurden für 30 Minuten bei Raumtemperatur auf die Gewebsschnitte gegeben. Nach einem Waschgang in PBS wurden die Gewebsschnitte bei Raumtemperatur getrocknet. Im letzten Schritt erfolgte das Eindecken mit Mounting Medium für Fluoreszenz, welches 4',6' -Diamino-2-Phenylindol (DAPI) enthält und somit Zellkerne blau anfärbt. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte zeitnah unter dem Axio-phot Photomikroskop, da die Fluorochrome leicht verblassen. Mit der digitalen Kamera AxioCam und dem Computerprogramm Axio Vision wurden Bilder der Färbeergebnisse erstellt und gespeichert. Detaillierte Informationen zu den verwendeten Antikörpern und Verdünnungen zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10: Details zu den verwendeten Antikörpern und Verdünnungen der Immunfluoreszenz-Doppelfärbung

Antikörper	Isotyp	Verdünnung	Hersteller
GR α	Rabbit IgG polyclonal	1:200 in Dako	Abcam
GR β	Rabbit IgG polyclonal	1:200 in Dako	BIOSS (Biozol)
H3K9ac	Rabbit IgG monoclonal	1:200 in Dako	Abcam
CK 7	Mouse IgG1 monoclonal	1:30 in Dako	Novocastra
Cy 2	Goat-Anti-Mouse IgG	1:100 in Dako	Dianova
Cy 3	Goat-Anti-Rabbit IgG	1:500 in Dako	Dianova

2.3. Methoden in der Zellkultur

Die Chorionkarzinomzellen der Zelllinie BeWo wurden im Brutschrank bei 37°C und einem atmosphärischen CO₂-Gehalt von 5% in Zellkulturflaschen mit einer Größe von T75 (à 75 ml) und für größere Versuche von T125 (à 125 ml) angezüchtet. Zudem befand sich in den Flaschen je nach Größe 12 bzw. 24 ml Dulbecco`s Modified Eagle Medium (DMEM), angereichert mit 10% fetalem Kälberserum (FCS), welches aufgrund seiner Inhaltsstoffe (3.7 g/l NaHCO₃, 4.5 g/l D-Glucose, 1.028 g/l stabiles Glutamin und Natrium-Pyruvat) zur Ernährung der Zellen dient. Auf den Zusatz von Antibiotika oder Antimykotika wurde verzichtet. Das Arbeiten in der Zellkultur wurde mit Handschuhen durchgeführt und fand unter einer sterilen Laminarflow statt, welche regelmäßig mit 70% Ethanol gereinigt wurde. Einmal pro Woche fand ein Mediumswechsel statt, wobei das alte Medium mit der Pipette abgezogen und verworfen wurde und durch neues, auf 37°C vorgewärmtes DMEM (angereichert mit 10% FCS) ersetzt wurde. Wiederum einmal in der Woche wurden die Zellen gesplittet. Auch hierfür wurde das alte Medium verworfen und anschließend wurden die Zellen in PBS gespült um sie von FCS-Resten zu befreien, da es das im nächsten Schritt hinzugefügte Trypsin hemmt. Die Zellen wurden mit 2 bzw. 3 ml Trypsin für 8-10 Minuten im Brutschrank inkubiert, um sie vom Flaschenboden zu lösen, an welchem sie wegen ihres adhärenenten Wachstums haften. Danach wurden 8 bzw. 12 ml DMEM mit 10% FCS hinzugegeben, um die Wirkung des Trypsins zu stoppen. 25 µl der Zellsuspension wurden in ein zuvor vorbereitetes Eppendorfgefäß mit 50 µl PBS und 25 µl Trypanblau gemischt und die lebendigen Zellen daraus in einer Neubauer Zählkammer ausgezählt. Die restlichen ca. 10 bzw. 15 ml der Zellsuspension wurden in ein Falcon pipettiert und für 5 Minuten bei 1000 Upm bei RT und Bremse 2 zentrifugiert. Das Medium im Überstand wurde mit der Pipette abgezogen und nun so viel auf das Zellpellet gegeben, dass 1 Millionen Zellen in 1 ml gemischt waren. Da sich insgesamt 12 bzw. 24 ml Medium in den Zellkulturflaschen befinden soll, wurde die entsprechende Menge der Zellsuspension in die Flasche gegeben und mit DMEM/FCS aufgefüllt.

2.3.1. Stimulation der BeWo Zellen für die Immunzytochemie

Die Stimulation der BeWo-Zellen mit Prednisolon erfolgte zur Testung der Regulation von H3K4me und H3K9ac mittels Immunzytologie.

Zunächst wurden die Zellen gesplittet und dann zwei 8-Well Flexipermis mit 30.000 Zellen pro Kammer in 500 µl DMEM mit 10% FCS bestückt. Nun wurden sterile Objektträger in zwei Quadriperms à 1 Millionen Zellen in 5 ml DMEM mit 10% FCS angelegt und für zwei Stunden angezüchtet. Danach wurde das Medium gegen DMEM ohne FCS ausgetauscht und die Zellen für weitere 24 Stunden wachsen gelassen.

Am nächsten Tag wurde das Prednisolon in DMEM ohne FCS auf Konzentrationen von 0,1 μM und 0,01 μM verdünnt und jeweils in vier Kammern auf den beiden Objektträgern gegeben. Für die Kontrollen wurde die gleiche Vorverdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt und in die restlichen acht Kammern hinzugefügt. Die Aufteilung der Kammern auf den Objektträgern zeigt Tabelle 11.

Die Objektträger wurden für 48 Stunden inkubiert und anschließend für 5 Minuten in PBS gespült. Die Fixierung erfolgte für 10 Minuten in eiskaltem 50% Methanol: 50% Ethanol. Danach wurden die Objektträger luftgetrocknet und für die immunzytochemischen Färbungen weiterverwendet.

Tabelle 11: Aufteilung der Kammern auf den Objektträgern

Objektträger 1		Objektträger 2	
Kontrolle 0.1 μM	+ Prednisolon 0.1 μM	Kontrolle 0.01 μM	+ Prednisolon 0.01 μM
Kontrolle 0.1 μM	+ Prednisolon 0.1 μM	Kontrolle 0.01 μM	+ Prednisolon 0.01 μM
Kontrolle 0.1 μM	+ Prednisolon 0.1 μM	Kontrolle 0.01 μM	+ Prednisolon 0.01 μM
Kontrolle 0.1 μM	+ Prednisolon 0.1 μM	Kontrolle 0.01 μM	+ Prednisolon 0.01 μM

2.3.2. Durchführung der immunzytochemischen Färbungen

Die Objektträger wurden zunächst für 5 Minuten in PBS bei Raumtemperatur gewaschen. Die Detektion der Antikörper-Antigenbindung erfolgte wie bei der Immunhistochemie, mit dem ZytoChem Plus HRP Polymer System. Um eine unspezifische Anfärbung zu verhindern, wurden die Objektträger für 5 Minuten mit Blocking Solution (Reagent 1) behandelt. Danach wurde das Blockierungsserum abgeklopft und der Primärantikörper aufgetragen. Die Objektträger wurden nun für 16 Stunden über Nacht bei 4°C inkubiert. Weitere Informationen zu den Antikörpern und Verdünnungen sind in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Details zu den Antikörpern und Verdünnungen in der Immunzytochemie

Antikörper	Isotyp	Verdünnung	Hersteller	Detektion	Substratfärbung
H3K4me	Rabbit IgG polyclonal	1:500 in PBS	Abcam	ZytoChem Plus HRP Polymer System mouse/rabbit, Zytomed	2-5 Minuten AEC+ Substrat Chromogen
H3K9ac	Rabbit IgG monoclonal	1:200 in PBS	Abcam	ZytoChem Plus HRP Polymer System mouse/rabbit, Zytomed	2-5 Minuten AEC+ Substrat Chromogen

Am nächsten Tag wurden die Objektträger zunächst für 5 Minuten in PBS gewaschen und dann für 20 Minuten mit Post Block (Reagent 2) inkubiert. Es folgte die Weiterbehandlung mit HRP-Polymer (Reagent 3) für 30 Minuten. Nach jedem Schritt wurden die Objektträger für 5 Minuten in PBS gewaschen. Die Substratfärbung wurde für 2-5 Minuten mit AEC+ unter dem Mikroskop durchgeführt, bis eine Anfärbung der Zellen sichtbar wurde. Die Farbreaktion wurde in Aqua dest. gestoppt und die Gegenfärbung für 1,5 Minuten in saurem Hämalaun nach Mayer vollzogen. Die Objektträger wurden im darauffolgenden Schritt für 4 Minuten in Leitungswasser gebläut und anschließend mit Aquatex eingedeckt. Die Auswertung erfolgte, wie bei der Immunhistochemie, mit Hilfe des IRS.

2.3.3. Stimulation der BeWo-Zellen mit Prednisolon für die PCR

Die Stimulation der BeWo-Zellen mit Prednisolon erfolgte zum Nachweis des GR NR3C1 mittels PCR.

Zunächst wurden die Zellen gesplittet und anschließend 3x2 Wells einer 24 Well-Platte mit je 500.000 Zellen bestückt. Nun wurden die Zellen für 4 Stunden in 500 ml DMEM mit 10% FCS angezchtet. Danach wurde das Medium in DMEM ohne FCS ausgetauscht und die Zellen über Nacht inkubiert. Am nächsten Tag wurde das Prednisolon in DMEM ohne FCS auf eine Konzentration von 0,1 µM und 0,01 µM vorverdünnt. Für die Kontrollen erfolgte die gleiche Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung statt Prednisolon. Nun wurden die Zellen für 2 Stunden mit 0,1 µM und 0,01 µM Prednisolon bzw. die Kontrollen mit physiologischer Kochsalzlösung stimuliert und anschließend vor der Durchführung der RNA-Isolation in PBS gewaschen.

2.3.4. Durchführung der RNA-Isolation

Die RNA-Isolation aus den Zellen erfolgte unter Einsatz des NucleoSpin®RNAII Kit. Im ersten Schritt wurden die Zellen in einem 1,5 ml Reaktionsgefäß für 5 Minuten bei 1000 Upm zentrifugiert und der Überstand mit einer Pipette abgezogen. Nun wurde die Zelllyse induziert, indem erst 350 µl RA1 und dann 3,5 µl β-Mercaptoethanol auf das Zellpellet pipettiert und gemischt wurde. Für die Filtration des Lysats wurde der NucleoSpin-Filter in einem Sammelgefäß platziert und das Zelllysate darauf pipettiert. Anschließend wurde das Lysat für 1 Minute bei 11.000 g zentrifugiert. Nun wurde der Filter verworfen und 350 µl 70% Ethanol zu dem Lysat hinzugefügt und fünfmal mit der Pipette durchgemischt. Für die Durchführung der RNA-Bindung wurde die NucleoSpin®RNAII Säule in einem 1,5 ml Reaktionsgefäß platziert und das Lysat nach dreimaligem Mischen mit der Pipette auf die Säule pipettiert. Wiederum wurde für 30 Sekunden bei 11.000 g zentrifugiert und anschließend der Filter in einem neuen Sammelgefäß platziert. Darauf wurden nun 350 µl MDB (Membran Desalting Buffer) pipettiert um den rDNAse Verdau durch Entsalzen der Silica Membran effektiver zu gestalten und erneut für 1 Minute bei 11000 g zentrifugiert. Der DNA-Verdau wurde schlussendlich induziert, indem für jede Probe 10 µl rekonstituierte rDNAse mit 90µl Reaction Buffer für rDNAse vorsichtig gemischt und anschließend 95 µl dieses DNase Mix direkt auf die Mitte der Silica Membran der Säule geben und für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert wurde. Es folgte ein Waschvorgang mit 200 µl RA2 Puffer, dann wurde für 30 Sekunden bei 11.000 g zentrifugiert und anschließend wurde der Filter in einem neuen Sammelgefäß platziert. In einem zweiten Waschvorgang wurden 600 µl RA3 Puffer auf die Säule gegeben, erneut zentrifugiert und dann das Zentrifugat verworfen, jedoch diesmal das Sammelgefäß behalten. Im dritten und letzten Waschvorgang wurden 250 µl RA3 Puffer auf die NucleoSpin®RNA II Säule gegeben und für 2 Minuten bei 11.000 g zentrifugiert um die Membran komplett zu trocknen. Anschließend wurde die Säule in einem nucleasefreien 1,5 ml Microzentrifugenröhrchen (aus dem Kit) platziert. Nun wurden 60 µl RNAse freies Wasser auf die Säule pipettiert und erneut für bei 11.000 g zentrifugiert, um die Elution der RNA zu erzielen. Die so gewonnene RNA wurde sofort bei -80°C eingefroren und so für 6 Monate haltbar gemacht.

2.3.5. Durchführung der Reversen Transkription

Mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase kann aus RNA die dazu komplementäre, stabilere copyDNA (cDNA) hergestellt werden. In dieser Arbeit wurde dafür das High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Deutschland) verwendet. Im ersten Schritt wurden die Kitkomponenten aufgetaut, kurz anzentrifugiert und bis zu ihrer Verwendung im Eisblock kühlgestellt. Nun wurde der Mastermix hergestellt, die Komponenten sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Komponenten des Mastermix für die Reverse Transkription

Komponente	Volumen in μl (je Probe)
10x RT Puffer	2,0
25x dNTP Mix (100mM)	0,8
Oligo-dT Primer	2,0
RNase Inhibitor	1,0
Nuclease-freies Wasser	3,2
MultiScribe™ Reverse Transkriptase	1,0
= Gesamtvolumen pro Reaktion	10 μl

Pro Reaktion wurden 10 μl des RT-Mastermix und 10 μl der mRNA in ein 0,5 ml Reaktionsgefäß pipettiert und kurz anzentrifugiert. Danach wurden die Proben in dem Eppendorf Mastercycler® Gradient platziert und die Umschreibung gestartet. Für diesen Vorgang wurden die Proben zunächst für 10 Minuten bei 25°C, dann für 2 Stunden bei 37°C und abschließend für 5 Sekunden bei 85°C inkubiert. Die Abkühlung fand für 5 Minuten bei 4°C statt, bevor die gewonnene cDNA bis zu ihrer Weiterverwendung bei -20°C eingefroren wurde.

2.3.6. Durchführung der quantitativen Real-Time PCR

Die quantitative Real-Time PCR (TaqMan®-PCR) wurde zur Vervielfältigung der cDNA *in vitro* und somit der quantitativen Bestimmung des GR NR3C1 durchgeführt. Die Quantifizierung eines bestimmten Gens erfolgt bei dieser Methode durch Fluoreszenzmessung in der Amplifikation. Im ersten Schritt wurden 19 μl des Mastermixes, bestehend aus den in Tabelle 14 aufgezeigten Komponenten, in eine 96-Well Platte pipettiert.

Tabelle 14: Komponenten des Mastermix für die Real-Time PCR

Komponente	Volumen in μl (je Probe)
TaqMan® Gene Expression Assay; 20x Konz.	1,0
TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix; 2x Konz.	10,0
Nucleasefreies Wasser	8,0
= Gesamtvolumen	19 μl

Nun wurden je 1 μl der cDNA bzw. nucleasefreies Wasser für die Negativkontrollen in die einzelnen Wells hinzugefügt und alles durch Auf- und Abpipettieren gemischt. Danach wurde die Platte mit einer speziellen Folie, dem Adhesive Cover (Applied Biosystems) zur Vermeidung von Kontaminationen abgedeckt und in das Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR Gerät gelegt. Nun wurde das in Tabelle 15 dargestellte Temperaturprotokoll durchlaufen.

Tabelle 15: Temperaturprotokoll Real-Time PCR

	Enzym Aktivierung	Real-Time PCR	
	Hold	40 Zyklen	
		Denaturierung	Annealing/ Elongation
Temperatur	95°C	95°C	60°C
Zeit	20 Sekunden	3 Sekunden	30 Sekunden

Die $2^{-\Delta\Delta C_t}$ Methode wurde eingesetzt um die relative Quantifizierung der Genexpression zu berechnen (Livak und Schmittgen 2001). Als endogene Kontrolle (sog. Haushaltsgen) wurde β -Actin verwendet um eine Normierung der RNA-Ausgangsmenge zu erreichen. Tabelle 16 gibt eine Übersicht über die beiden verwendeten Primer.

Tabelle 16: Primer

Primer	Hersteller	Bestellnummer
NR3C1	Applied Biosystems	Hs00353740_m1
ACTB	Applied Biosystems	Hs99999903_m1

2.4. Methoden zur statistischen Auswertung

Das Softwarepaket SPSS / PC, Version 23 (SPSS, Deutschland) wurde zur Datenerfassung, -verarbeitung und -analyse von statistischen Daten verwendet. Der nichtparametrische Wilcoxon-Rangtest wurde zum Vergleich zweier abhängiger Gruppen durchgeführt, während der Mann-Whitney-U-Test zur Bewertung von zwei unabhängigen Gruppen verwendet wurde. Ein p-Wert $<0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1. Immunhistochemische Färbung

3.1.1. Expression von Glucocorticoidrezeptor α

Wir konnten die Expression des GR α sowohl in IUGR-Plazenten, als auch in den Kontrollplazenten nachweisen. Die positive Färbung zeigte sich im SCT kernständig und zytoplasmatisch. In den EVT's fand sich die Färbung membranständig, kernständig und zytoplasmatisch. Bei männlichen IUGR-Plazenten und in beiden Kontrollgruppen wurde die Kernfärbung der EVT's mit einem medianen IRS von 3 evaluiert. Demgegenüber fand sich bei weiblichen IUGR-Plazenten ein medianer IRS von 4 und somit ein statistisch signifikanter Unterschied zu den geschlechtsspezifischen Kontrollen ($p = 0,021$). Weiterhin zeigten sich Unterschiede im Hinblick auf das Gestationsalter bei Entbindung, diese erreichten jedoch keine statistische Signifikanz.

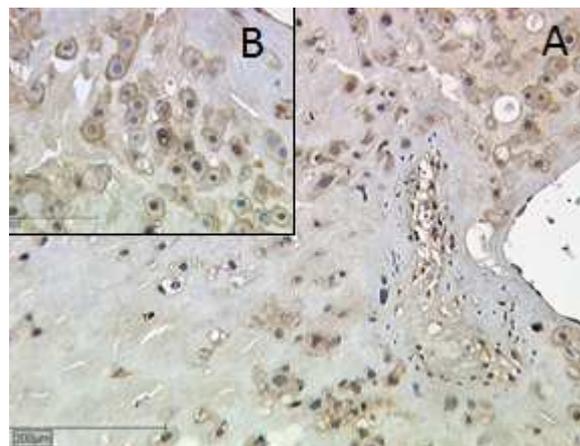


Abbildung 4: GR α im EVT der Plazenta eines gesunden weiblichen Fetus
Medianer IRS 3, A: Skala 200 μm , B: Skala 100 μm

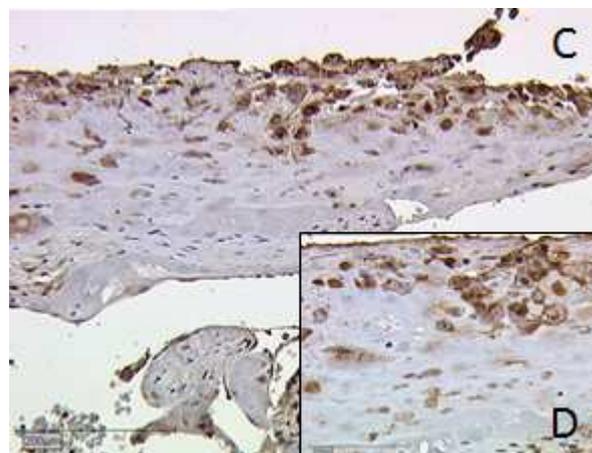


Abbildung 5: GR α Expression im EVT der Plazenta eines weiblichen IUGR-Fetus
Medianer IRS 4, C: Skala 200 μm , D: Skala 100 μm

Eine deutlich höhere Farbintensität und damit GR α -Expression in EVT's von weiblichen IUGR-Plazenten (Abb. 5) im Vergleich zu ihren geschlechtsspezifischen Kontrollen ist sichtbar (Abb. 4). Die statistische Auswertung der Färbeergebnisse im SCT von IUGR- und Kontrollplazenten erbrachte keine statistische Signifikanz.

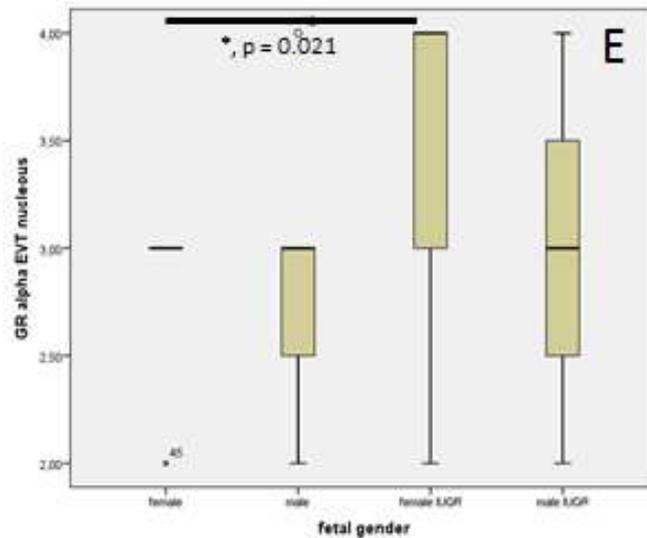


Abbildung 6: Geschlechtsabhängige GR α -Expression in Kernen des EVT als Boxplot

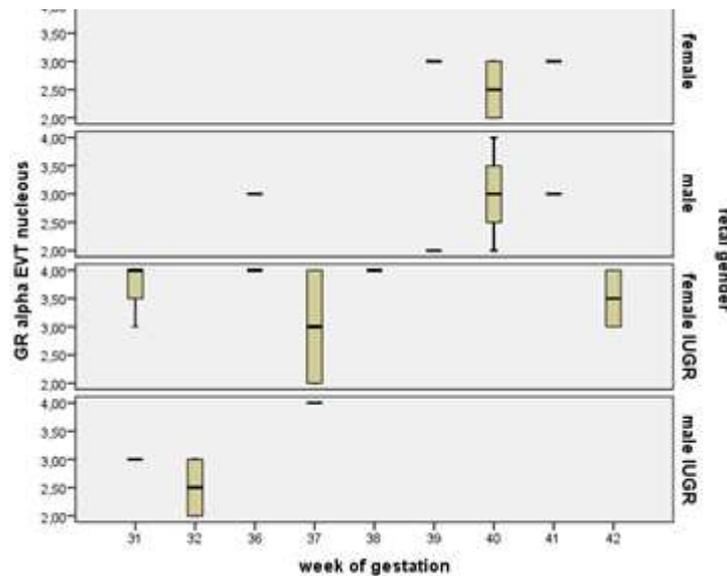


Abbildung 7: Geschlechtsabhängige GR α -Expression in Kernen des EVT in Korrelation zum Gestationsalter bei Entbindung als Boxplot

Gesunde weibliche und männliche Feten: Median 40 SSW, IRS 3
 Weibliche IUGR-Feten: Median 37 SSW, IRS 4
 Männlichen IUGR Feten: Median 32 SSW, IRS 3
 Keine statistische Signifikanz

3.1.2. Expression von Glucocorticoidrezeptor β

Die Expression des GR β wurde ebenfalls sowohl in den SCTs, als auch in den EVT's von IUGR- und Kontrollplazenten nachgewiesen. Die positive Färbung war auch hier kernständig und zytoplasmatisch sichtbar. In den SCTs wurde die zytoplasmatische Färbung bei weiblichen IUGR-Plazenten und deren geschlechtsspezifischen Kontrollen mit einem medianen IRS von 3 bewertet. Bei männlichen IUGR-Plazenten zeigte sich ein deutlich höherer medianer IRS von 8, im Vergleich zu ihren geschlechtsspezifischen Kontrollen (medianer IRS 4). Somit wurde neben der Differenz zwischen beiden Geschlechtern auch eine statistisch signifikante Erhöhung der GR β -Expression im SCT von männlichen IUGR-Feten erwiesen ($p = 0,003$).

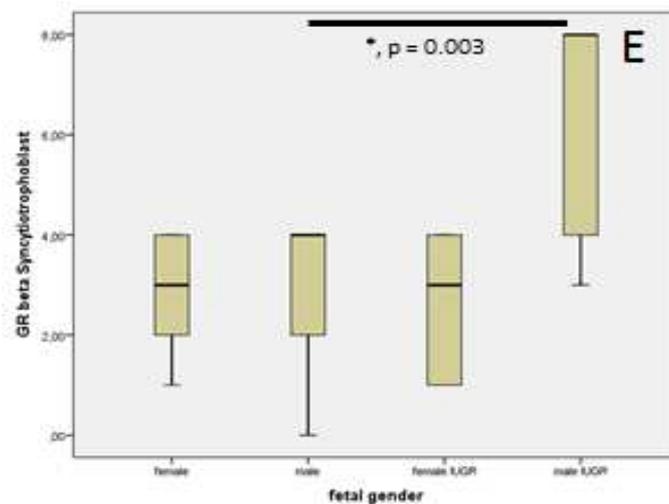


Abbildung 8: Signifikante geschlechtsabhängige GR β -Expression im SCT als Boxplot

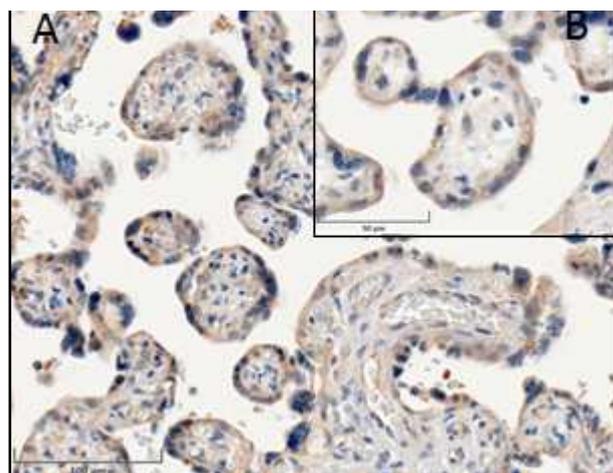


Abbildung 9: GR β -Expression im SCT der Plazenta eines gesunden männlichen Fetus

Medianer IRS 4, A: Skala 100 μ m, B: Skala 50 μ m

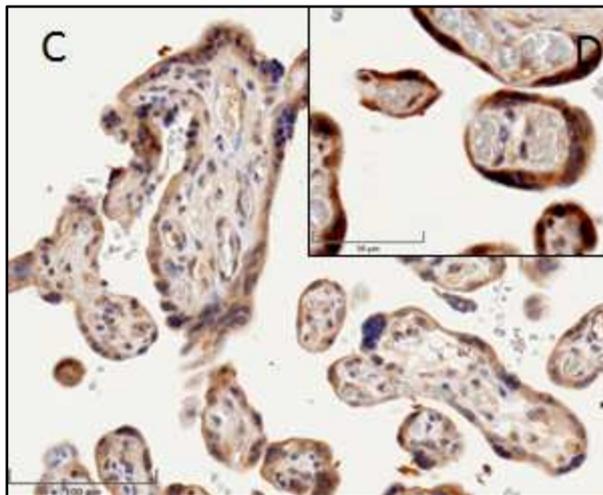


Abbildung 10: GR β -Expression im SCT der Plazenta eines männlichen IUGR-Fetus
Medianer IRS 8, C: Skala 100 μm , D: Skala 50 μm

Eine deutlich höhere Farbintensität und damit GR β -Expression in SCTs von männlichen IUGR-Plazenten (Abb. 10) im Vergleich zu ihren geschlechtsspezifischen Kontrollen (Abb. 9) ist sichtbar.

In den Kernen der EVT's wurde bei männlichen und weiblichen Kontrollen sowie weiblichen IUGR-Plazenten ein medianer IRS von 3 evaluiert. Im Gegensatz dazu fand sich bei männlichen IUGR-Plazenten ein höherer IRS von 4. Die statistische Auswertung lieferte ein signifikantes Ergebnis ($p = 0,007$), dass die GR β -Expression in männlichen IUGR-Plazenten im Vergleich zu den männlichen Kontrollen stärker ausgeprägt ist. In Abbildung 12 und 13 wurde bei F und H mit Hilfe der PreciPoint Software die zytoplasmatische Färbung gelöscht, damit die Intensität der Kernfärbung deutlicher wird.

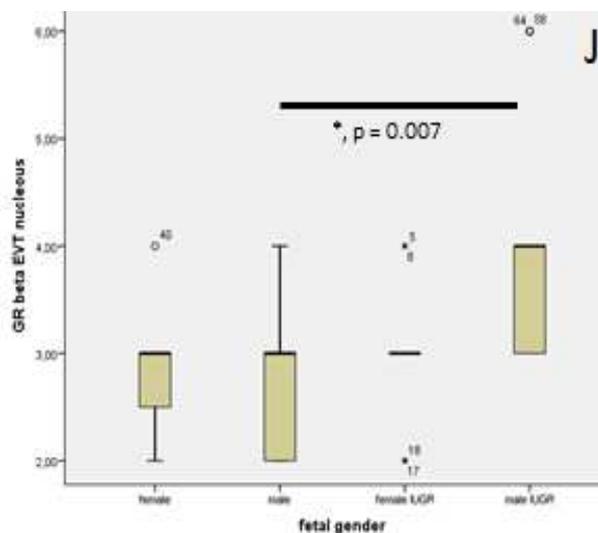
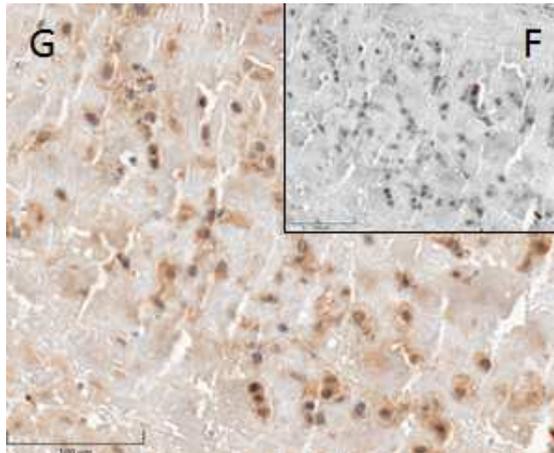
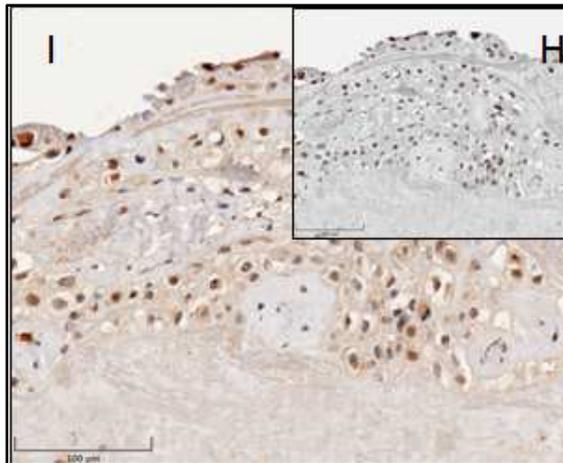


Abbildung 11: Geschlechtsabhängige GR β -Expression im EVT als Boxplot



*Abbildung 12: GR β -Expression im EVT der Plazenta eines gesunden männlichen Fetus
Medianer IRS 3, F: Skala 100 μ m, G: Skala 100 μ m*



*Abbildung 13: GR β - Expression im EVT der Plazenta eines männlichen IUGR-Fetus
Medianer IRS 4, H: Skala 100 μ m, I: Skala 100 μ m*

Eine deutlich höhere Farbtintensität und damit GR β -Expression in EVTs von männlichen IUGR-Plazenten (Abb. 13) im Vergleich zu ihren geschlechtsspezifischen Kontrollen (Abb. 12) ist sichtbar.

3.1.3. Expression von H3K4me

Die Expression von H3K4me konnten wir sowohl in SCTs, als auch in EVTs nachweisen. Im SCT zeigte sich eine moderate Kernfärbung bei weiblichen und männlichen Kontrollen (medianer IRS 8 vs. 7). Im Gegensatz dazu war die H3K4me-Expression bei beiden Geschlechtern mit IUGR-Diagnose herunterreguliert (medianer IRS 3 vs. 5). Die statistische Auswertung ergab, dass in SCTs von weiblichen IUGR-Plazenten signifikant weniger H3K4me exprimiert wird, als in gesunden weiblichen SCTs ($p = 0,004$). Trotz eines moderaten Färbeergebnisses (medianer IRS IUGR 6 vs. Kontrolle 7), konnte in EVTs kein statistisch signifikanter Unterschied im Hinblick auf die H3K4me-Expression und das Geschlecht erwiesen werden.

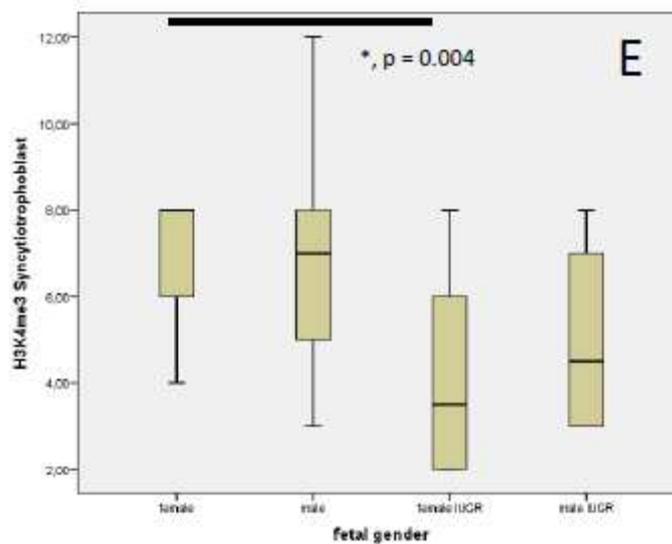
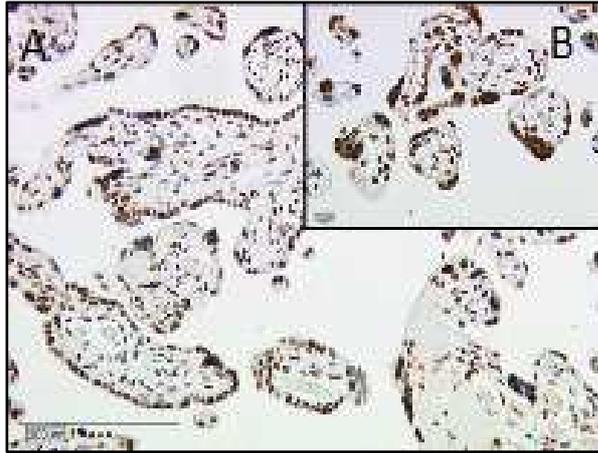
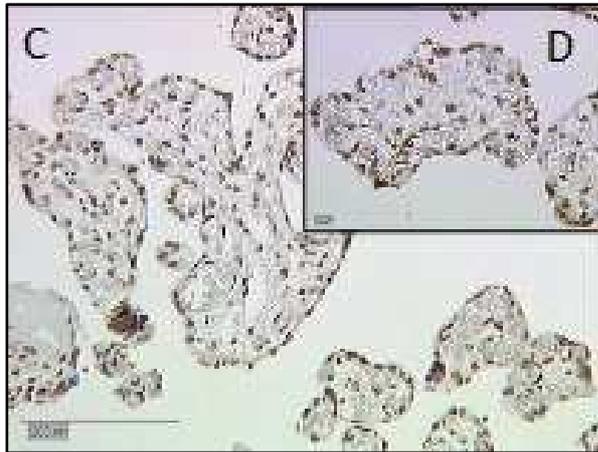


Abbildung 14: Geschlechtsabhängige H3K4me-Expression in SCTs als Boxplot



*Abbildung 15: H3K4me-Expression im SCT der Plazenta eines gesunden weiblichen Fetus
Medianer IRS 8, A: Skala 200 µm, B: Skala 100 µm*



*Abbildung 16: H3K4me-Expression im SCT der Plazenta eines weiblichen IUGR-Fetus
Medianer IRS 3, C: Skala 200 µm, D: Skala 100 µm*

Eine deutlich geringere Farbintensität und damit H3K4me-Expression in SCTs von weiblichen IUGR-Plazenten (Abb. 16) im Vergleich zu ihren geschlechtsspezifischen Kontrollen (Abb. 15) ist sichtbar.

3.1.4. Expression von H3K9ac

Die Expression von H3K9ac wurde ebenfalls in SCTs und EVT_s nachgewiesen. In EVT_s zeigte sich eine positive, kernständige Färbung sowohl in Plazenten von IUGR-Feten, als auch von gesunden Feten. Bei weiblichen Feten mit IUGR-Diagnose wurde ein medianer IRS von 4 und bei deren geschlechtsspezifischen Kontrollen von 3 ermittelt. Im Gegensatz dazu war die H3K9ac-Expression bei gesunden männlichen Feten mit einem medianen IRS von 8 statistisch signifikant erhöht ($p = 0,007$), im Vergleich zu Plazenten von männlichen IUGR-Feten (medianer IRS 3). Im SCT wurde trotz eines moderaten IRS in IUGR- und Kontrollplazenten kein statistisch signifikantes Ergebnis im Hinblick auf die H3K9ac-Expression und die Geschlechterverteilung nachgewiesen.

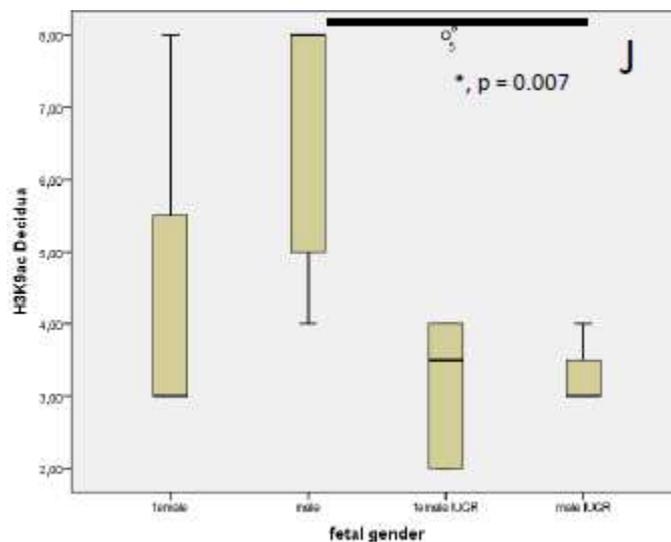
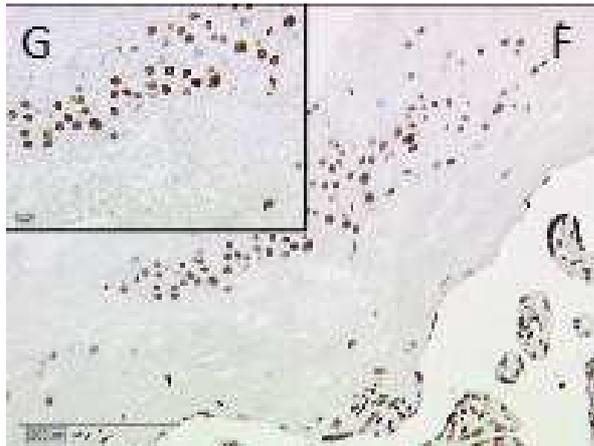


Abbildung 17: Geschlechtsabhängige H3K9ac-Expression in EVT_s als Boxplot



*Abbildung 18: H3K9ac-Expression im EVT der Plazenta eines gesunden männlichen Fetus
Medianer IRS 8, F: Skala 200 μ m, G: Skala 100 μ m*



*Abbildung 19: H3K9ac-Expression im EVT der Plazenta eines männlichen IUGR-Fetus
Medianer IRS 3, H: Skala 200 μ m, I: Skala 100 μ m*

Eine deutlich geringere Farbintensität und damit H3K9ac-Expression in EVTs von männlichen IUGR-Plazenten (Abb. 19) im Vergleich zu ihren geschlechtsspezifischen Kontrollen (Abb. 18) ist sichtbar.

3.2. Immunfluoreszenz-Doppelfärbung

3.2.1. Doppelsexpression von GR α und CK 7

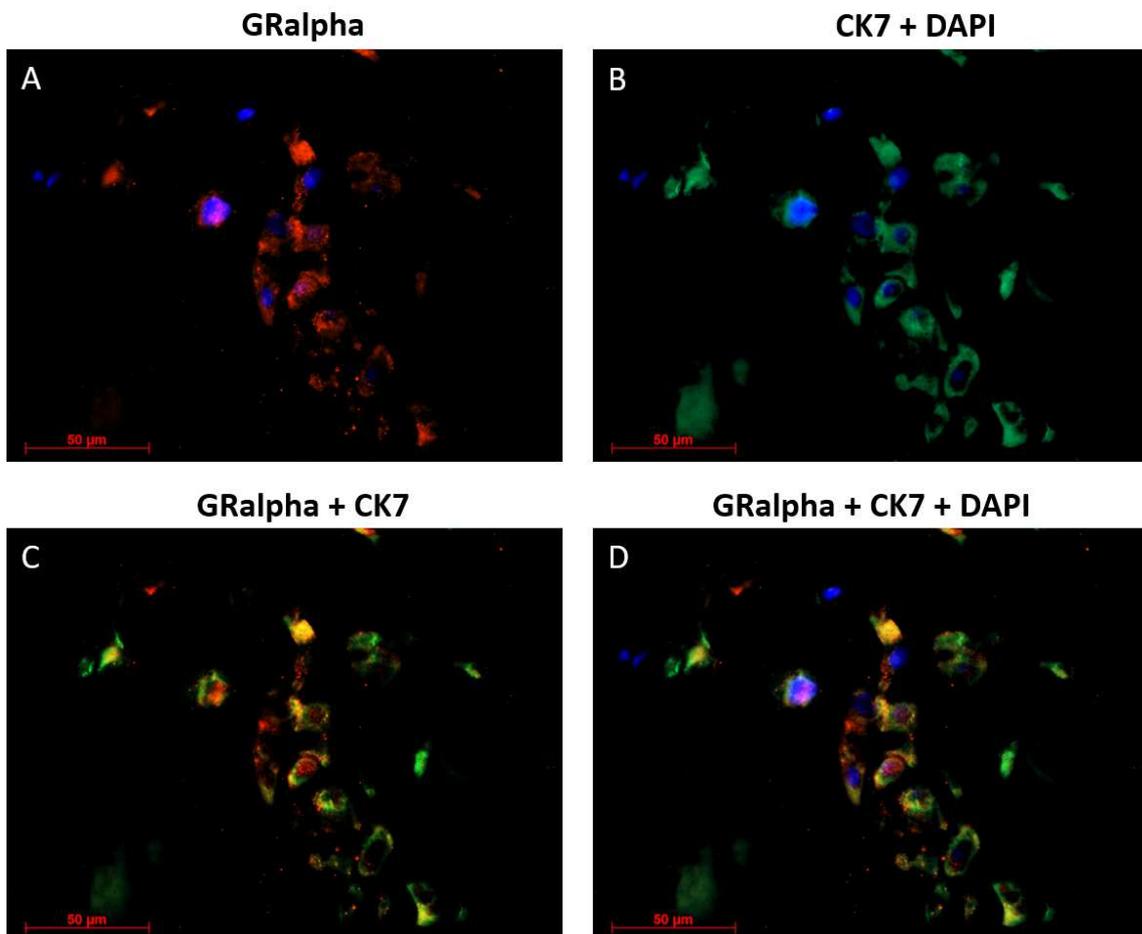


Abbildung 20: Gemeinsame Expression von GR α und CK 7 in EVTs

GR α fluoresziert rot, CK 7 fluoresziert grün, DAPI fluoresziert blau. Skala 50 μ m.

Um den Phänotyp von GR α -exprimierenden Zellen in der Dezidua zu identifizieren, wurde die Immunfluoreszenz-Doppelfärbung mit CK 7 als speziellem EVT-Marker durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe von verschiedenen Anregungsfiltern unter dem Fluoreszenzmikroskop. So konnte nachgewiesen werden, dass GR α im gleichen Zelltyp wie CK 7, also in EVTs exprimiert wird. Die DAPI-Kernfärbung ermöglichte zudem die Lokalisation von GR α in den Nuclei der EVTs.

3.2.2. Doppelexpression von GR β und CK 7

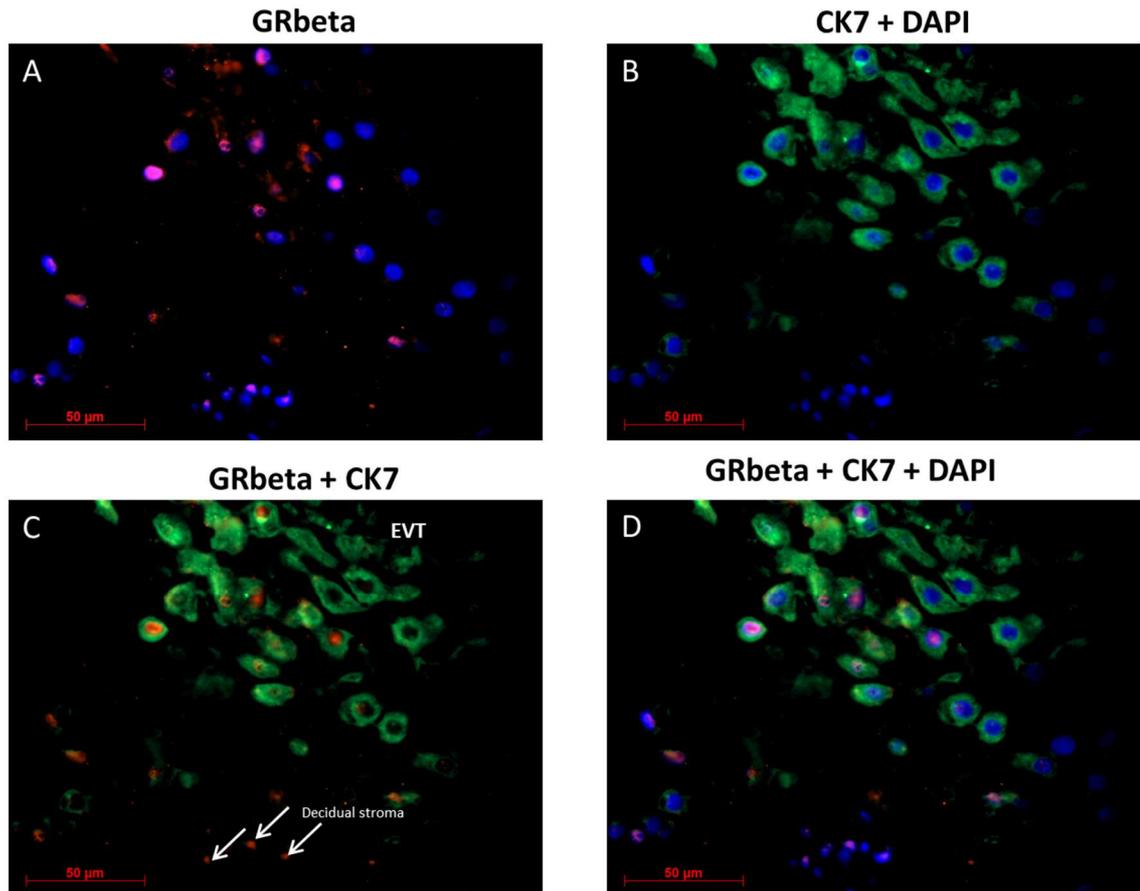


Abbildung 21: Gemeinsame Expression von GR β und CK 7 in EVT's

GR β fluoresziert rot, CK 7 fluoresziert grün, DAPI fluoresziert blau. Skala 50 μ m.

Auch für GR β konnte mit Hilfe der Immunfluoreszenz-Doppelfärbung mit CK 7 in der Fluoreszenzmikroskopie gezeigt werden, dass es sich bei dem exprimierenden Zelltyp um EVT's handelt. Die Lokalisation von GR β in den Nuclei von EVT's gelang ebenfalls durch die DAPI-Kernfärbung.

Weiterhin wurden auch einigen dezidualen Stromazellen als GR β -exprimierende Zellen detektiert (siehe Pfeilmarkierung in Abbildung 21).

3.2.3. Doppelexpression von H3K9ac und CK 7

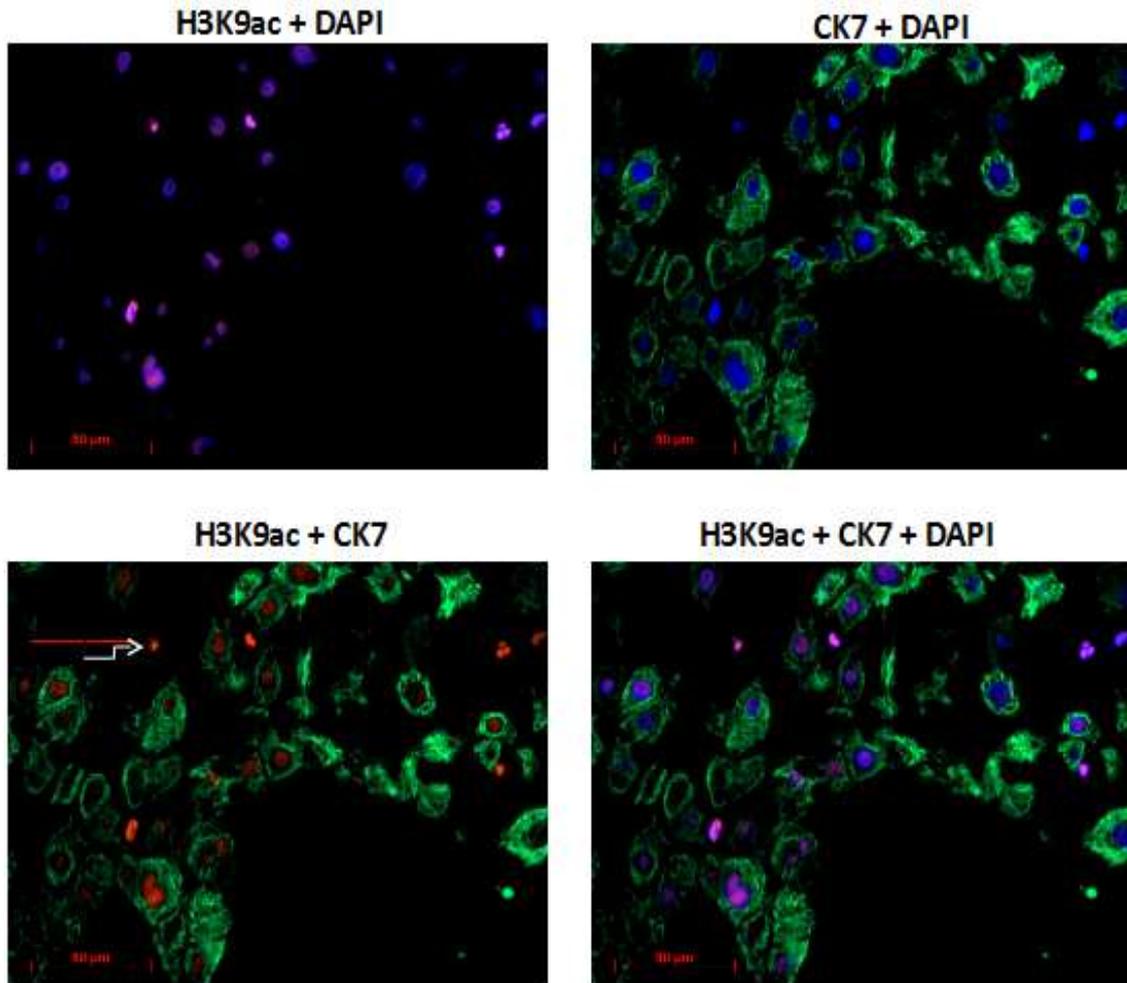


Abbildung 22: Gemeinsame Expression von H3K9ac und CK 7 in EVTs

H3K9ac fluoresziert rot, CK 7 fluoresziert grün, DAPI fluoresziert blau. Skala 50 µm

Dasselbe Expressionsmuster der beiden GRs zeigte sich auch bei der Untersuchung des H3K9ac. Es wurde ebenfalls die Ko-Expression von H3K9ac und CK 7 in EVTs bestätigt. Zusätzlich wurde beobachtet, dass ein kleiner Anteil an dezidualen Stromazellen H3K9ac exprimiert (siehe Pfeilmarkierung in Abbildung 22).

3.3. Ergebnisse in der Immunzytochemie

3.3.1. Expression von H3K4me in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon

Die Stimulation von BeWo-Zellen mit Prednisolon *in vitro* zeigte bei der Auswertung eine konzentrationsabhängige Expression von modifizierten Histonproteinen der Klasse 3. Nach Kultivierung mit 0,1 μM Prednisolon und Inkubation mit dem H3K4me-Antikörper fand sich eine schwach-positive Färbung, welche mit einem medianen IRS von 4 bewertet wurde. Demgegenüber resultierte eine höhere Immunreaktivität nach Kultivierung mit 0,01 μM Prednisolon (medianer IRS 5). Nicht-stimulierte Kontrollzellen wiesen eine signifikant höhere H3K4me-Expression auf ($p = 0,042$; medianer IRS 6) als mit 0,1 μM Prednisolon stimulierte Zellen.

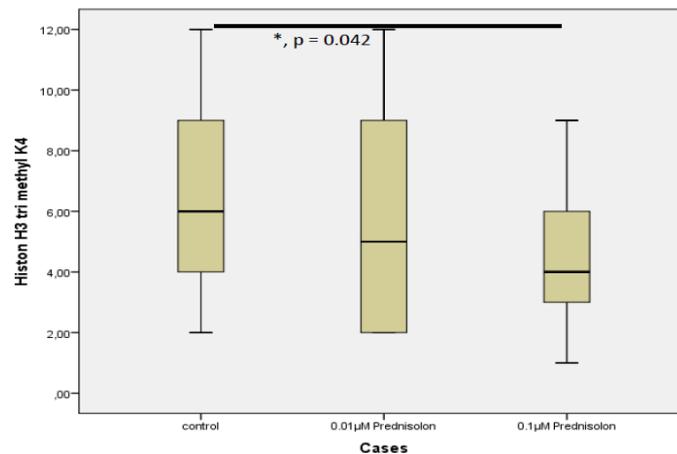


Abbildung 23: Signifikant niedrigere H3K4me-Expression nach Stimulation mit 0,1 μM Prednisolon



Abbildung 24: Färbeergebnis der H3K4me-Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon



Abbildung 25: Isotypenkontrolle der H3K4me-Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon

3.3.2. Expression von H3K9ac in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon

Ähnliche Beobachtungen wie bei H3K4me konnten nach Inkubation mit dem H3K9ac-Antikörper gemacht werden. Bei beiden Prednisolon-Konzentrationen (0,1 μM und 0,01 μM), mit welchen die Zellen stimuliert wurden, fand sich ein medianer IRS von 4. Im Verhältnis dazu exprimierten nicht-stimulierte Kontrollzellen signifikant mehr H3K9ac ($p = 0,023$; medianer IRS 5) als nach Stimulation mit 0,1 μM Prednisolon. Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass die Expression H3K4me und H3K9ac bei höheren Prednisolon- bzw. GC in Trophoblastzellen vermindert ist.

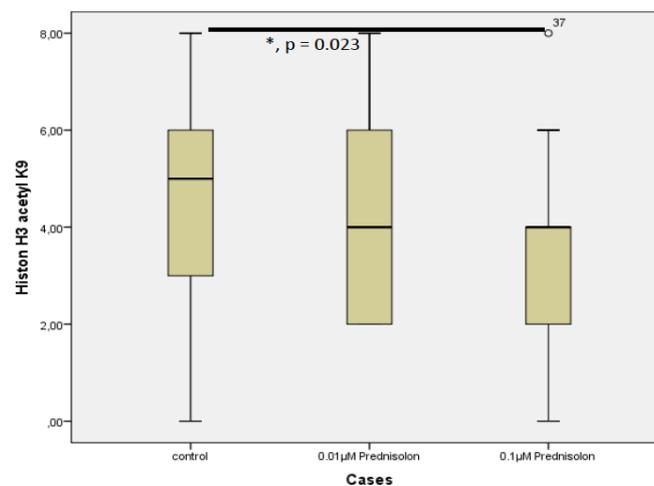


Abbildung 26: Signifikant niedrigere H3K9ac-Expression nach Stimulation mit 0,1 μM Prednisolon

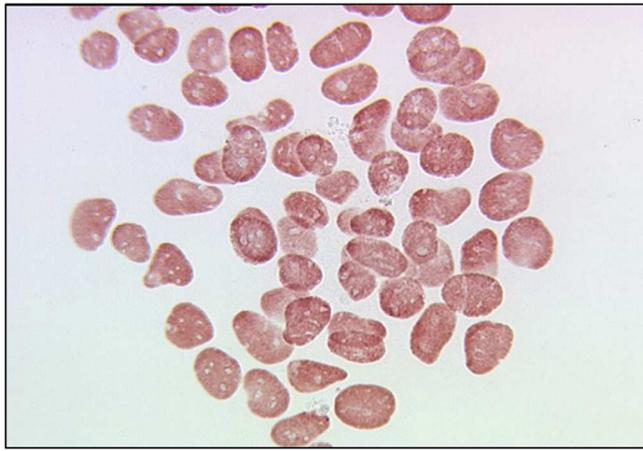


Abbildung 27: Färbeergebnis der H3K9ac-Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon

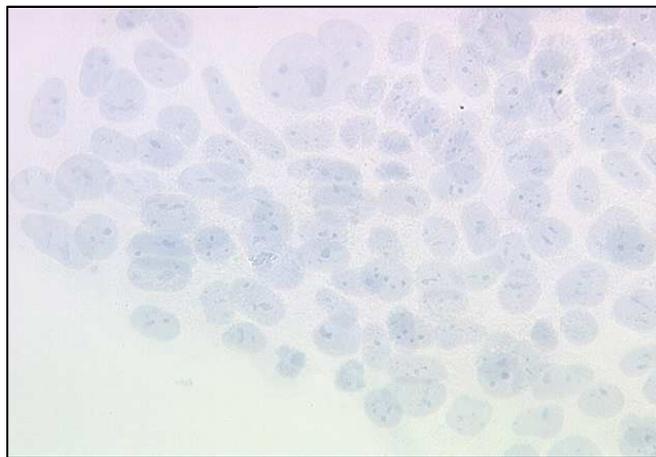


Abbildung 28: Isotypenkontrolle der H3K9ac- Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon

3.4. Quantitative Real-Time Polymerase-Kettenreaktion

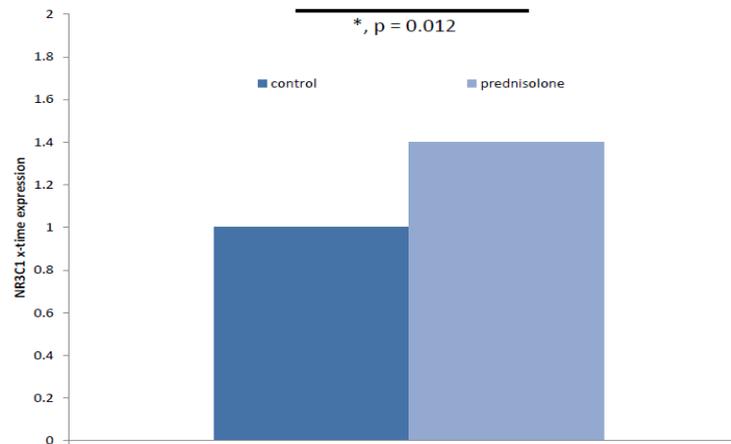


Abbildung 29: Regulation von NR3C1 nach Stimulation mit Prednisolol

Die Regulation von NR3C1 (dem GR-Gen) wurde auch in einem BeWo-Zell-Kultursystem getestet. Hohe Konzentrationen von Prednisolon (0,1 μ M) führen nach 2-stündiger Stimulation zu einer signifikanten Hochregulierung von NR3C1 ($p=0,012$).

4. Diskussion

4.1 Zusammenhang zwischen IUGR und GCs

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Expression der beiden GR-Isoformen α und β in IUGR-Plazenten im Vergleich zu gesunden Kontrollen, abhängig vom fetalen Geschlecht, hochreguliert ist.

Frühere Studien konnten bereits zeigen, dass die IUGR mit erhöhten GC-Konzentrationen im fetalen Plasma assoziiert ist (Economides et al. 1988).

Außerdem wurde bei IUGR-Feten eine erhöhte CRH-Konzentration im Nabelschnurblut nachgewiesen (Goland et al. 1993). Zusätzlich ist das CBG, welches die Konzentration an frei zirkulierendem Cortisol reguliert, im mütterlichen Serum von IUGR-Feten deutlich verringert (Ho et al. 2007).

Die IUGR wird über viele verschiedene Mechanismen durch die Anwesenheit von GCs beeinflusst. Beispielsweise ist die plazentare Aktivität der 11β -HSD2, welche Cortisol zu Cortison inaktiviert, bei der IUGR verringert (Shams et al. 1998; Stewart et al. 1995). Dies legt nahe, dass die 11β -HSD eine wichtige Funktion bei der Regulation des fetalen Wachstums spielt. Neuere Studien konnten diese Vermutung auf molekularer Ebene bestätigen. Es zeigte sich, dass die 11β -HSD2 mRNA-Level in IUGR-Plazenten, im Vergleich zu gesunden Plazenten signifikant vermindert sind (McTernan et al. 2001; Dy et al. 2008). Dies ist eine Erklärung für erhöhte Cortisolspiegel bei wachstumsrestringierten Feten.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass eine Plazentainsuffizienz und der daraus folgende GC-Exzess zu einer Hochregulierung der fetalen hepatischen GR-mRNA im Rattenmodell führt (Nyirenda et al. 1998; Baserga et al. 2005). Diese Reaktion zeigt, dass der physiologische adulte negative Feedback-Mechanismus, bei welchem erhöhte GC-Spiegel zu einer Herunterregulierung der GR-mRNA führen, aufgehoben ist (Kalinyak et al. 1989).

Da bei einer IUGR ein erhöhtes Risiko für Frühgeburtlichkeit besteht, könnte man annehmen, dass die intramuskuläre Applikation von Glucocorticoiden zur Lungenreifung für die fetalen und plazentaren Veränderungen verantwortlich ist.

Die bereits höheren Cortisolkonzentrationen im Plasma von IUGR-Feten haben möglicherweise ohnehin schon einen positiven Effekt auf die Lungenreife und Surfactantproduktion, so dass die Exposition gegenüber höheren Dosen evtl. keine oder sogar nachteilige Auswirkungen hat (Orgeig und Morrison 2010). Daten aus großangelegten Studien liefern widersprüchliche Antworten auf diese Frage (Bernstein et al. 2000; Elimian 1999). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die antenatale Steroidapplikation zu einer Reduktion der plazentaren 11β -HSD2 Expression führt (Kerzner et al. 2002). Synthetische

Steroide wie Dexamethason oder Betamethason dienen nicht als Substrat für die plazentare 11 β -HSD2 und können somit frei die Plazenta passieren und auf den Fetus einwirken (Morrison et al. 2012). Betamethason und Dexamethason haben vergleichbare Potenzen, welche 25-mal höher sind als Cortisol und weisen ähnlich hohe Affinitäten für den GR auf (Lipworth 2000).

Es konnte allerdings nachgewiesen werden, dass die GR-Isoformen nicht durch die Gabe von beispielsweise Betamethason beeinflusst werden (Saif et al. 2015).

Hingegen wurde bei einer wiederholten Gabe antenataler Steroide zur Lungenreifeinduktion eine dosisabhängige Wachstumsabnahme, insbesondere bei weiblichen Feten, beobachtet, ohne das neonatale Outcome zu verbessern (Braun et al. 2015; Braun et al. 2016).

Eine weitere Situation, in welcher durch externe Einflüsse bedingt eine erhöhte fetale GC-Exposition besteht, ist die Asthmatherapie mit inhalativen Corticosteroiden in der Schwangerschaft. Eine Studie zeigte, dass ein Zusammenhang zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht und einer verminderten 11 β -HSD2-Aktivität der Plazenta sowie erhöhten fetalen Cortisolkonzentrationen bei Schwangerschaften mit mütterlichem Asthma besteht (Murphy et al. 2002). Dies wurde jedoch bei Schwangeren mit unbehandeltem Asthma beobachtet, was zu der Annahme führt, dass die 11 β -HSD2-Aktivität durch eine Inflammationsreaktion gehemmt wird (Murphy et al. 2002).

Weiterhin ist unbehandeltes mütterliches Asthma mit hohen fetalen Cortisolkonzentrationen und einer erhöhten GR-Genaktivität und Exon 1A3-mRNA-Expression sowohl in männlichen als auch in weiblichen Plazenten verbunden (Hodyl et al. 2010).

Zusammenfassend sprechen diese Daten dafür, dass eine Therapie mit inhalativen Corticosteroiden die mütterlichen Cortisolspiegel herunterreguliert und die GR-Transkription verringert, was zu einer niedrigeren Cortisol-Exposition der Plazenta führt (Hodyl et al. 2010).

Darüber hinaus werden Feten durch stressige Ereignisse während der Schwangerschaft, wie beispielsweise Naturkatastrophen oder Hungersnöte, höheren GC-Spiegeln aus der maternalen Zirkulation ausgesetzt, da die plazentare GC-Barriere die erhöhten GC-Spiegel nicht mehr bewältigen kann (Dickinson et al. 2012).

Zusätzlich kann maternaler Stress während der Schwangerschaft zu einer Herunterregulierung der β -HSD2 und somit zu einem niedrigeren Geburtsgewicht führen (Jensen Peña et al. 2012; Hobel et al. 2008).

4.2 Geschlechtsabhängige Unterschiede

Bereits im 18. Jahrhundert beschrieb Joseph Clarke eine höhere neonatale Mortalität bei männlichen Neugeborenen im Vergleich zu weiblichen. Außerdem konnte beobachtet werden, dass männliche Neugeborene, im Gegensatz zu weiblichen, größer und weibliche eher wachstumsrestringiert sind (Clarke 1788).

So sind Schwangerschaften mit männlichen Embryonen bzw. Feten häufiger von spontanen Aborten betroffen (Byrne und Warburton 1987).

Neuere Studien bestätigen, dass das männliche Geschlecht ein unabhängiger Risikofaktor für ein schlechtes perinatales Outcome, auch bei IUGR-Feten, ist (Di Renzo et al. 2007; Stevenson et al. 2000). Dies hängt mit einer unterschiedlichen Wachstumsstrategie männlicher Feten gegenüber weiblichen zusammen (Eriksson et al. 2010).

Während männliche Feten auch in einer suboptimalen intrauterinen Umgebung normal weiter wachsen, passen sich weibliche Feten daran an, indem sie ihr Wachstum reduzieren (Clifton 2010). Obwohl männliche Neugeborene im Durchschnitt ein höheres Geburtsgewicht aufweisen, geht dies nicht mit einem Vorteil bezüglich der Organreifung, insbesondere des Atmungssystems und des zentralen Nervensystems, einher, sondern beides entwickelt sich sogar langsamer (DiPietro und Voegtline 2017). Das hormonelle Milieu während des ersten Trimenons, wie beispielsweise die Wirkung von Androgenen auf entsprechende Rezeptoren in Trophoblastzellen, scheint beim geschlechtsspezifischen Outcome eine Rolle zu spielen (Kroener et al. 2016; Horie et al. 1992).

Bei mütterlichem Asthma während der Schwangerschaft waren diese Unterschiede mit einer erhöhten Konzentration an frei zirkulierendem Cortisol, einem verminderten placentaren Cortisol-Stoffwechsel durch die 11 β -HSD2 und einer Unterfunktion der fetalen Nebennieren bei weiblichen Feten assoziiert (Murphy et al. 2003). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass durch die Betamethason-Applikation zu Lungenreifeinduktion die placentare 11 β -HSD2-Aktivität bei weiblichen Neugeborenen, im Vergleich zu männlichen, erhöht ist und höhere Cortisol-Spiegel im Nabelschnurblut und Urin nachgewiesen werden können (Stark et al. 2009). Eine neuere Studie kam jedoch zu dem Ergebnis, dass die 11 β -HSD2-Proteinlevel und Enzymaktivität nach einmaliger Betamethasonexposition bei reifgeborenen weiblichen Feten, im Gegensatz zu männlichen, herunterreguliert ist (Braun et al. 2018). Ähnliche Beobachtungen konnten bei maternalem Stress in der Schwangerschaft gemacht werden, wobei die mRNA-Level für 11 β -HSD2 und GR α nur bei weiblichen Feten und nicht bei männlichen verringert waren (Mina et al. 2015; Wiczorek et al. 2019).

In unserer Studie ist die Expression von GR α im Falle einer IUGR bei weiblichen Plazenten im EVT im Vergleich zu gesunden Kontrollen stark hochreguliert.

Dieses Ergebnis stimmt mit früheren Erkenntnissen überein, bei welchen durch die Messung von Cortisol-Konzentrationen in Nabelschnurblut eine Hypersensitivität von weiblichen Feten gegenüber GCs beobachtet werden konnte (Saif et al. 2014). Auch am Mausmodell wurde nachgewiesen, dass weibliche Plazenten nach Applikation von Dexamethason signifikant mehr GR α exprimieren als männliche (Cuffe et al. 2017). Weiterhin zeigen unsere Ergebnisse, dass in männlichen IUGR-Plazenten der GR β sowohl im EVT als auch im SCT signifikant überexprimiert ist. Das Vorkommen von GR β in Plazentagewebe wird in der Literatur aufgrund seiner schwachen Ausprägung kontrovers diskutiert (Saif et al. 2014), was sich auch im placentaren Gewebe unserer Kontrollgruppe widerspiegelt. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, bindet GR β kein Cortisol, sondern fungiert als Antagonist von GR α (Oakley et al. 1996). Dies entspricht früheren Erkenntnissen, dass männliche Feten, im Vergleich zu weiblichen, im Falle eines Überangebots an GCs mit einer GC-Resistenz reagieren (Hodyl et al. 2011).

Ein hohes Aufkommen des GR β resultiert in einer GC-Resistenz, während ein niedriges Aufkommen in verschiedenen Geweben mit einer gesteigerten GC-Sensitivität einhergeht (Hamilos et al. 2001; Barnes 2004).

Studien haben geschlechtsspezifische Unterschiede bei der Genexpression in Plazenten männlicher und weiblicher Neugeborener identifiziert, die mit dem Geburtsgewicht korrelieren (Sood et al. 2006).

In der menschlichen Plazenta wurden GR-mRNA und Transkriptionsvarianten untersucht, wobei GR α -, Beta-, P- und Gamma-mRNA- und Promotorregionen 1A1, 1A2, 1A3, 1B und 1C nachweisbar waren (Johnson et al. 2008). GR α wies die höchste Expressionsrate auf und der Promotor 1A3 war in männlichen Plazenten stärker exprimiert als in weiblichen, was bei steigenden Cortisolkonzentrationen von Bedeutung sein kann (Johnson et al. 2008). Weitere Daten deuten darauf hin, dass die GR α -mRNA in Anwesenheit von Cortisol in weiblichen, nicht jedoch in männlichen Plazenten reduziert ist (Clifton und Murphy 2004).

Außerdem konnte in Tiermodellen beobachtet werden, dass die Regulation des GR im Gehirn und in der Lunge geschlechtsabhängig ist (Owen und Matthews 2003; Kovar et al. 2001).

Vor allem wachstumsrestringierte männliche Nachkommen haben ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Adipositas, wobei der Insulin-like Growth Factor 1 (IGF1) eine entscheidende Rolle spielt (Akanji und Smith 2012).

Eine Studie konnte am Mausmodell zeigen, dass dieser Zusammenhang durch eine Steigerung von H3K4ac an Exon 5 und eine Verringerung von H3K4me3 vermittelt wird (Fung et al. 2015). Das Vorliegen einer IUGR modifiziert den Histoncode am hepatischen IGF-1-Gen der Ratte ebenso geschlechtsspezifisch (Fu et al. 2009).

Modifikationen von H3 zeigen im sich entwickelnden Maushirn geschlechtsabhängige Unterschiede, wobei der Geschlechtsunterschied bei der Acetylierung sowohl früher beginnt und auch früher endet, als bei der Methylierung (Tsai et al. 2009). Durch die pränatale Behandlung mit Testosteron blieben die geschlechtsabhängigen Unterschiede bei H3K9me bestehen, während die H3K9ac-Spiegel von weiblichen neugeborenen Mäusen auf die der männlichen anstiegen (Tsai et al. 2009). Außerdem wird angenommen, dass Sexualhormone die epigenetische Regulation von Genen beeinflussen und dadurch eine geschlechtsabhängige Anfälligkeit für komplexe Krankheiten verursachen (Kaminsky et al. 2006).

So werden beispielsweise histonmodifizierende Enzyme geschlechtsabhängig in der Plazenta exprimiert. Die Expression von KDM5c, welche in Zusammenhang mit dem X-Chromosom Gen steht, ist in der weiblichen Plazenta höher, während die Expression der Y-Chromosom verknüpften Gene KDM5d und Uty in der männlichen Plazenta höher ist (Singh et al. 2019).

Diese Erkenntnisse befürworten die Hypothese, dass die fetale und plazentare Reaktion auf GCs geschlechtsabhängig ist und über die GR-Expression und Funktion reguliert wird. Weiterhin liefern sie eine Erklärung, warum das weibliche Geschlecht mit einer niedrigeren perinatalen Morbidität und Mortalität assoziiert ist.

Dies unterstreicht die Notwendigkeit in der wissenschaftlichen Arbeit auch die geschlechtsabhängigen Unterschiede bei der Auswertung der Ergebnisse in Zukunft stärker zu berücksichtigen. Einen Beitrag leistet die sich zunehmend auf dem Vormarsch befindende Gendermedizin.

4.3 Die Rolle von Histonmodifikationen bei Schwangerschaftskomplikationen

In unserer Studie zeigte sich, dass die Methylierung von H3K4 in Plazenten von IUGR-Schwangerschaften, im Vergleich zu gesunden Kontrollen herunterreguliert ist. Dieses Ergebnis erreichte im SCT von weiblichen Feten statistische Signifikanz. Weiterhin kamen wir zu dem Ergebnis, dass die Acetylierung von H3K9 in Plazenten von männlichen Feten mit IUGR im Vergleich zu gesunden Kontrollen im EVT herunterreguliert ist.

Eine mangelnde Trophoblasteninvasion führt zu einem gestörten Remodeling der Spiralarterien und somit zu IUGR und Präeklampsie (Kaufmann et al. 2003).

Bei der Differenzierung des SCT konnte eine Herunterregulierung proinflammatorischer Transkriptionsfaktoren beobachtet werden, was mit einer verminderten Promotoranreicherung von endogenem H3K27ac, H3K9ac und einer verstärkten Bindung von H3K9me und HDAC1 verbunden war; diese Erkenntnisse könnten einen therapeutischen Ansatz bei der Behandlung von Erkrankungen wie IUGR und Präeklampsie darstellen (Kwak et

al. 2019). So ist beispielsweise in den USA (United States of America) der HDAC-Hemmer Vorinostat bereits zur Therapie des fortgeschrittenen kutanen T-Zell-Lymphoms zugelassen (Mann et al. 2007).

Einige Studien konnten zeigen, dass eine Plazentainsuffizienz, die als häufigste Ursache einer IUGR gilt, zu epigenetischen Veränderungen bei den Nachkommen führt. Die Plazentainsuffizienz wurde durch Ligation der Aa. uterinae herbeigeführt und postpartal in der Leber von wachstumsrestringiertem Rattennachwuchs eine DNA-Hypomethylierung, welche gleichzeitig mit einem Anstieg der H3-Acetylierung verbunden war, beobachtet (MacLennan et al. 2004).

Im selben Modell wurde bei neugeborenen IUGR-Ratten postpartal eine signifikant erhöhte Acetylierung von H3K9, H3K14 und H3K18 nachgewiesen, was mit einer verringerten HDAC-Aktivität einherging; am 21. Lebenstag war die H3-Hyperacetylierung nur noch bei männlichen IUGR-Nachkommen nachweisbar (Fu et al. 2004). Im Vergleich zu unseren Ergebnissen scheint dies widersprüchlich zu sein, jedoch können die Unterschiede auf das untersuchte Gewebe zurückgeführt werden. So konnte eine weitere Studie an der Trophoplast-Zelllinie Bewo zeigen, dass in insuffizienten Plazenten signifikant erniedrigte H3-Acetylierungslevel bei K9, K14, K18, K27 und K56 auftreten (Eddy et al. 2019).

Das QPCT-Gen ist am placentaren Nährstofftransport beteiligt und es wurde herausgefunden, dass die Modifikation von H3K4me mit einer gesteigerten maternalen Expression von QPCT einhergeht, was eine Rolle bei der IUGR spielen könnte (Guo et al. 2015).

Als wichtige Voraussetzung für eine physiologische Plazentation und somit ausreichende Nährstoffversorgung für den Fetus, ist die mangelnde Syncytialisierung an der Pathophysiologie der IUGR beteiligt (Hutter et al. 2016).

H3K4me und H3K9ac spielen bei der erfolgreichen Syncytialisierung eine wichtige Rolle und sind daher hochreguliert, oder zumindest wesentlich an diesem Prozess beteiligt, wie in BeWo-Zellen nachgewiesen werden konnte (Shankar et al. 2015).

Eine Studie konnte zeigen, dass die Trophoblastenfusion bei der Plazentaentwicklung von der Regulation der Aktivität des humanen Transkriptionsfaktor GCM (Glial Cell Missing) a durch HATs und HDACs abhängig ist (Chuang et al. 2006). Weiterhin wurden genomweite Veränderungen bei der Acetylierung von H3K27 in Regionen, die für die Entwicklung und Funktion der Plazenta verantwortlich sind, bei IUGR-Plazenten identifiziert (Paauw et al. 2018).

Das humane PSG (Pregnancy Specific Glycoprotein) wird in der Plazenta synthetisiert und ist bei Schwangerschaftskomplikationen wie der IUGR vermindert (Grudzinskas et al. 1983; Gardner et al. 1997). Die Hemmung der HDAC induziert die Transkription und

Proteinsynthese von PSG, was mit einem höheren Gehalt an acetyliertem Histon H3 an der Regulatorregion von PSG korreliert (Camolotto et al. 2013).

Das Plazentare Wachstumshormon spielt bei Schwangerschaftskomplikationen wie Präeklampsie und IUGR eine Rolle (Mittal et al. 2007).

Die Aktivierung der Transkription von plazentaspezifischen Wachstumshormon-Genen wird durch HAT- und HMT-Coaktivatorkomplexe reguliert (Kimura et al. 2004). Die Invasion der Plazenta weist Gemeinsamkeiten mit dem Wachstum von Krebszellen auf und bei beiden Prozessen sind Metalloproteinasen relevant (Soundararajan und Rao 2004). Eine Studie konnte die Assoziation von H3K9/27me3 mit der Expression dieser Metalloproteinasen bei Trophoblastinvasionsstörungen wie Präeklampsie und gestationsbedingten Trophoblasttumoren zeigen (Rahat et al. 2016).

Das Tumorsuppressorgen Maspin (Mammary Serine Protease Inhibitor) spielt bei der Implantation, Trophoblasteninvasion und frühen Plazentaentwicklung eine Rolle (Dokras et al. 2002). In einer weiteren Studie wurde belegt, dass eine erhöhte Maspin-Expression durch den Wechsel von der Methylierung zur Acetylierung von H3 bei K9, die Steigerung der Methylierung von H3 bei K4 und die Abnahme der Methylierung von H3 bei K27 erreicht wird (Dokras et al. 2006). Andere Untersuchungen zeigten, dass in Trophoblastzellen, im Gegensatz zu den meisten anderen Zellen, MHC-II-Moleküle nicht durch Interferon-gamma induziert werden (Maccani und Marsit 2009; Zuckermann und Head 1986). In diesem Zusammenhang wurde auch die Acetylierung von H3- und H4 untersucht und eine weitere mögliche Erklärung für das Phänomen der fetomaternalen Toleranz gefunden (Morris et al. 2002).

Die Erforschung der Auswirkungen von Histonmodifikationen auf die Genexpression der Plazenta, ermöglicht ein besseres Verständnis für epigenetischen Regulationsmechanismen wie feto-maternale Toleranz, plazentare Differenzierung und Wachstum (Maccani und Marsit 2009).

4.4 Zusammenhang zwischen GR-Expression und Histonmodifikationen

Die immunhistochemischen Untersuchungen in unserer Studie zeigten die Herunterregulierung von H3K4me im SCT von weiblichen IUGR-Plazenten und für H3K9ac in männlichen EVT bei IUGR. Diese Ergebnisse gehen mit der Hochregulierung von entweder GR α oder GR β einher.

Eine andere Studie konnte an der menschlichen Chorioncarcinom-Zelllinie JEG3 zeigen, dass die Hemmung von HDACs der Klassen I oder II mit einem Anstieg der 11 β -HSD2-Proteinexpression einhergeht und die durch Cortisol-Administration verursachte Abnahme 11 β -HSD2-Expression verhindert (Togher et al. 2017).

P300 besitzt intrinsische HAT-Aktivität und interagiert mit Transkriptionsfaktoren wie dem Spezifischen Protein 1 (Sp1) (Sun et al. 2006). Diese Wechselwirkung spielt eine entscheidende Rolle bei der Histonacetylierung im Zusammenhang mit der 11 β -HSD2-Expression in SCTs, was Auswirkungen auf die Bildung der plazentaren GC-Barriere bei normalen Schwangerschaften und bei pathologischen Zuständen wie IUGR haben kann (Li et al. 2013). GCs induzieren einen Transkriptionskomplex aus RelB/p52, CBP und HDAC1, der über die Acetylierung von H3K9 die CRH-Expression in reifen Plazenten beeinflusst (Di Stefano et al. 2015). H3K9ac reguliert eine Vielzahl von wehenfördernden Genen, daher könnte dieser Mechanismus ein interessantes therapeutisches Ziel bei der Hemmung vorzeitiger Wehentätigkeit darstellen (Wang et al. 2019).

Nikotinabusus während der Schwangerschaft gilt als Risikofaktor für die Entwicklung einer IUGR. Untersuchungen ergaben, dass ein zugrunde liegender Mechanismus die Erhöhung des Corticosteron-Spiegels sein könnte, was mit einer verminderten Acetylierung und einer erhöhten Dimethylierung von H3K9 des 11 β -HSD2-Promotors und somit geringeren Expression von 11 β -HSD2 einhergeht (Zhou et al. 2018). Ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung einer IUGR ist Alkoholabusus in der Schwangerschaft. Pränataler Alkoholkonsum reduziert die plazentare 11 β -HSD2 Expression über die Induktion epigenetischer Modifikationen, wie die verminderte Acetylierung und gesteigerte Dimethylierung von H3K9 am 11 β -HSD2-Promotor (Yu et al. 2018).

In der BeWo-Zellkultur konnten in unserer Studie signifikant verringerte Werte der beiden untersuchten Histonproteine nach Zugabe von Prednisolon beobachtet werden. Im Gegensatz dazu waren in einer anderen Studie diese Histonproteine im Mausmodell nach Stimulation mit Dexamethason überexprimiert (Xydous et al. 2014). Berücksichtigt man jedoch das fetale Geschlecht bei der unterschiedlichen Reaktion der Histonproteine im plazentaren Gewebe auf die Anwesenheit von Glucocorticoiden, müssen die Ergebnisse nicht unbedingt gegensätzlich sein.

Nachwuchs von fürsorglichen Ratten-Müttern weist eine erhöhte GR-Expression im Hippocampus auf, was mit einer geringeren DNA-Methylierung und einer höheren H3K9-Acetylierung an der NGFI-A-Bindungsstelle des GR 1 γ -Promotors, im Vergleich zu Nachwuchs von vernachlässigenden Ratten-Müttern, einhergeht (Weaver et al. 2004). Weiterhin gibt es Hinweise darauf, dass das Niveau der 11 β -HSD2-Expression mit dem Methylierungsniveau von CpG-Inseln korreliert, die im Bereich des Promotors und Exon 1-Region des HSD2-Gens in menschlichen Zellen in vitro und bei Ratten in vivo vorkommen, was darauf hindeutet, dass epigenetische Mechanismen bei der Regulation des HSD2-Spiegels von Bedeutung sind (Alikhani-Koopaei et al. 2004).

Außerdem zeigte eine klinische Studie, dass beim Menschen niedrige Spiegel von Histon-Deacetylase-Genen (HDAC2) und proinflammatorischen Genen (RIPK2) in einem

sozialen Stresstest mit einer besseren Cortisol-Erholung einhergehen (Kaliman et al. 2014).

Wir fanden heraus, dass Prednisolon als GR-Agonist dosisabhängig zu Änderungen der Histonmodifikationen in BeWo Zellen *in vitro* führt, was mit einer Hochregulierung des GR-Gens NR3C1 vergesellschaftet ist.

Dexamethason, ebenfalls ein GR-Agonist, induziert die GR-Translokation in den Kern und rekrutiert HDAC3. Zusätzlich führt es zu einer Erhöhung der GR-Expression, während die H3K9ac-Expression verringert ist (Huang et al. 2019).

Die pränatale Dexamethason-Exposition führt im Rattenmodell über Verringerung von H3K9ac am Promotor des renalen Angiotensin-II-Rezeptors Typ 2 (AT2R) zu Nierendysplasie beim männlichen Nachwuchs und einer Glomerulosklerose bei männlichen Erwachsenen (Li et al. 2019). Weiterhin wurde gezeigt, dass eine pränatale Koffein-Exposition in Podozyten von männlichen Ratten zu hohen GC-Spiegeln führt, was wiederum die Expression von HDAC7 und GR steigert, während die Konzentration von H3K9ac am Promotor des Kruppel-like-Faktor 4 (KLF4) sinkt (Zhu et al. 2019).

Die CRH-Expression in Trophoblasten wird durch epigenetische Mechanismen gesteuert, indem die syncytiale Differenzierung mit einem höheren Niveau an aktivierenden (H3ac, H4ac, H3K4me3) und einem niedrigeren Niveau an supprimierenden (H3K9me3, H3K27me3) Histonmodifikationen am CRH-Promotor einhergeht (Pan et al. 2017).

4.5 Fetale Programmierung als Ursache für Erkrankungen im Erwachsenenalter

Die Barker Hypothese beschreibt den Zusammenhang zwischen der IUGR und der Entwicklung eines metabolischen Syndroms (arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2, Dyslipidämie und Adipositas) im Erwachsenenalter (Hales und Barker 2001). Dieses Erkenntnis beruht auf einer Kohortenstudie in Hertfordshire, England, mit 5654 Männern, die zwischen den Jahren 1911-1930 geboren wurden (Barker et al. 1989). Auch für Frauen konnte der Zusammenhang bestätigt werden (Osmond et al. 1993; Rich-Edwards et al. 1997).

Weiterhin konnten diese Beobachtungen auch in anderen Ländern wie Schweden und Holland bestätigt werden und ebenso in Ländern wie Südafrika und Indien, wo Adipositas eine untergeordnete Rolle spielt (Leon et al. 1998; Roseboom et al. 2001; Stein et al. 1996; Levitt et al. 2000).

Die Barker Hypothese wird auch als „thrifty phenotype hypothesis“ bezeichnet, da davon ausgegangen wird, dass eine Umprogrammierung des endokrinen Milieus bei IUGR-Feten stattfindet, um das kurzfristige Überleben zu sichern (Hales und Barker 1992; Kanaka-Gantenbein et al. 2003).

Bei der fetalen Programmierung spielen GCs eine entscheidende Rolle.

Insbesondere den Endokrinologen ist dieses Phänomen bekannt, da es dem Cushing-syndrom ähnelt, bei welchem ein GC-Überschuss mit dem metabolischen Syndrom assoziiert ist (Seckl und Meaney 2004).

Durch ein ungünstiges intrauterines Umfeld kommt es zu einer Überaktivierung der HPA-Achse, was zu einem gesteigerten Cortisol-Spiegel, ähnlich wie bei chronischem Stress, führt (Kanaka-Gantenbein et al. 2003). Die erhöhten Cortisol-Spiegel sind bis ins Erwachsenenalter nachweisbar (Phillips et al. 2000).

Änderungen der HPA-Achse führen nicht nur zu langfristigen Auswirkungen auf Atherosklerose, Dyslipidämie, Diabetes mellitus Typ 2 und die Immunsuppression, sondern auch zu Verhaltensstörungen (Calkins und Devaskar 2011).

Maternaler Stress während der Schwangerschaft kann zu geschlechtsspezifischen neurologischen Entwicklungsstörungen führen, welche hauptsächlich bei männlichen Nachkommen auftreten (Bronson und Bale 2016). Männliche Nachkommen, deren Mütter Stress während der Schwangerschaft erfahren haben, weisen ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Schizophrenie (van Os und Selten 1998; Khashan et al. 2008) und Autismusspektrumstörungen auf (Beverdors et al. 2005; Varcin et al. 2017), während betroffene weibliche Nachkommen zu affektiven Störungen neigen (Buss et al. 2012). Die wiederholte pränatale Gabe von Dexamethason bewirkt eine Änderung der GRs im Gehirn und der Hypophyse, was zur Programmierung des Organwachstums, des Blutdrucks und der HPA-Achse bei reifen männlichen Nachkommen führt (Banjanin et al. 2004). Außerdem führt mütterlicher Stress während der Schwangerschaft durch erhöhte GC-Spiegel zu einer Dysregulation des plazentaren Nährstofftransports und der Produktion von plazentaren Wachstumsfaktoren, was das fetale Wachstum in geschlechtsabhängiger Weise beeinträchtigen kann (Cuffe et al. 2012; Briffa et al. 2017).

Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Verfügbarkeit von Nahrung und der rhythmischen Aktivität der HPA-Achse (Lesage et al. 2001).

Die maternale Ernährung während der Schwangerschaft beeinflusst die Entwicklung eines arteriellen Hypertonus beim Nachwuchs im Erwachsenenalter sowie die Größe der Plazenta (Campbell et al. 1996). Eine Fehlernährung (Adipositas, Nahrungsrestriktion, mangelnde Proteinzufuhr) führt häufig zu einer Verringerung der 11 β -HSD2 in der Plazenta sowie zu einem Anstieg von GCs bei Müttern und Feten (Chivers und Wyrwoll 2017). Die erhöhte GC-Exposition ist durch eine verringerte 11 β -HSD2-Aktivität mit einem niedrigen Geburtsgewicht, einem hohen Plazentagewicht und der Entwicklung eines arteriellen Hypertonus assoziiert (Benediktsson et al. 1993). Zusätzlich kommt es dadurch zu einer gesteigerten GR-Expression (Bertram et al. 2001).

Ein GC-Exzess birgt einen kurzfristigen Nutzen für den Feten durch die vermehrte Bereitstellung von beispielsweise Glucose (Edwards et al. 1996). Studien mit dem Medikament Carbenoxolon, welches die 11 β -HSD2 hemmt, zeigten jedoch, dass ein GC-Exzess beim Feten nicht nur zu einer Wachstumsrestriktion führt, sondern auch zur Hyperglykämie im späteren Leben (Lindsay et al. 1996; Saegusa et al. 1999).

Es gibt zahlreiche Hinweise aus experimentellen Untersuchungen dafür, dass epigenetische Mechanismen als Erinnerung an die Exposition gegenüber schlechten Bedingungen in frühen Stadien des Lebens dienen und dass diese Mechanismen langfristige Veränderungen der Genexpression induzieren, die zu Erkrankungen in späteren Lebensstadien führen (Gabory et al. 2011). So führt mütterlicher Stress während der Schwangerschaft zu epigenetischen Modifikationen, die zur fetalen Programmierung beitragen (Zucchi et al. 2013). Außerdem kann es durch eine Plazentainsuffizienz zu fetalem Stress kommen, was sich auf die Entwicklungsprogrammierung auswirkt (Goyal et al. 2019).

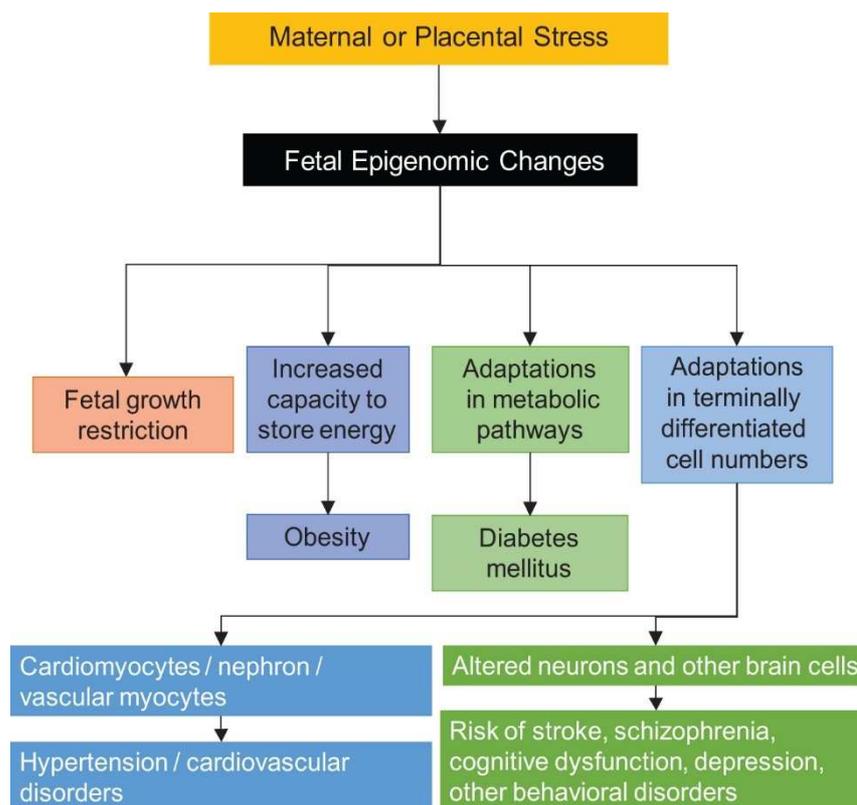


Abbildung 30: Maternale und plazentare stressbedingte Veränderungen des fetalen Epigenoms, die für die fetale Programmierung und Anpassungsreaktion verantwortlich sind sowie zu Veränderungen des Phänotyps und Erkrankungen im Erwachsenenalter führen können. (Goyal et al. 2019)

Pdx-1 ist ein Transkriptionsfaktor, der eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des endokrinen und exokrinen Pankreas spielt sowie bei der Differenzierung und Funktion von β -Zellen (Pinney und Simmons 2010). Die Pdx-1 mRNA Level sind bei über 50 Prozent der IUGR-Ratten reduziert (Pinney und Simmons 2010). Die Inaktivierung des Pdx-1-Gens trägt zur Entwicklung des Typ 2 Diabetes mellitus bei (Ahlgren et al. 1998; Brissova et al. 2005). Es wurde festgestellt, dass im Fetalstadium vor dem Auftreten von Diabetes bei IUGR eine Deacetylierung von H3 und H4 durch die HDAC1 und des Co-Repressors Sin3A am Promotor von Pdx-1 stattfindet (Park et al. 2008). Postnatal sind H3K4 und H3K9 methyliert, wobei zu diesem Zeitpunkt die epigenetischen Prozesse noch reversibel sind und damit ein therapeutisches Fenster darstellen können (Park et al. 2008).

Das Antidiabetikum Liraglutid zeigte im Rattenmodell eine protektive Wirkung auf die β -Zellfunktion der Pankreasinseln durch eine H3-Modifikation am proximalen Pdx-1-Promotor und könnte zur Behandlung von Stoffwechselstörungen im Zusammenhang mit dem Aufholwachstum wie es bei der IUGR auftritt, verwendet werden (Gao et al. 2018). Des Weiteren kommt es durch Histonmodifikationen (insbesondere H3K4me und H3K27me) bei wichtigen Transkriptionsfaktoren und Genen zu langfristigen Veränderungen des Phänotyps der Inselzellen des Pankreas bei der IUGR im Rattenmodell (Lien et al. 2020). Beispielsweise sind im fetalen Pankreas bei der IUGR die HDAC 1 und 2 herunterreguliert, während Sirt 1 und 3 und acetyliertes H3K56 hochreguliert sind, was die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes mellitus im Erwachsenenalter begünstigen kann (Liu et al. 2019)

Weiterhin konnte eine Studie zeigen, dass die perinatale Nährstoffrestriktion als Ursache einer IUGR über eine verringerte Genexpression des Glukose-Transporters GLUT 4 im Skelettmuskel durch die Rekrutierung von HDAC1 zur Deacetylierung von H3K14 und verstärkte Bindung von HDAC4-Enzymen sowie über die Dimethylierung von H3K9 zu einer Insulinresistenz führt (Raychaudhuri et al. 2008).

Die JHDM2A (JmjC-domain-containing histone demethylase 2A) katalysiert die Entfernung der Mono- und Dimethylierung von H3K9 (Inagaki et al. 2009).

Außerdem reguliert dieses Enzym metabolische Gene, die mit der Energiehomöostase wie Anti-Adipogenese, Regulation der Fettspeicherung, Glucose-Transport und Typ 2 Diabetes mellitus zusammenhängen (Inagaki et al. 2009).

Mäuse, denen JHDM2a fehlt, entwickeln im Erwachsenenalter Adipositas, Hypertriglyceridämie, Hypercholesterinämie, Hyperinsulinämie und Hyperleptinämie, die Kennzeichen des metabolischen Syndroms sind (Inagaki et al. 2009).

Eine kohlenhydratreiche Ernährung führt im Rattenmodell zu einer Erhöhung der H3/H4-Acetylierung an Genen, die für den Kohlenhydratstoffwechsel von Bedeutung sind, was die Entwicklung einer Adipositas hervorrufen könnte (Inoue et al. 2011).

An der Maus-Blastocyste führte eine proteinarme Ernährung als Stressor in der Präimplantationsphase zu einer H3/H4-Hypoacetylierung, was ausreichte, um beim Nachwuchs Herz-Kreislauf- und metabolische Erkrankungen auszulösen (Sun et al. 2015). Weiterhin konnte bei Rattennachwuchs, deren Müttern eine proteinreduzierte Diät verabreicht wurde, im Vergleich zu Kontrollen, eine höhere Rate an transkriptionserleichternden Histonmodifikationen am GR-Promotor festgestellt werden, während Modifikationen, welche die Transkription supprimieren, reduziert waren (Lillycrop et al. 2007). Als weitere epigenetische Ursache für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms gilt eine fettreiche Ernährung in utero, die zu einer signifikanten Erhöhung von hepatischem H3K14ac und H3K9me3 an GLUT 4 führt (Suter et al. 2014). Des Weiteren kommt es dabei zu einer niedrigeren Acetylierung und gesteigerten Methylierung von H3K9 am Promoter des Aponectin-Gens im Fettgewebe und auch die Methylierung von H4K20 am Leptin-Promotor ist signifikant erhöht (Masuyama und Hiramatsu 2012). Eine andere Studie zeigte, dass eine kalorienreiche Ernährung der Mutter während der Schwangerschaft die fetale Chromatinstruktur durch Modifikationen der H3-Acetylierung epigenetisch verändert und damit die molekulare Grundlage für die Hypothese des fetalen Ursprungs für die Entwicklung von Erkrankungen im Erwachsenenalter, wie beispielsweise Adipositas, bildet (Aagaard-Tillery et al. 2008) .

In Anbetracht der aktuellen Studienlage könnte man annehmen, dass möglicherweise die Ausschaltung von Risikofaktoren, wie maternaler Stress und eine Fehlernährung während der Schwangerschaft als Prävention einer IUGR von Bedeutung sind. Klinisch könnte man dadurch auch auf eine Verbesserung der plazentaren Perfusion hoffen. Auf molekularer Ebene würde dies einerseits zu einer Homöostase der zahlreichen durch GCs vermittelten Vorgänge führen, andererseits könnten Histonmodifikationen, die zu einer ungünstigen Änderung des Phänotyps beitragen können, verhindert werden.

5. Zusammenfassung

Unter dem Begriff der intrauterinen Wachstumsrestriktion (engl. Intrauterine growth restriction = IUGR) versteht man, dass ein Fetus sein genetisch determiniertes Wachstumspotenzial aufgrund einer Pathologie nicht ausschöpfen kann. Sie ist mit einer erhöhten perinatalen Morbidität und Mortalität assoziiert und die Folgen können bis ins Erwachsenenalter reichen. Grundlage für die fetale Programmierung ist die Barker-Hypothese, welche den Zusammenhang zwischen einer IUGR und der Entwicklung eines metabolischen Syndroms im Erwachsenenalter beschreibt (Osmond und Barker 2000).

Die Inzidenz wachstumsrestringierter Neugeborener wird mit 3-7 Prozent angegeben (Romo et al. 2009). Siebzig Prozent aller IUGR-Fälle lassen sich durch eine Plazentainsuffizienz erklären, wobei eine abnormal flache Trophoblasteninvasion zu einer mangelhaften Umwandlung der Spiralarterien und zur Zottenarchitekturstörung führt (Schneider et al. 2007; Tang et al. 2017).

Weiterhin sind epigenetische Veränderungen wie Histonmodifikationen bei Schwangerschaftskomplikationen wie der IUGR von Bedeutung, da sie zu einem veränderten Phänotyp der Plazenta führen können (Roman C 2014; Gheorghe et al. 2010).

GCs sind essenziell für die fetale Organreifung aber auch mit einem verringerten fetalen Wachstum assoziiert (Chatuphonprasert et al. 2018).

Weiterhin deuten aktuelle Erkenntnisse darauf hin, dass geschlechtsspezifische Adaptationen der Plazenta für Unterschiede beim fetalen Wachstum und Überleben von zentraler Bedeutung sind und somit in der wissenschaftlichen Praxis berücksichtigt werden sollten (Clifton 2010).

Ziel der vorliegenden Dissertation war es daher, die Expression der GR α und β sowie der Histonproteine H3K4me und H3K9ac in IUGR-Plazenten zu untersuchen und geschlechtsabhängige Unterschiede aufzuzeigen.

Dafür haben wir insgesamt 29 Plazenten untersucht. Bei den Feten von 14 dieser Patientinnen wurde pränatal eine IUGR diagnostiziert, während die weiteren 15 Patientinnen einen unauffälligen Schwangerschaftsverlauf hatten (Kontrollgruppe). In der IUGR-Gruppe fanden sich jeweils 7 Plazenten von männlichen und weiblichen Feten, während in die Kontrollgruppe 7 weibliche und 8 männliche Plazenten eingeschlossen waren. Zunächst wurden immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt und die Ergebnisse anschließend durch Immunofluoreszenz-Doppelfärbungen bestätigt.

Dabei zeigte sich, dass weiblichen IUGR-Plazenten signifikant mehr GR α exprimieren, als männliche. Die Hochregulation von GR α deutet auf eine Hypersensitivität von weiblichen Feten gegenüber GCs hin (Saif et al., 2014).

Die Expression des GR β war im SCT von Plazenten männlicher Feten im Vergleich zu weiblichen hochreguliert. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass dieser Rezeptor in Plazenten von männlichen IUGR-Feten im Vergleich zur Kontrollgruppe stärker exprimiert wurde.

GR β bindet kein Cortisol, sondern fungiert als Antagonist von GR α (Oakley et al. 1996). Dies entspricht früheren Erkenntnissen, dass männliche Feten im Vergleich zu weiblichen im Falle eines Überangebots an GCs mit einer GC-Resistenz reagieren (Hodyl et al. 2011).

Außerdem zeigten unsere Daten eine verringerte Expression von Histonproteinen in IUGR-Plazenten. H3K4me3 war in weiblichen und H3K9ac in männlichen IUGR-Plazenten herunterreguliert. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang zwischen der geschlechtsabhängigen Expression von H3K4me und GR α bei weiblichen Feten, sowie von H3K9ac und GR β bei männlichen Feten in IUGR-Plazenten.

Die Stimulation von BeWo-Zellen mit Prednisolon *in vitro* zeigte, dass die Expression H3K4me und H3K9ac bei höheren Prednisolon-Konzentrationen in Trophoblastzellen vermindert ist. Erhöhte GC-Spiegel könnten somit für die geschlechtsabhängige Herunterregulierung von Histonproteinen in IUGR-Plazenten verantwortlich sein.

Hohe Konzentrationen von Prednisolon führten in der PCR zu einer signifikanten Hochregulierung des GR-Gens NR3C1. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Hochregulation von GR α und GR β in IUGR-Plazenten tatsächlich eine Reaktion auf eine übermäßige GC-Exposition während der Schwangerschaft sein könnte.

Unsere Studie unterstreicht die Hypothese, dass GCs bei der Pathophysiologie der IUGR in geschlechtsabhängiger Weise eine entscheidende Rolle spielen. Weiterhin gewinnt ihr Beitrag zur fetalen Programmierung zunehmend Relevanz.

Wir konnten zusätzlich einen Zusammenhang zu epigenetischen Prozessen wie Histonmodifikationen aufzeigen.

Bisher hatte die Ausschaltung von Risikofaktoren wie maternaler Stress und eine Fehlernährung während der Schwangerschaft als Prävention einer IUGR die größte Bedeutung. Unsere Erkenntnisse liefern, durch ein besseres Verständnis der Pathophysiologie, Ansätze, um durch weitere Forschung therapeutische Möglichkeiten zu entwickeln und dadurch Folgen für betroffene Kinder, die bis ins Erwachsenenalter reichen und zu langfristigen Konsequenzen auch für die Gesellschaft führen, abzuwehren.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau einer reifen Plazenta (Weyerstahl und Stauber 2013)	19
Abbildung 2: Schematische Darstellung des menschlichen GR (Nicolaidis et al. 2009).....	23
Abbildung 3: Positivkontrollen in der Immunhistochemie.....	36
Abbildung 4: GR α im EVT der Plazenta eines gesunden weiblichen Fetus	45
Abbildung 5: GR α Expression im EVT der Plazenta eines weiblichen IUGR-Fetus	45
Abbildung 6: Geschlechtsabhängige GR α -Expression in Kernen des EVT als Boxplot	46
Abbildung 7: Geschlechtsabhängige GR α -Expression in Kernen des EVT in Korrelation zum Gestationsalter bei Entbindung als Boxplot.....	46
Abbildung 8: Signifikante geschlechtsabhängige GR β -Expression im SCT als Boxplot.....	47
Abbildung 9: GR β -Expression im SCT der Plazenta eines gesunden männlichen Fetus.....	47
Abbildung 10: GR β -Expression im SCT der Plazenta eines männlichen IUGR-Fetus.....	48
Abbildung 11: Geschlechtsabhängige GR β -Expression im EVT als Boxplot	48
Abbildung 12: GR β -Expression im EVT der Plazenta eines gesunden männlichen Fetus	49
Abbildung 13: GR β - Expression im EVT der Plazenta eines männlichen IUGR-Fetus.....	49
Abbildung 14: Geschlechtsabhängige H3K4me-Expression in SCTs als Boxplot	50
Abbildung 15: H3K4me-Expression im SCT der Plazenta eines gesunden weiblichen Fetus	51
Abbildung 16: H3K4me-Expression im SCT der Plazenta eines weiblichen IUGR-Fetus	51
Abbildung 17: Geschlechtsabhängige H3K9ac-Expression in EVTs als Boxplot.....	52
Abbildung 18: H3K9ac-Expression im EVT der Plazenta eines gesunden männlichen Fetus.....	53
Abbildung 19: H3K9ac-Expression im EVT der Plazenta eines männlichen IUGR-Fetus	53
Abbildung 20: Gemeinsame Expression von GR α und CK 7 in EVTs.....	54
Abbildung 21: Gemeinsame Expression von GR β und CK 7 in EVTs.....	55
Abbildung 22: Gemeinsame Expression von H3K9ac und CK 7 in EVTs	56
Abbildung 23: Signifikant niedrigere H3K4me-Expression nach Stimulation mit 0,1 μ M Prednisolon	57
Abbildung 24: Färbeergebniss der H3K4me-Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon	58
Abbildung 25: Isotypenkontrolle der H3K4me-Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon	58
Abbildung 26: Signifikant niedrigere H3K9ac-Expression nach Stimulation mit 0,1 μ M	59
Abbildung 27: Färbeergebnis der H3K9ac-Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon	60
Abbildung 28: : Isotypenkontrolle der H3K9ac- Expression in BeWo-Zellen nach Stimulation mit Prednisolon	60

Abbildung 29: Regulation von NR3C1 nach Stimulation mit Prednisolut	61
Abbildung 30: Maternale und plazentare stressbedingte Veränderungen des fetalen Epigenoms	72

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Unterschiede zwischen früher und später IUGR.....	8
Tabelle 2: Ursachen für die IUGR	10
Tabelle 3: Transportmechanismen der Plazenta	20
Tabelle 4: Klinische Kriterien des Studienkollektivs	28
Tabelle 5: Verwendete Geräte und Verbrauchsmaterialien	29
Tabelle 6: Verwendete Chemikalien.....	30
Tabelle 7: Lösungsansätze	32
Tabelle 8: Details zu den verwendeten Antikörpern, Verdünnungen und Dauer der Substratfärbung in der Immunhistochemie	35
Tabelle 9: IRS nach Remmele et al. 1987	36
Tabelle 10: Details zu den verwendeten Antikörpern und Verdünnungen der Immunfluoreszenz-Doppelfärbung	37
Tabelle 11: Aufteilung der Kammern auf den Objektträgern.....	39
Tabelle 12: Details zu den Antikörpern und Verdünnungen in der Immunzytochemie	40
Tabelle 13: Komponenten des Mastermix für die Reverse Transkription	42
Tabelle 14: Komponenten des Mastermix für die Real-Time PCR.....	43
Tabelle 15: Temperaturprotokoll Real-Time PCR.....	43
Tabelle 16: Primer	44

Abkürzungsverzeichnis

<	Kleiner
%	Prozent
Δ Ct	Cycle Threshold Wert
°C	Grad Celsius
α	Alpha
β	Beta
μ l	Mikroliter
μ m	Mikrometer
μ M	Mikromolar
11 β -HSD	11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase
A., Aa.	Arteria, Arteriae
Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Komplex
ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AEC	3-Amino-9-ethylcarbazol
AP-1	Aktivatorprotein-1
Apgar	Appearance, Pulse, Grimace, Activity, Respiration
Aqua dest.	Destilliertes Laborwasser
AT2R	Renaler Angiotensin-II-Rezeptors Typ 2
ASS	Acetyl-Salicylsäure
BeWo	Chorionkarzinomzelllinie
BMI	Body-Mass-Index
BRD	Bundesrepublik Deutschland
CBG	Corticosteroid Binding Globulin
CBP	Cyclic AMP Responsive Element Binding Protein Binding Protein
cDNA	Complementary DNA
CK 7	Cytokeratin 7
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CPG	Cytosin-phosphatidyl-Guanin
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
CTG	Cardio-Tokogramm
Cy-2	Carbocyanin-Antikörper
Cy-3	Indocarbocyanin-Antikörper
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DBD	DNA-Bindungsdomänen
DEPC	Diethylpyrocarbonate
DIGITAT	the Disproportionate Intrauterine Growth Intervention Trial at Term
DMEM	Dulbecco's modifiziertes Eagle Nährmedium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EVT	Extravillöser Trophoblast
FCS	Fetales Kälberserum
FKBP	Immunophiline
g	Gramm

g/l	Gramm pro Liter
GC	Glucocorticoide
GCM	Glial Cell Missing
GLUT 4	Glucosetransporter Typ 4
GR	Glucocorticoidrezeptor
GRE	Glucocorticoid Responsive Element
GNAT	Gcn5 related N-acetyltransferase
GRIT	The Growth Restriction Intervention Trial
H3K4me	Histon H3 methyl K4
H3K9ac	Histon H3 acetyl K9
HAT	Histonacetyltransferase
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HDAC	Histondeacetylase
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
hPL	Humanes Plazentalaktogen
HRP	Horse Radish Peroxidase
HSP	Hitzeschockprotein
IgG	Immunglobulin G
IRS	Immunreaktiver Score
IUFT	Intrauteriner Fruchttod
IUGR	Intrauterine Wachstumsrestriktion
JEG3	Chorionkarzinomzelllinie
JmjC	Jumonji C
JHDM2A	JmjC-domain-containing histone demethylase 2A
kDa	Kilodalton
KDM	Histone lysine demethylase
KLF4	Kruppel-like-Faktor 4
KMT	histone lysine methyltransferase
LBD	terminale Ligandenbindungsdomäne
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
LSD	Lysin Specific Demethylase
M	Molare Masse
Maspin	Mammary Serine Protease Inhibitor
MDB	Membrane Desalting Buffer
MHC	major histocompatibility complex
Min.	Minute
ml	Milliliter
mRNA	messenger ribonucleic acid
MYST	MOZ, Ybf2/Sas3, Sas2, Tip60
Na ⁺	Natrium
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NF-kappaB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
nGRE	negative glucocorticoid receptor response elements
NICHD	Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development
NO	Stickstoffmonoxid
NR3C1	Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 1
NTD	N-terminale Transaktivierungsdomäne
O ₂	Sauerstoff

p	Signifikanzwert
pH	Potentia Hydrogenii
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	polymerase chain reaction
Pdx-1	pancreatic and duodenal homeobox 1
PORTO	Prospective Observational Trial to Optimize Pediatric Health in Intrauterine Growth Restriction
PSG	Pregnancy Specific Glycoprotein
QPCT	Glutaminy-peptide cyclotransferase
RelB/p52	NF-kappaB Heterodimer
RCOG	Royal College of Obstetricians and Gynaecologists
RIPK2	Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 2
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
SCT	Syncytiotrophoblast
SD	Standardabweichung
SGA	Small for Gestational Age
Sp1	Spezifischen Protein 1
SPSS	Social Sciences Computer Software Version
SSW	Schwangerschaftswochen
STV	Short term variation
TORCH	Toxoplasmose, „others“, z.B. Syphilis, Röteln, Cytomegalie und Herpes
TRUFFLE	Trial of Umbilical and Fetal Flow in Europe
Upm	Umdrehungen pro Minute
USA	Unites States of America
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organization

Literaturverzeichnis

Literaturverzeichnis

Aagaard-Tillery, Kjersti M.; Grove, Kevin; Bishop, Jacalyn; Ke, Xingrao; Fu, Qi; McKnight, Robert; Lane, Robert H. (2008): Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome. In: *Journal of molecular endocrinology* 41 (2), S. 91–102. DOI: 10.1677/JME-08-0025.

ACOG Practice bulletin no. 134. : fetal growth restriction (2013). In: *Obstetrics and gynecology* 121 (5), S. 1122–1133.

Ahlgren, U.; Jonsson, J.; Jonsson, L.; Simu, K.; Edlund, H. (1998): beta-cell-specific inactivation of the mouse *Ipf1/Pdx1* gene results in loss of the beta-cell phenotype and maturity onset diabetes. In: *Genes & development* 12 (12), S. 1763–1768. DOI: 10.1101/gad.12.12.1763.

Akanji, Abayomi O.; Smith, Robert J. (2012): The insulin-like growth factor system, metabolic syndrome, and cardiovascular disease risk. In: *Metabolic syndrome and related disorders* 10 (1), S. 3–13. DOI: 10.1089/met.2011.0083.

Alikhani-Koopaei, Rasoul; Fouladkou, Fatemeh; Frey, Felix J.; Frey, Brigitte M. (2004): Epigenetic regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression. In: *The Journal of clinical investigation* 114 (8), S. 1146–1157. DOI: 10.1172/JCI21647.

Anandakumar, C.; Chew, S.; Wong, Y. C.; Malarvisy, G.; Po, L. U.; Ratnam, S. S. (1996): Early asymmetric IUGR and aneuploidy. In: *The journal of obstetrics and gynaecology research* 22 (4), S. 365–370.

Ananth, Cande V.; Peltier, Morgan R.; Chavez, Martin R.; Kirby, Russell S.; Getahun, Darios; Vintzileos, Anthony M. (2007): Recurrence of ischemic placental disease. In: *Obstetrics and gynecology* 110 (1), S. 128–133. DOI: 10.1097/01.AOG.0000266983.77458.71.

Ananth, Cande V.; Vintzileos, Anthony M. (2009): Distinguishing pathological from constitutional small for gestational age births in population-based studies. In: *Early human development* 85 (10), S. 653–658. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2009.09.004.

Anceschi, Maurizio M.; Piazzze, Juan J.; Ruozi-Berretta, Angelo; Cosmi, Erich; Cerekja, Albana; Maranghi, Luca; Cosmi, Ermelando V. (2003): Validity of short term variation (STV) in detection of fetal acidemia. In: *Journal of perinatal medicine* 31 (3), S. 231–236. DOI: 10.1515/JPM.2003.031.

Arnaudo, Anna M.; Garcia, Benjamin A. (2013): Proteomic characterization of novel histone post-translational modifications. In: *Epigenetics & chromatin* 6 (1), S. 24. DOI: 10.1186/1756-8935-6-24.

- Aumüller, Gerhard; Wurzinger, Laurenz J. (2010): Anatomie. 208 Tabellen. 2. überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe). Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1055/b-002-46981>.
- Bamberg, Christian; Kalache, Karim D. (2004): Prenatal diagnosis of fetal growth restriction. In: *Seminars in fetal & neonatal medicine* 9 (5), S. 387–394. DOI: 10.1016/j.siny.2004.03.007.
- Bamberger, C. M.; Bamberger, A. M.; Castro, M. de; Chrousos, G. P. (1995): Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. In: *The Journal of clinical investigation* 95 (6), S. 2435–2441. DOI: 10.1172/JCI117943.
- Banjanin, Sonja; Kapoor, Amita; Matthews, Stephen G. (2004): Prenatal glucocorticoid exposure alters hypothalamic-pituitary-adrenal function and blood pressure in mature male guinea pigs. In: *The Journal of physiology* 558 (Pt 1), S. 305–318. DOI: 10.1113/jphysiol.2004.063669.
- Bannister, Andrew J.; Kouzarides, Tony (2005): Reversing histone methylation. In: *Nature* 436 (7054), S. 1103–1106. DOI: 10.1038/nature04048.
- Barker, D.J.P; Osmond, C.; Winter, P.D; Margetts, B.; Simmonds, S.J (1989): WEIGHT IN INFANCY AND DEATH FROM ISCHAEMIC HEART DISEASE. In: *Lancet (London, England)* 334 (8663), S. 577–580. DOI: 10.1016/s0140-6736(89)90710-1.
- Barnes, Peter J. (2004): Corticosteroid resistance in airway disease. In: *Proceedings of the American Thoracic Society* 1 (3), S. 264–268. DOI: 10.1513/pats.200402-014MS.
- Baserga, Mariana; Hale, Merica A.; McKnight, Robert A.; Yu, Xing; Callaway, Christopher W.; Lane, Robert H. (2005): Uteroplacental insufficiency alters hepatic expression, phosphorylation, and activity of the glucocorticoid receptor in fetal IUGR rats. In: *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 289 (5), R1348-53. DOI: 10.1152/ajpregu.00211.2005.
- Bauer, Reinhard; Walter, Bernd; Brust, Peter; Füchtner, Frank; Zwiener, Ulrich (2003): Impact of asymmetric intrauterine growth restriction on organ function in newborn piglets. In: *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 110, S40-S49. DOI: 10.1016/S0301-2115(03)00171-4.
- Beckerath, Anne-Karen von; Kollmann, Martina; Rotky-Fast, Christa; Karpf, Eva; Lang, Uwe; Klaritsch, Philipp (2013): Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 208 (2), 130.e1-6. DOI: 10.1016/j.ajog.2012.11.014.
- Beitins, I. Z.; Bayard, F.; Ances, I. G.; Kowarski, A.; Migeon, C. J. (1973): The metabolic clearance rate, blood production, interconversion and transplacental passage of cortisol and cortisone in

pregnancy near term. In: *Pediatric research* 7 (5), S. 509–519. DOI: 10.1203/00006450-197305000-00004.

Benediktsson, R.; Lindsay, R. S.; Noble, J.; Seckl, J. R.; Edwards, C.R.W. (1993): Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. In: *Lancet (London, England)* 341 (8841), S. 339–341. DOI: 10.1016/0140-6736(93)90138-7.

Berger, Richard; Abele, Harald; Bahlmann, Franz; Bedei, Ivonne; Doubek, Klaus; Felderhoff-Müser, Ursula et al. (2019): Prevention and Therapy of Preterm Birth. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k Level, AWMF Registry Number 015/025, February 2019) - Part 1 with Recommendations on the Epidemiology, Etiology, Prediction, Primary and Secondary Prevention of Preterm Birth. In: *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 79 (8), S. 800–812. DOI: 10.1055/a-0903-2671.

Berndsen, Christopher E.; Denu, John M. (2008): Catalysis and substrate selection by histone/protein lysine acetyltransferases. In: *Current opinion in structural biology* 18 (6), S. 682–689. DOI: 10.1016/j.sbi.2008.11.004.

Bernstein, I. M.; Horbar, J. D.; Badger, G. J.; Ohlsson, A.; Golan, A. (2000): Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. The Vermont Oxford Network. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 182 (1 Pt 1), S. 198–206.

Bertram, C.; Trowern, A. R.; Copin, N.; Jackson, A. A.; Whorwood, C. B. (2001): The maternal diet during pregnancy programs altered expression of the glucocorticoid receptor and type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase: potential molecular mechanisms underlying the programming of hypertension in utero. In: *Endocrinology* 142 (7), S. 2841–2853. DOI: 10.1210/endo.142.7.8238.

Beune, I. M.; Pels, A.; Gordijn, S. J.; Ganzevoort, W. (2018): Definitions of fetal growth restriction in existing literature over time. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. DOI: 10.1002/uog.19189.

Beversdorf, D. Q.; Manning, S. E.; Hillier, A.; Anderson, S. L.; Nordgren, R. E.; Walters, S. E. et al. (2005): Timing of prenatal stressors and autism. In: *Journal of autism and developmental disorders* 35 (4), S. 471–478. DOI: 10.1007/s10803-005-5037-8.

Black, Joshua C.; van Rechem, Capucine; Whetstine, Johnathan R. (2012): Histone lysine methylation dynamics: establishment, regulation, and biological impact. In: *Molecular Cell* 48 (4), S. 491–507. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.11.006.

- Blair, Eve M.; Nelson, Karin B. (2015): Fetal growth restriction and risk of cerebral palsy in singletons born after at least 35 weeks' gestation. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 212 (4), 520.e1-7. DOI: 10.1016/j.ajog.2014.10.1103.
- Bloxam, David L.; Bobinski, Pawel M. (1984): Energy metabolism and glycolysis in the human placenta during ischaemia and in normal labour. In: *Placenta* 5 (5), S. 381–394. DOI: 10.1016/S0143-4004(84)80018-1.
- Boers, K. E.; Vijgen, S. M. C.; Bijlenga, D.; van der Post, J. A. M.; Bekedam, D. J.; Kwee, A. et al. (2010): Induction versus expectant monitoring for intrauterine growth restriction at term: randomised equivalence trial (DIGITAT). In: *BMJ (Clinical research ed.)* 341, c7087. DOI: 10.1136/bmj.c7087.
- Bohen, S. P.; Yamamoto, K. R. (1993): Isolation of Hsp90 mutants by screening for decreased steroid receptor function. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (23), S. 11424–11428. DOI: 10.1073/pnas.90.23.11424.
- Bonnevier, Anna; Maršál, Karel; Brodzski, Jana; Thuring, Ann; Källén, Karin (2021): Cerebroplacental ratio as predictor of adverse perinatal outcome in the third trimester. In: *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 100 (3), S. 497–503. DOI: 10.1111/aogs.14031.
- Braun, F.; Hardt, A. K.; Ehrlich, L.; Sloboda, D. M.; Challis, J. R. G.; Plagemann, A. et al. (2018): Sex-specific and lasting effects of a single course of antenatal betamethasone treatment on human placental 11 β -HSD2. In: *Placenta* 69, S. 9–19. DOI: 10.1016/j.placenta.2018.07.007.
- Braun, Thorsten; Sloboda, Deborah M.; Tutschek, Boris; Harder, Thomas; Challis, John R. G.; Dudenhausen, Joachim W. et al. (2015): Fetal and neonatal outcomes after term and preterm delivery following betamethasone administration. In: *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 130 (1), S. 64–69. DOI: 10.1016/j.ijgo.2015.01.013.
- Braun, Thorsten; Weichert, Alexander; Gil, Hannah C.; Sloboda, Deborah M.; Tutschek, Boris; Harder, Thomas et al. (2016): Fetal and neonatal outcomes after term and preterm delivery following betamethasone administration in twin pregnancies. In: *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 134 (3), S. 329–335. DOI: 10.1016/j.ijgo.2016.02.016.
- Briand, Valérie; Saal, Jessica; Ghafari, Caline; Huynh, Bich-Tram; Fievet, Nadine; Schmiegelow, Christentze et al. (2016): Fetal Growth Restriction Is Associated With Malaria in Pregnancy: A Prospective Longitudinal Study in Benin. In: *The Journal of infectious diseases* 214 (3), S. 417–425. DOI: 10.1093/infdis/jiw158.

- Briffa, Jessica F.; Hosseini, Sogand S.; Tran, Melanie; Moritz, Karen M.; Cuffe, James S. M.; Wlodek, Mary E. (2017): Maternal growth restriction and stress exposure in rats differentially alters expression of components of the placental glucocorticoid barrier and nutrient transporters. In: *Placenta* 59, S. 30–38. DOI: 10.1016/j.placenta.2017.09.006.
- Brissova, Marcela; Blaha, Michael; Spear, Cathi; Nicholson, Wendell; Radhika, Aramandla; Shiota, Masakazu et al. (2005): Reduced PDX-1 expression impairs islet response to insulin resistance and worsens glucose homeostasis. In: *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 288 (4), E707-14. DOI: 10.1152/ajpendo.00252.2004.
- Bronson, Stefanie L.; Bale, Tracy L. (2016): The Placenta as a Mediator of Stress Effects on Neurodevelopmental Reprogramming. In: *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 41 (1), S. 207–218. DOI: 10.1038/npp.2015.231.
- Buck Louis, Germaine M.; Grewal, Jagteshwar; Albert, Paul S.; Sciscione, Anthony; Wing, Deborah A.; Grobman, William A. et al. (2015): Racial/ethnic standards for fetal growth: the NICHD Fetal Growth Studies. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 213 (4), 449.e1-449.e41. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.08.032.
- Burd, Irina; Srinivas, Sindhu; Paré, Emmanuelle; Dharan, Vanita; Wang, Eileen (2009): Is sonographic assessment of fetal weight influenced by formula selection? In: *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 28 (8), S. 1019–1024.
- Buss, Claudia; Davis, Elysia Poggi; Shahbaba, Babak; Pruessner, Jens C.; Head, Kevin; Sandman, Curt A. (2012): Maternal cortisol over the course of pregnancy and subsequent child amygdala and hippocampus volumes and affective problems. In: *PNAS* 109 (20), E1312-9. DOI: 10.1073/pnas.1201295109.
- Butt, Kimberly; Lim, Ken (2014): Determination of gestational age by ultrasound. In: *Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC* 36 (2), S. 171–181. DOI: 10.1016/S1701-2163(15)30664-2.
- Byrne, J.; Warburton, D. (1987): Male excess among anatomically normal fetuses in spontaneous abortions. In: *American journal of medical genetics* 26 (3), S. 605–611. DOI: 10.1002/ajmg.1320260315.
- Calkins, Kara; Devaskar, Sherin U. (2011): Fetal origins of adult disease. In: *Current problems in pediatric and adolescent health care* 41 (6), S. 158–176. DOI: 10.1016/j.cppeds.2011.01.001.

- Camolotto, Soledad A.; Racca, Ana C.; Ridano, Magali E.; Genti-Raimondi, Susana; Panzetta-Du-tari, Graciela M. (2013): PSG gene expression is up-regulated by lysine acetylation involving his-tone and nonhistone proteins. In: *PloS one* 8 (2), e55992. DOI: 10.1371/journal.pone.0055992.
- Campbell, D. M.; Hall, M. H.; Barker, D. J.; Cross, J.; Shiell, A. W.; Godfrey, K. M. (1996): Diet in pregnancy and the offspring's blood pressure 40 years later. In: *British journal of obstetrics and gynaecology* 103 (3), S. 273–280. DOI: 10.1111/j.1471-0528.1996.tb09718.x.
- Castro, M. de; Elliot, S.; Kino, T.; Bamberger, C.; Karl, M.; Webster, E.; Chrousos, G. P. (1996): The non-ligand binding beta-isoform of the human glucocorticoid receptor (hGR beta): tissue levels, mechanism of action, and potential physiologic role. In: *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)* 2 (5), S. 597–607.
- Chatuphonprasert, Waranya; Jarukamjorn, Kanokwan; Ellinger, Isabella (2018): Physiology and Pathophysiology of Steroid Biosynthesis, Transport and Metabolism in the Human Placenta. In: *Frontiers in pharmacology* 9, S. 1027. DOI: 10.3389/fphar.2018.01027.
- Check, J.; Gotteiner, N.; Liu, X.; Su, E.; Porta, N.; Steinhorn, R.; Mestan, K. K. (2013): Fetal growth restriction and pulmonary hypertension in premature infants with bronchopulmonary dysplasia. In: *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association* 33 (7), S. 553–557. DOI: 10.1038/jp.2012.164.
- Chivers, Emily K.; Wyrwoll, Caitlin S. (2017): Maternal Malnutrition, Glucocorticoids, and Fetal Programming: A Role for Placental 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2. In: Rajkumar Ra-jendram, Victor R. Preedy und Vinood B. Patel (Hg.): Diet, nutrition, and fetal programming. Cham, Switzerland: Humana Press (Nutrition and health), S. 543–555.
- Chrousos, George P. (2004): The glucocorticoid receptor gene, longevity, and the complex disor-ders of Western societies. In: *The American journal of medicine* 117 (3), S. 204–207. DOI: 10.1016/j.amjmed.2004.05.006.
- Chuang, Hsiao-Ching; Chang, Ching-Wen; Chang, Geen-Dong; Yao, Tso-Pang; Chen, Hungwen (2006): Histone deacetylase 3 binds to and regulates the GCMa transcription factor. In: *Nucleic acids research* 34 (5), S. 1459–1469. DOI: 10.1093/nar/gkl048.
- Clarke, Joseph (1788): Observations on Some Causes of the Excess of the Mortality of Males above That of Females. In: *The London Medical Journal* 9 (Pt 2), S. 179–200.
- Clifton, V. L. (2010): Review: Sex and the human placenta: mediating differential strategies of fetal growth and survival. In: *Placenta* 31 Suppl, S33-9. DOI: 10.1016/j.placenta.2009.11.010.

- Clifton, V. L.; Murphy, V. E. (2004): Maternal asthma as a model for examining fetal sex-specific effects on maternal physiology and placental mechanisms that regulate human fetal growth. In: *Placenta* 25 Suppl A, S45-52. DOI: 10.1016/j.placenta.2004.01.004.
- Cogswell, M. E.; Yip, R. (1995): The influence of fetal and maternal factors on the distribution of birthweight. In: *Seminars in perinatology* 19 (3), S. 222–240.
- Collins, Bridget E.; Greer, Celeste B.; Coleman, Benjamin C.; Sweatt, J. David (2019): Histone H3 lysine K4 methylation and its role in learning and memory. In: *Epigenetics & chromatin* 12 (1), S. 7. DOI: 10.1186/s13072-018-0251-8.
- Committee Opinion (2017): No. 713: Antenatal Corticosteroid Therapy for Fetal Maturation. In: *Obstetrics and gynecology* 130 (2), e102-e109. DOI: 10.1097/AOG.0000000000002237.
- Conde-Agudelo, A.; Villar, J.; Kennedy, S. H.; Papageorgiou, A. T. (2018): Predictive accuracy of cerebroplacental ratio for adverse perinatal and neurodevelopmental outcomes in suspected fetal growth restriction: systematic review and meta-analysis. In: *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 52 (4), S. 430–441. DOI: 10.1002/uog.19117.
- Cordier, A-G; Nedellec, S.; Benachi, A.; Frydman, R.; Picone, O. (2011): Quels arguments pour déterminer l'origine infectieuse d'un retard de croissance intra-utérin? In: *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction* 40 (2), S. 109–115. DOI: 10.1016/j.jgyn.2011.01.001.
- Crombach, G. (2007): Intrauterine Wachstumsrestriktion. In: *Gynäkologe* 40 (11), S. 891–902. DOI: 10.1007/s00129-007-2057-9.
- Cuffe, J. S. M.; O'Sullivan, L.; Simmons, D. G.; Anderson, S. T.; Moritz, K. M. (2012): Maternal corticosterone exposure in the mouse has sex-specific effects on placental growth and mRNA expression. In: *Endocrinology* 153 (11), S. 5500–5511. DOI: 10.1210/en.2012-1479.
- Cuffe, James S. M.; Saif, Zarqa; Perkins, Anthony V.; Moritz, Karen M.; Clifton, Vicki L. (2017): Dexamethasone and sex regulate placental glucocorticoid receptor isoforms in mice. In: *The Journal of endocrinology* 234 (2), S. 89–100. DOI: 10.1530/JOE-17-0171.
- Dashe, J. S.; McIntire, D. D.; Lucas, M. J.; Leveno, K. J. (2000): Effects of symmetric and asymmetric fetal growth on pregnancy outcomes. In: *Obstetrics and gynecology* 96 (3), S. 321–327.
- Di Renzo, Gian Carlo; Rosati, Alessia; Sarti, Roberta Donati; Cruciani, Laura; Cutuli, Antonio Massimo (2007): Does fetal sex affect pregnancy outcome? In: *Gender Medicine* 4 (1), S. 19–30. DOI: 10.1016/S1550-8579(07)80004-0.

- Di Santo, S.; Malek, A.; Sager, R.; Andres, A-C; Schneider, H. (2003): Trophoblast viability in perfused term placental tissue and explant cultures limited to 7-24 hours. In: *Placenta* 24 (8-9), S. 882–894. DOI: 10.1016/s0143-4004(03)00142-5.
- Di Stefano, Valeria; Wang, Bingbing; Parobchak, Nataliya; Roche, Natalie; Rosen, Todd (2015): RelB/p52-mediated NF- κ B signaling alters histone acetylation to increase the abundance of corticotropin-releasing hormone in human placenta. In: *Science signaling* 8 (391), ra85. DOI: 10.1126/scisignal.aaa9806.
- Dickinson, Hayley; A., Bree; W., David; M., Karen (2012): Sex-Specific Effects of Prenatal Glucocorticoids on Placental Development. In: Xiaoxiao Qian (Hg.): *Glucocorticoids - New Recognition of Our Familiar Friend*: InTech.
- DiPietro, J. A.; Voegtline, K. M. (2017): The gestational foundation of sex differences in development and vulnerability. In: *Neuroscience* 342, S. 4–20. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.07.068.
- Doctor, B. A.; O'Riordan, M. A.; Kirchner, H. L.; Shah, D.; Hack, M. (2001): Perinatal correlates and neonatal outcomes of small for gestational age infants born at term gestation. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 185 (3), S. 652–659. DOI: 10.1067/mob.2001.116749.
- Dokras, A.; Gardner, L. M. G.; Kirschmann, D. A.; Seftor, E. A.; Hendrix, M. J. C. (2002): The tumour suppressor gene maspin is differentially regulated in cytotrophoblasts during human placental development. In: *Placenta* 23 (4), S. 274–280. DOI: 10.1053/plac.2001.0784.
- Dokras, Anuja; Coffin, Jeremy; Field, Lorie; Frakes, Amanda; Lee, Hwahyung; Madan, Anuradha et al. (2006): Epigenetic regulation of maspin expression in the human placenta. In: *Molecular human reproduction* 12 (10), S. 611–617. DOI: 10.1093/molehr/gal074.
- Dugoff, Lorraine; Lynch, Anne M.; Cioffi-Ragan, Darleen; Hobbins, John C.; Schultz, Lisa K.; Malone, Fergal D.; D'Alton, Mary E. (2005): First trimester uterine artery Doppler abnormalities predict subsequent intrauterine growth restriction. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 193 (3 Pt 2), S. 1208–1212. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.06.054.
- Dy, J.; Guan, H.; Sampath-Kumar, R.; Richardson, B. S.; Yang, K. (2008): Placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is reduced in pregnancies complicated with idiopathic intrauterine growth Restriction: evidence that this is associated with an attenuated ratio of cortisone to cortisol in the umbilical artery. In: *Placenta* 29 (2), S. 193–200. DOI: 10.1016/j.placenta.2007.10.010.
- Easter, Sarah Rae; Eckert, Linda O.; Boghossian, Nansj; Spencer, Rebecca; Oteng-Ntim, Eugene; Ioannou, Christos et al. (2017): Fetal growth restriction: Case definition & guidelines for data

collection, analysis, and presentation of immunization safety data. In: *Vaccine* 35 (48 Pt A), S. 6546–6554. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.01.042.

Economides, D. L.; Nicolaidis, K. H.; Linton, E. A.; Perry, L. A.; Chard, T. (1988): Plasma cortisol and adrenocorticotropin in appropriate and small for gestational age fetuses. In: *Fetal therapy* 3 (3), S. 158–164. DOI: 10.1159/000263348.

Eddy, Adrian C.; Chapman, Heather; George, Eric M. (2019): Acute Hypoxia and Chronic Ischemia Induce Differential Total Changes in Placental Epigenetic Modifications. In: *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)* 26 (6), S. 766–773. DOI: 10.1177/1933719118799193.

Edwards, Christopher R.W.; Benediktsson, Rafn; Lindsay, Robbie S.; Seckl, Jonathan R. (1996): 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenases: Key enzymes in determining tissue-specific glucocorticoid effects. In: *Steroids* 61 (4), S. 263–269. DOI: 10.1016/0039-128X(96)00033-5.

Elimian, A. (1999): Effectiveness of antenatal steroids in obstetric subgroups. In: *Obstetrics & Gynecology* 93 (2), S. 174–179. DOI: 10.1016/S0029-7844(98)00400-1.

Encío, I. J.; Detera-Wadleigh, S. D. (1991): The genomic structure of the human glucocorticoid receptor. In: *The Journal of biological chemistry* 266 (11), S. 7182–7188.

Eriksson, Johan G.; Kajantie, Eero; Osmond, Clive; Thornburg, Kent; Barker, David J. P. (2010): Boys live dangerously in the womb. In: *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council* 22 (3), S. 330–335. DOI: 10.1002/ajhb.20995.

Figueras, Francesc; Caradeux, Javier; Crispi, Fatima; Eixarch, Elisenda; Peguero, Anna; Gratacos, Eduard (2018): Diagnosis and surveillance of late-onset fetal growth restriction. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 218 (2S), S790-S802.e1. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.12.003.

Figueras, Francesc; Gratacós, Eduard (2014): Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage-based management protocol. In: *Fetal diagnosis and therapy* 36 (2), S. 86–98. DOI: 10.1159/000357592.

Fritsch, Helga; Kühnel, Wolfgang (2018): Innere Organe. 12., aktualisierte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag (Taschenatlas Anatomie, Band 2).

Fu, Qi; McKnight, Robert A.; Yu, Xing; Wang, Laiyi; Callaway, Christopher W.; Lane, Robert H. (2004): Uteroplacental insufficiency induces site-specific changes in histone H3 covalent modifications and affects DNA-histone H3 positioning in day 0 IUGR rat liver. In: *Physiological genomics* 20 (1), S. 108–116. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00175.2004.

Fu, Qi; Yu, Xing; Callaway, Christopher W.; Lane, Robert H.; McKnight, Robert A. (2009): Epigenetics: intrauterine growth retardation (IUGR) modifies the histone code along the rat hepatic

IGF-1 gene. In: *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 23 (8), S. 2438–2449. DOI: 10.1096/fj.08-124768.

Fung, Camille M.; Yang, Yueqin; Fu, Qi; Brown, Ashley S.; Yu, Baifeng; Callaway, Christopher W. et al. (2015): IUGR prevents IGF-1 upregulation in juvenile male mice by perturbing postnatal IGF-1 chromatin remodeling. In: *Pediatric research* 78 (1), S. 14–23. DOI: 10.1038/pr.2015.70.

Gabory, Anne; Attig, Linda; Junien, Claudine (2011): Developmental programming and epigenetics. In: *The American journal of clinical nutrition* 94 (6 Suppl), 1943S-1952S. DOI: 10.3945/ajcn.110.000927.

Gao, Ming; Deng, Xiu-Ling; Liu, Zhen-Hua; Song, Hui-Jie; Zheng, Juan; Cui, Zhen-Hai et al. (2018): Liraglutide protects β -cell function by reversing histone modification of Pdx-1 proximal promoter in catch-up growth male rats. In: *Journal of diabetes and its complications* 32 (11), S. 985–994. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2018.08.002.

Gardner, M. O.; Goldenberg, R. L.; Cliver, S. P.; Boots, L. R.; Hoffman, H. J. (1997): Maternal serum concentrations of human placental lactogen, estradiol and pregnancy specific beta 1-glycoprotein and fetal growth retardation. In: *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica. Supplement* 165, S. 56–58.

Gardosi, J.; Chang, A.; Kalyan, B.; Sahota, D.; Symonds, E. M. (1992): Customised antenatal growth charts. In: *Lancet (London, England)* 339 (8788), S. 283–287.

Gardosi, Jason; Madurasinghe, Vichithranie; Williams, Mandy; Malik, Asad; Francis, André (2013): Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 346, f108. DOI: 10.1136/bmj.f108.

Garite, Thomas J.; Clark, Reese; Thorp, James A. (2004): Intrauterine growth restriction increases morbidity and mortality among premature neonates. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 191 (2), S. 481–487. DOI: 10.1016/j.ajog.2004.01.036.

Gehring, U.; Segnitz, B.; Foellmer, B.; Francke, U. (1985): Assignment of the human gene for the glucocorticoid receptor to chromosome 5. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82 (11), S. 3751–3755. DOI: 10.1073/pnas.82.11.3751.

Gheorghe, Ciprian P.; Goyal, Ravi; Mittal, Ashwani; Longo, Lawrence D. (2010): Gene expression in the placenta: maternal stress and epigenetic responses. In: *The International journal of developmental biology* 54 (2-3), S. 507–523. DOI: 10.1387/ijdb.082770cg.

Ghezzi, Fabio; Tibiletti, Maria Grazia; Raio, Luigi; Di Naro, Edoardo; Lischetti, Barbara; Taborelli, Monica; Franchi, Massimo (2003): Idiopathic fetal intrauterine growth restriction: a possible inheritance pattern. In: *Prenatal diagnosis* 23 (3), S. 259–264. DOI: 10.1002/pd.571.

- Gilbert, William M.; Danielsen, Beate (2003): Pregnancy outcomes associated with intrauterine growth restriction. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 188 (6), 1596-9; discussion 1599-601.
- Goland, R. S.; Jozak, S.; Warren, W. B.; Conwell, I. M.; Stark, R. I.; Tropper, P. J. (1993): Elevated levels of umbilical cord plasma corticotropin-releasing hormone in growth-retarded fetuses. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 77 (5), S. 1174–1179. DOI: 10.1210/jcem.77.5.8077309.
- Gordijn, S. J.; Beune, I. M.; Thilaganathan, B.; Papageorgiou, A.; Baschat, A. A.; Baker, P. N. et al. (2016): Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 48 (3), S. 333–339. DOI: 10.1002/uog.15884.
- Goyal, Dipali; Limesand, Sean W.; Goyal, Ravi (2019): Epigenetic responses and the developmental origins of health and disease. In: *The Journal of endocrinology* 242 (1), T105-T119. DOI: 10.1530/JOE-19-0009.
- Gräff, Johannes; Tsai, Li-Huei (2013): Histone acetylation: molecular mnemonics on the chromatin. In: *Nature reviews. Neuroscience* 14 (2), S. 97–111. DOI: 10.1038/nrn3427.
- Greer, Eric L.; Shi, Yang (2012): Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. In: *Nature reviews. Genetics* 13 (5), S. 343–357. DOI: 10.1038/nrg3173.
- Grieger, Jessica A.; Clifton, Vicki L. (2014): A Review of the Impact of Dietary Intakes in Human Pregnancy on Infant Birthweight. In: *Nutrients* 7 (1), S. 153–178. DOI: 10.3390/nu7010153.
- GRIT study group (2003): A randomised trial of timed delivery for the compromised preterm fetus: short term outcomes and Bayesian interpretation. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 110 (1), S. 27–32.
- GRIT study group (2004): Infant wellbeing at 2 years of age in the Growth Restriction Intervention Trial (GRIT): multicentred randomised controlled trial. In: *The Lancet* 364 (9433), S. 513–520. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16809-8.
- Grivell, Rosalie; Dodd, Jodie; Robinson, Jeffrey (2009): The prevention and treatment of intrauterine growth restriction. In: *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* 23 (6), S. 795–807. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2009.06.004.
- Grivell, Rosalie M.; Alfirevic, Zarko; Gyte, Gillian M. L.; Devane, Declan (2015): Antenatal cardiotocography for fetal assessment. In: *The Cochrane database of systematic reviews* 2015 (9). DOI: 10.1002/14651858.CD007863.pub4.

Groom, Katie M.; Mccowan, Lesley M.; Mackay, Laura K.; Lee, Arier C.; Gardener, Glenn; Unterscheider, Julia et al. (2019): STRIDER NZAus: A multicentre randomised controlled trial of sildenafil therapy in early-onset fetal growth restriction. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. DOI: 10.1111/1471-0528.15658.

Groom, Katie M.; Mccowan, Lesley M.; Mackay, Laura K.; Lee, Arier C.; Said, Joanne M.; Kane, Stefan C. et al. (2017): Enoxaparin for the prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction in women with a history: a randomized trial. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 216 (3), 296.e1-296.e14. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.01.014.

Grudzinskas, J. G.; Gordon, Y. B.; Menabawey, M.; Lee, J. N.; Wadsworth, J.; Chard, T. (1983): Identification of high-risk pregnancy by the routine measurement of pregnancy-specific β 1-glycoprotein. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 147 (1), S. 10–12. DOI: 10.1016/0002-9378(83)90075-3.

Grümmer, R.; Hohn, H. P.; Mareel, M. M.; Denker, H. W. (1994): Adhesion and invasion of three human choriocarcinoma cell lines into human endometrium in a three-dimensional organ culture system. In: *Placenta* 15 (4), S. 411–429. DOI: 10.1016/0143-4004(94)90008-6.

Guellec, Isabelle; Lapillonne, Alexandre; Renolleau, Sylvain; Charlaluk, Marie-Laure; Roze, Jean-Christophe; Marret, Stéphane et al. (2011): Neurologic outcomes at school age in very preterm infants born with severe or mild growth restriction. In: *Pediatrics* 127 (4), e883-91. DOI: 10.1542/peds.2010-2442.

Gujral, Kanwal; Nayar, Sakshi (2014): Current Trends in Management of Fetal Growth Restriction. In: *J. Fetal Med.* 1 (3), S. 125–129. DOI: 10.1007/s40556-015-0027-1.

Gülmezoglu, A. M.; Hofmeyr, G. J. (2000a): Calcium channel blockers for potential impaired fetal growth. In: *The Cochrane database of systematic reviews* (2), CD000049. DOI: 10.1002/14651858.CD000049.

Gülmezoglu, A. M.; Hofmeyr, G. J. (2000b): Plasma volume expansion for suspected impaired fetal growth. In: *The Cochrane database of systematic reviews* (2), CD000167. DOI: 10.1002/14651858.CD000167.

Guo, Jing; He, Hongjuan; Liu, Qi; Zhang, Fengwei; Lv, Jie; Zeng, Tiebo et al. (2015): Identification and Epigenetic Analysis of a Maternally Imprinted Gene Qpct. In: *Molecules and cells* 38 (10), S. 859–865. DOI: 10.14348/molcells.2015.0098.

Hadlock, F. P.; Harrist, R. B.; Carpenter, R. J.; Deter, R. L.; Park, S. K. (1984): Sonographic estimation of fetal weight. The value of femur length in addition to head and abdomen measurements. In: *Radiology* 150 (2), S. 535–540. DOI: 10.1148/radiology.150.2.6691115.

- Haider, Batool A.; Bhutta, Zulfiqar A. (2017): Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. In: *The Cochrane database of systematic reviews* 4, CD004905. DOI: 10.1002/14651858.CD004905.pub5.
- Hales, C. N.; Barker, D. J. (1992): Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. In: *Diabetologia* 35 (7), S. 595–601. DOI: 10.1007/BF00400248.
- Hales, C. N.; Barker, D. J. (2001): The thrifty phenotype hypothesis. In: *British medical bulletin* 60, S. 5–20. DOI: 10.1093/bmb/60.1.5.
- Hamilos, D. L.; Leung, D. Y.; Muro, S.; Kahn, A. M.; Hamilos, S. S.; Thawley, S. E.; Hamid, Q. A. (2001): GRbeta expression in nasal polyp inflammatory cells and its relationship to the anti-inflammatory effects of intranasal fluticasone. In: *The Journal of allergy and clinical immunology* 108 (1), S. 59–68. DOI: 10.1067/mai.2001.116428.
- Hasmasanu, Monica G.; Bolboaca, Sorana D.; Baizat, Melinda I.; Drugan, Tudor C.; Zaharie, Gabriela C. (2015): Neonatal short-term outcomes in infants with intrauterine growth restriction. In: *Saudi medical journal* 36 (8), S. 947–953. DOI: 10.15537/smj.2015.8.11533.
- Hediger, M. L.; Overpeck, M. D.; Maurer, K. R.; Kuczumarski, R. J.; McGlynn, A.; Davis, W. W. (1998): Growth of infants and young children born small or large for gestational age: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. In: *Arch Pediatr Adolesc Med* 152 (12), S. 1225–1231. DOI: 10.1001/archpedi.152.12.1225.
- Heinonen, S.; Taipale, P.; Saarikoski, S. (2001): Weights of placentae from small-for-gestational age infants revisited. In: *Placenta* 22 (5), S. 399–404. DOI: 10.1053/plac.2001.0630.
- Ho, Jui T.; Lewis, John G.; O'Loughlin, Peter; Bagley, Christopher J.; Romero, Roberto; Dekker, Gus A.; Torpy, David J. (2007): Reduced maternal corticosteroid-binding globulin and cortisol levels in pre-eclampsia and gamete recipient pregnancies. In: *Clinical endocrinology* 66 (6), S. 869–877. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2007.02826.x.
- Hobel, Calvin J.; Goldstein, Amy; Barrett, Emily S. (2008): Psychosocial stress and pregnancy outcome. In: *Clinical obstetrics and gynecology* 51 (2), S. 333–348. DOI: 10.1097/grf.0b013e31816f2709.
- Hodyl, Nicolette A.; Stark, Michael J.; Osei-Kumah, Annette; Bowman, Maria; Gibson, Peter; Clifton, Vicki L. (2011): Fetal glucocorticoid-regulated pathways are not affected by inhaled corticosteroid use for asthma during pregnancy. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 183 (6), S. 716–722. DOI: 10.1164/rccm.201007-1188OC.

- Hodyl, Nicolette A.; Wyper, Hayley; Osei-Kumah, Annette; Scott, Naomi; Murphy, Vanessa E.; Gibson, Peter et al. (2010): Sex-specific associations between cortisol and birth weight in pregnancies complicated by asthma are not due to differential glucocorticoid receptor expression. In: *Thorax* 65 (8), S. 677–683. DOI: 10.1136/thx.2009.123091.
- Hoek, H. W.; Susser, E.; Buck, K. A.; Lumey, L. H.; Lin, S. P.; Gorman, J. M. (1996): Schizoid personality disorder after prenatal exposure to famine. In: *The American journal of psychiatry* 153 (12), S. 1637–1639. DOI: 10.1176/ajp.153.12.1637.
- Hollenberg, S. M.; Weinberger, C.; Ong, E. S.; Cerelli, G.; Oro, A.; Lebo, R. et al. (1985): Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. In: *Nature* 318 (6047), S. 635–641. DOI: 10.1038/318635a0.
- Hollo, Outi; Rautava, Päivi; Korhonen, Tapio; Helenius, Hans; Kero, Pentti; Sillanpää, Mattiä (2002): Academic Achievement of Small-for-Gestational-Age Children at Age 10 Years. In: *Arch Pediatr Adolesc Med* 156 (2), S. 179. DOI: 10.1001/archpedi.156.2.179.
- Hong, L.; Schroth, G. P.; Matthews, H. R.; Yau, P.; Bradbury, E. M. (1993): Studies of the DNA binding properties of histone H4 amino terminus. Thermal denaturation studies reveal that acetylation markedly reduces the binding constant of the H4 "tail" to DNA. In: *The Journal of biological chemistry* 268 (1), S. 305–314.
- Horie, K.; Takakura, K.; Fujiwara, H.; Suginami, H.; Liao, S.; Mori, T. (1992): Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 7 (2), S. 184–190. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137614.
- Huang, Wen; Zhou, Jin; Zhang, Guohui; Zhang, Yuanzhen; Wang, Hui (2019): Decreased H3K9 acetylation level of LXR α mediated dexamethasone-induced placental cholesterol transport dysfunction. In: *Biochimica et biophysica acta. Molecular and cell biology of lipids* 1864 (12), S. 158524. DOI: 10.1016/j.bbalip.2019.158524.
- Hui, Lisa; Challis, Daniel (2008): Diagnosis and management of fetal growth restriction: the role of fetal therapy. In: *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* 22 (1), S. 139–158. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2007.06.004.
- Huppertz, Berthold; Schleißner, Ekkehard (2018): Die Plazenta. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Husmann, Dylan; Gozani, Or (2019): Histone lysine methyltransferases in biology and disease. In: *Nature structural & molecular biology* 26 (10), S. 880–889. DOI: 10.1038/s41594-019-0298-7.

- Hutter, Stefan; Morales-Prieto, Diana M.; Andergassen, Ulrich; Tschakert, Lisa; Kuhn, Christina; Hofmann, Simone et al. (2016): Gal-1 silenced trophoblast tumor cells (BeWo) show decreased syncytium formation and different miRNA production compared to non-target silenced BeWo cells. In: *Cell Adhesion & Migration* 10 (1-2), S. 28–38. DOI: 10.1080/19336918.2015.1089377.
- Inagaki, Takeshi; Tachibana, Makoto; Magoori, Kenta; Kudo, Hiromi; Tanaka, Toshiya; Okamura, Masashi et al. (2009): Obesity and metabolic syndrome in histone demethylase JHDM2a-deficient mice. In: *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms* 14 (8), S. 991–1001. DOI: 10.1111/j.1365-2443.2009.01326.x.
- Inoue, Seiya; Mochizuki, Kazuki; Goda, Toshinao (2011): Jejunal induction of SI and SGLT1 genes in rats by high-starch/low-fat diet is associated with histone acetylation and binding of GCN5 on the genes. In: *Journal of nutritional science and vitaminology* 57 (2), S. 162–169. DOI: 10.3177/jnsv.57.162.
- Jensen Peña, Catherine; Monk, Catherine; Champagne, Frances A. (2012): Epigenetic effects of prenatal stress on 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-2 in the placenta and fetal brain. In: *PLoS one* 7 (6), e39791. DOI: 10.1371/journal.pone.0039791.
- Johnson, Renée F.; Rennie, Natascha; Murphy, Vanessa; Zakar, Tamas; Clifton, Vicki; Smith, Roger (2008): Expression of glucocorticoid receptor messenger ribonucleic acid transcripts in the human placenta at term. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 93 (12), S. 4887–4893. DOI: 10.1210/jc.2008-1077.
- Kaliman, Perla; Alvarez-López, María Jesús; Cosín-Tomás, Marta; Rosenkranz, Melissa A.; Lutz, Antoine; Davidson, Richard J. (2014): Rapid changes in histone deacetylases and inflammatory gene expression in expert meditators. In: *Psychoneuroendocrinology* 40, S. 96–107. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2013.11.004.
- Kalinyak, J. E.; Griffin, C. A.; Hamilton, R. W.; Bradshaw, J. G.; Perlman, A. J.; Hoffman, A. R. (1989): Developmental and hormonal regulation of glucocorticoid receptor messenger RNA in the rat. In: *J Clin Invest* 84 (6), S. 1843–1848. DOI: 10.1172/JCI114370.
- Kaminsky, Zachary; Wang, Sun-Chong; Petronis, Arturas (2006): Complex disease, gender and epigenetics. In: *Annals of medicine* 38 (8), S. 530–544. DOI: 10.1080/07853890600989211.
- Kanaka-Gantenbein, Christina; Mastorakos, George; Chrousos, George P. (2003): Endocrine-related causes and consequences of intrauterine growth retardation. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 997, S. 150–157. DOI: 10.1196/annals.1290.017.

- Karlberg, J.; Albertsson-Wikland, K. (1995): Growth in full-term small-for-gestational-age infants: from birth to final height. In: *Pediatric research* 38 (5), S. 733–739. DOI: 10.1203/00006450-199511000-00017.
- Kaufmann, Peter (1985): Influence of Ischemia and Artificial Perfusion on Placental Ultrastructure and Morphometry. In: H. Schneider und J. Dancis (Hg.): In vitro perfusion of human placental tissue. International workshop : Papers, Bd. 13: S. Karger AG (Contributions to Gynecology and Obstetrics), S. 18–26.
- Kaufmann, Peter; Black, Simon; Huppertz, Berthold (2003): Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. In: *Biology of reproduction* 69 (1), S. 1–7. DOI: 10.1095/biolreprod.102.014977.
- Kehl, Sven; Dötsch, Jörg; Hecher, Kurt; Schlembach, Dietmar; Schmitz, Dagmar; Stepan, Holger; Gembruch, Ulrich (2017): Intrauterine Growth Restriction. Guideline of the German Society of Gynecology and Obstetrics (S2k-Level, AWMF Registry No. 015/080, October 2016). In: *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 77 (11), S. 1157–1173. DOI: 10.1055/s-0043-118908.
- Kerzner, Leslie S.; Stonestreet, Barbara S.; Wu, Ke-Ying; Sadowska, Grazyna; Malee, Maureen P. (2002): Antenatal dexamethasone: effect on ovine placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression and fetal growth. In: *Pediatric research* 52 (5), S. 706–712. DOI: 10.1203/00006450-200211000-00016.
- Khashan, Ali S.; Abel, Kathryn M.; McNamee, Roseanne; Pedersen, Marianne G.; Webb, Roger T.; Baker, Philip N. et al. (2008): Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events. In: *Archives of general psychiatry* 65 (2), S. 146–152. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2007.20.
- Kimura, Atsushi P.; Liebhaber, Stephen A.; Cooke, Nancy E. (2004): Epigenetic modifications at the human growth hormone locus predict distinct roles for histone acetylation and methylation in placental gene activation. In: *Mol Endocrinol* 18 (4), S. 1018–1032. DOI: 10.1210/me.2003-0468.
- King, A.; Thomas, L.; Bischof, P. (2000): Cell culture models of trophoblast II: trophoblast cell lines--a workshop report. In: *Placenta* 21 Suppl A, S113-9. DOI: 10.1053/plac.1999.0526.
- Kino, Tomoshige; Chrousos, George P. (2004): Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors and associated diseases. In: *Essays in biochemistry* 40, S. 137–155. DOI: 10.1042/bse0400137.
- Kino, Tomoshige; Manoli, Irini; Kelkar, Sujata; Wang, Yonghong; Su, Yan A.; Chrousos, George P. (2009a): Glucocorticoid receptor (GR) beta has intrinsic, GRalpha-independent transcriptional

activity. In: *Biochemical and biophysical research communications* 381 (4), S. 671–675. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.02.110.

Kino, Tomoshige; Su, Yan A.; Chrousos, George P. (2009b): Human Glucocorticoid Receptor (GR) Isoform β : Recent Understanding of its Potential Implications in Physiology and Pathophysiology. In: *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 66 (21), S. 3435–3448. DOI: 10.1007/s00018-009-0098-z.

Kiserud, Torvid; Benachi, Alexandra; Hecher, Kurt; Perez, Rogelio González; Carvalho, José; Piaggio, Gilda; Platt, Lawrence D. (2018): The World Health Organization fetal growth charts: concept, findings, interpretation, and application. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 218 (2S), S619-S629. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.12.010.

Kooistra, Susanne Marije; Helin, Kristian (2012): Molecular mechanisms and potential functions of histone demethylases. In: *Nature reviews. Molecular cell biology* 13 (5), S. 297–311. DOI: 10.1038/nrm3327.

Kouzarides, Tony (2007): Chromatin modifications and their function. In: *Cell* 128 (4), S. 693–705. DOI: 10.1016/j.cell.2007.02.005.

Kovar, J.; Waddell, B. J.; Sly, P. D.; Willet, K. E. (2001): Sex differences in response to steroids in preterm sheep lungs are not explained by glucocorticoid receptor number or binding affinity. In: *Pediatric pulmonology* 32 (1), S. 8–13. DOI: 10.1002/ppul.1082.

Kroener, Lindsay; Wang, Erica T.; Pisarska, Margareta D. (2016): Predisposing Factors to Abnormal First Trimester Placentation and the Impact on Fetal Outcomes. In: *Seminars in reproductive medicine* 34 (1), S. 27–35. DOI: 10.1055/s-0035-1570029.

Krozowski, Z.; Li, K.X.Z; Koyama, K.; Smith, R.E; Obeyesekere, V.R; Stein-Oakley, A. et al. (1999): The type I and type II 11β -hydroxysteroid dehydrogenase enzymes. In: *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 69 (1-6), S. 391–401. DOI: 10.1016/S0960-0760(99)00074-6.

Krozowski, Z.; MaGuire, J. A.; Stein-Oakley, A. N.; Dowling, J.; Smith, R. E.; Andrews, R. K. (1995): Immunohistochemical localization of the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II enzyme in human kidney and placenta. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 80 (7), S. 2203–2209. DOI: 10.1210/jcem.80.7.7608280.

Kwak, Youn-Tae; Muralimanoharan, Sribalashubashini; Gogate, Aishwarya A.; Mendelson, Carole R. (2019): Human Trophoblast Differentiation Is Associated With Profound Gene Regulatory and Epigenetic Changes. In: *Endocrinology* 160 (9), S. 2189–2203. DOI: 10.1210/en.2019-00144.

- Laurin, J.; Persson, P. H. (1987): The effect of bedrest in hospital on fetal outcome in pregnancies complicated by intra-uterine growth retardation. In: *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica* 66 (5), S. 407–411.
- Lee, Jennifer W.; VanderVeen, Deborah; Allred, Elizabeth N.; Leviton, Alan; Dammann, Olaf (2015): Prethreshold retinopathy in premature infants with intrauterine growth restriction. In: *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 104 (1), S. 27–31. DOI: 10.1111/apa.12799.
- Lees, Christoph C.; Marlow, Neil; van Wassenaer-Leemhuis, Aleid; Arabin, Birgit; Bilardo, Caterina M.; Brezinka, Christoph et al. (2015): 2 year neurodevelopmental and intermediate perinatal outcomes in infants with very preterm fetal growth restriction (TRUFFLE): a randomised trial. In: *The Lancet* 385 (9983), S. 2162–2172. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)62049-3.
- Leon, D. A.; Lithell, H. O.; Vågerö, D.; Koupilová, I.; Mohsen, R.; Berglund, L. et al. (1998): Reduced fetal growth rate and increased risk of death from ischaemic heart disease: cohort study of 15 000 Swedish men and women born 1915–29. In: *BMJ : British Medical Journal* 317 (7153), S. 241–245. DOI: 10.1136/bmj.317.7153.241.
- Lesage, J.; Blondeau, B.; Grino, M.; Bréant, B.; Dupouy, J. P. (2001): Maternal undernutrition during late gestation induces fetal overexposure to glucocorticoids and intrauterine growth retardation, and disturbs the hypothalamo-pituitary adrenal axis in the newborn rat. In: *Endocrinology* 142 (5), S. 1692–1702. DOI: 10.1210/endo.142.5.8139.
- Levitt, N. S.; Lambert, E. V.; Woods, D.; Hales, C. N.; Andrew, R.; Seckl, J. R. (2000): Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, nonobese, young south african adults: early programming of cortisol axis. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 85 (12), S. 4611–4618. DOI: 10.1210/jcem.85.12.7039.
- Li, Bin; Zhu, Yanan; Chen, Haiyun; Gao, Hui; He, Hangyuan; Zuo, Na et al. (2019): Decreased H3K9ac level of AT2R mediates the developmental origin of glomerulosclerosis induced by prenatal dexamethasone exposure in male offspring rats. In: *Toxicology* 411, S. 32–42. DOI: 10.1016/j.tox.2018.10.013.
- Li, Jianneng; Wang, Wangsheng; Liu, Chao; Wang, Weihua; Li, Wenjiao; Shu, Qun et al. (2013): Critical role of histone acetylation by p300 in human placental 11 β -HSD2 expression. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 98 (7), E1189-97. DOI: 10.1210/jc.2012-4291.
- Lien, Yu-Chin; Wang, Paul Zhiping; Lu, Xueqing Maggie; Simmons, Rebecca A. (2020): Altered Transcription Factor Binding and Gene Bivalency in Islets of Intrauterine Growth Retarded Rats. In: *Cells* 9 (6). DOI: 10.3390/cells9061435.

- Lillycrop, Karen A.; Slater-Jefferies, Jo L.; Hanson, Mark A.; Godfrey, Keith M.; Jackson, Alan A.; Burdge, Graham C. (2007): Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. In: *The British journal of nutrition* 97 (6), S. 1064–1073. DOI: 10.1017/S000711450769196X.
- Lindqvist, P. G.; Molin, J. (2005): Does antenatal identification of small-for-gestational age fetuses significantly improve their outcome? In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 25 (3), S. 258–264. DOI: 10.1002/uog.1806.
- Lindsay, R. S.; Lindsay, R. M.; Waddell, B. J.; Seckl, J. R. (1996): Prenatal glucocorticoid exposure leads to offspring hyperglycaemia in the rat: studies with the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor carbenoxolone. In: *Diabetologia* 39 (11), S. 1299–1305. DOI: 10.1007/s001250050573.
- Lipworth, Brian J. (2000): Therapeutic implications of non-genomic glucocorticoid activity. In: *Lancet (London, England)* 356 (9224), S. 87–89. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02463-6.
- Liu, Xiaomei; Guo, Yanyan; Wang, Jun; Gao, Linlin; Liu, Caixia (2019): Label-Free Proteomics of the Fetal Pancreas Identifies Deficits in the Peroxisome in Rats with Intrauterine Growth Restriction. In: *Oxidative medicine and cellular longevity* 2019, S. 1520753. DOI: 10.1155/2019/1520753.
- Livak, K. J.; Schmittgen, T. D. (2001): Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. In: *Methods (San Diego, Calif.)* 25 (4), S. 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- Lu, Nick Z.; Cidlowski, John A. (2006): Glucocorticoid receptor isoforms generate transcription specificity. In: *Trends in cell biology* 16 (6), S. 301–307. DOI: 10.1016/j.tcb.2006.04.005.
- Lumey, L. H. (1992): Decreased birthweights in infants after maternal in utero exposure to the Dutch famine of 1944-1945. In: *Paediatric and perinatal epidemiology* 6 (2), S. 240–253.
- Maccani, Matthew A.; Marsit, Carmen J. (2009): Epigenetics in the placenta. In: *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)* 62 (2), S. 78–89. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2009.00716.x.

MacLennan, Nicole K.; James, S. Jill; Melnyk, Stephan; Pirooz, Ali; Jernigan, Stefanie; Hsu, Jennifer L. et al. (2004): Uteroplacental insufficiency alters DNA methylation, one-carbon metabolism, and histone acetylation in IUGR rats. In: *Physiological genomics* 18 (1), S. 43–50. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00042.2004.

Mangelsdorf, David J.; Thummel, Carl; Beato, Miguel; Herrlich, Peter; Schütz, Gunther; Umesono, Kazuhiko et al. (1995): The Nuclear Receptor Superfamily: The Second Decade. In: *Cell* 83 (6), S. 835–839.

Mann, Bhupinder S.; Johnson, John R.; Cohen, Martin H.; Justice, Robert; Pazdur, Richard (2007): FDA approval summary: vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. In: *The oncologist* 12 (10), S. 1247–1252. DOI: 10.1634/theoncologist.12-10-1247.

Masuyama, Hisashi; Hiramatsu, Yuji (2012): Effects of a high-fat diet exposure in utero on the metabolic syndrome-like phenomenon in mouse offspring through epigenetic changes in adipocytokine gene expression. In: *Endocrinology* 153 (6), S. 2823–2830. DOI: 10.1210/en.2011-2161.

Maulik, Dev (2006): Fetal growth restriction: the etiology. In: *Clinical obstetrics and gynecology* 49 (2), S. 228–235.

Maulik, Dev; Frances Evans, Jodi; Ragolia, Louis (2006): Fetal growth restriction: pathogenic mechanisms. In: *Clinical obstetrics and gynecology* 49 (2), S. 219–227. DOI: 10.1097/00003081-200606000-00005.

Mccowan, Lesley M.; Figueras, Francesc; Anderson, Ngaire H. (2018): Evidence-based national guidelines for the management of suspected fetal growth restriction: comparison, consensus, and controversy. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 218 (2S), S855-S868. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.12.004.

McIntire, D. D.; Bloom, S. L.; Casey, B. M.; Leveno, K. J. (1999): Birth weight in relation to morbidity and mortality among newborn infants. In: *The New England journal of medicine* 340 (16), S. 1234–1238. DOI: 10.1056/NEJM199904223401603.

McLean, M.; Bisits, A.; Davies, J.; Woods, R.; Lowry, P.; Smith, R. (1995): A placental clock controlling the length of human pregnancy. In: *Nature medicine* 1 (5), S. 460–463. DOI: 10.1038/nm0595-460.

McTernan, C. L.; Draper, N.; Nicholson, H.; Chalder, S. M.; Driver, P.; Hewison, M. et al. (2001): Reduced placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 mRNA levels in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction: an analysis of possible mechanisms. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 86 (10), S. 4979–4983. DOI: 10.1210/jcem.86.10.7893.

Meher, Shireen; Duley, Lelia (2006): Progesterone for preventing pre - eclampsia and its complications. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews* (4). DOI: 10.1002/14651858.CD006175.

Melamed, Nir; Pittini, Alex; Barrett, Jon; Shah, Jyotsna; Yoon, Eugene W.; Lemyre, Brigitte et al. (2016): Antenatal Corticosteroids and Outcomes of Small-for-Gestational-Age Neonates. In: *Obstetrics and gynecology* 128 (5), S. 1001–1008. DOI: 10.1097/AOG.0000000000001674.

Melamed, Nir; Yogev, Yariv; Glezerman, Marek (2010): Fetal gender and pregnancy outcome. In: *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 23 (4), S. 338–344. DOI: 10.3109/14767050903300969.

Meyberg, R.; Boos, R.; Babajan, A.; Ertan, A. K.; Schmidt, W. (2000): Die intrauterine Wachstumsretardierung--Perinatale Mortalität und postnatale Morbidität an einem Perinatalzentrum. In: *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie* 204 (6), S. 218–223. DOI: 10.1055/s-2000-9581.

Mina, Theresia H.; Rääkkönen, Katri; Riley, Simon C.; Norman, Jane E.; Reynolds, Rebecca M. (2015): Maternal distress associates with placental genes regulating fetal glucocorticoid exposure and IGF2: Role of obesity and sex. In: *Psychoneuroendocrinology* 59, S. 112–122. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2015.05.004.

Minas, Vassilis; Mylonas, Ioannis; Schiessl, Barbara; Mayr, Doris; Schulze, Sandra; Friese, Klaus et al. (2007): Expression of the blood-group-related antigens Sialyl Lewis a, Sialyl Lewis x and Lewis y in term placentas of normal, preeclampsia, IUGR- and HELLP-complicated pregnancies. In: *Histochemistry and cell biology* 128 (1), S. 55–63. DOI: 10.1007/s00418-007-0293-7.

Mirza, Fadi G.; Bauer, Samuel T.; van der Veer, Anne; Simpson, Lynn L. (2015): Gastroschisis: incidence and prediction of growth restriction. In: *Journal of perinatal medicine* 43 (5), S. 605–608. DOI: 10.1515/jpm-2014-0283.

Mittal, Pooja; Espinoza, Jimmy; Hassan, Sonias; Kusanovic, Juan Pedro; Edwin, Samuel S.; Nien, Jyh Kae et al. (2007): Placental growth hormone is increased in the maternal and fetal serum of patients with preeclampsia. In: *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 20 (9), S. 651–659. DOI: 10.1080/14767050701463571.

Mongelli, M.; Gardosi, J. (2004): Estimation of fetal weight by symphysis-fundus height measurement. In: *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 85 (1), S. 50–51. DOI: 10.1016/j.ijgo.2003.08.002.

- Monk, David (2015): Genomic imprinting in the human placenta. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 213 (4 Suppl), S152-62. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.06.032.
- Morris, Ann C.; Beresford, Guy W.; Mooney, Myesha R.; Boss, Jeremy M. (2002): Kinetics of a gamma interferon response: expression and assembly of CIITA promoter IV and inhibition by methylation. In: *Molecular and cellular biology* 22 (13), S. 4781–4791. DOI: 10.1128/mcb.22.13.4781-4791.2002.
- Morrison, Janna L.; Botting, Kimberley J.; Soo, Poh Seng; McGillick, Erin V.; Hiscock, Jennifer; Zhang, Song et al. (2012): Antenatal steroids and the IUGR fetus: are exposure and physiological effects on the lung and cardiovascular system the same as in normally grown fetuses? In: *Journal of pregnancy* 2012, S. 839656. DOI: 10.1155/2012/839656.
- Morse, Kate; Williams, Amanda; Gardosi, Jason (2009): Fetal growth screening by fundal height measurement. In: *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* 23 (6), S. 809–818. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2009.09.004.
- Murphy, Vanessa E.; Gibson, Peter G.; Giles, Warwick B.; Zakar, Tamas; Smith, Roger; Bisits, Andrew M. et al. (2003): Maternal asthma is associated with reduced female fetal growth. In: *American journal of respiratory and critical care medicine* 168 (11), S. 1317–1323. DOI: 10.1164/rccm.200303-374OC.
- Murphy, Vanessa E.; Smith, Roger; Giles, Warwick B.; Clifton, Vicki L. (2006): Endocrine regulation of human fetal growth: the role of the mother, placenta, and fetus. In: *Endocrine reviews* 27 (2), S. 141–169. DOI: 10.1210/er.2005-0011.
- Murphy, Vanessa E.; Zakar, Tamas; Smith, Roger; Giles, Warwick B.; Gibson, Peter G.; Clifton, Vicki L. (2002): Reduced 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity is associated with decreased birth weight centile in pregnancies complicated by asthma. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 87 (4), S. 1660–1668. DOI: 10.1210/jcem.87.4.8377.
- Mutterschafts-Richtlinie (2016): Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschusses über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien“). Bundesanzeiger AT 19.07.2016 B5. Online verfügbar unter <https://www.g-ba.de/richtlinien/19/>.
- Mylonas, I.; Gingelmaier, A.; Friese, K. (2006): Systemische Infektionen in der Geburtshilfe. In: *Gynäkologe* 39 (3), S. 223–232. DOI: 10.1007/s00129-006-1805-6.
- Nardoza, Luciano Marcondes Machado; Araujo Júnior, Edward; Barbosa, Maurício Mendes; Caetano, Ana Carolina Rabachini; Lee, Desireé Ji Re; Moron, Antonio Fernandes (2012): Fetal growth

restriction: current knowledge to the general Obs/Gyn. In: *Archives of gynecology and obstetrics* 286 (1), S. 1–13. DOI: 10.1007/s00404-012-2330-6.

Nelissen, Ewka C. M.; van Montfoort, Aafke P. A.; Dumoulin, John C. M.; Evers, Johannes L. H. (2011): Epigenetics and the placenta. In: *Human reproduction update* 17 (3), S. 397–417. DOI: 10.1093/humupd/dmq052.

Neugebauer, R.; Hoek, H. W.; Susser, E. (1999): Prenatal exposure to wartime famine and development of antisocial personality disorder in early adulthood. In: *JAMA* 282 (5), S. 455–462. DOI: 10.1001/jama.282.5.455.

Nicolaidis, Nicolas C.; Charmandari, Evangelia; Kino, Tomoshige; Chrousos, George P. (2017): Stress-Related and Circadian Secretion and Target Tissue Actions of Glucocorticoids: Impact on Health. In: *Frontiers in Endocrinology* 8. DOI: 10.3389/fendo.2017.00070.

Nicolaidis, Nicolas C.; Galata, Zoi; Kino, Tomoshige; Chrousos, George P.; Charmandari, Evangelia (2009): The Human Glucocorticoid Receptor: Molecular Basis of Biologic Function. In: *Steroids* 75 (1), S. 1. DOI: 10.1016/j.steroids.2009.09.002.

Nicolaidis, Nicolas C.; Pavlaki, Aikaterini N.; Maria Alexandra, Maria Alexandra; Chrousos, George P. (2000): Endotext. Glucocorticoid Therapy and Adrenal Suppression. Hg. v. Kenneth R. Feingold, Bradley Anawalt, Alison Boyce, George Chrousos, Kathleen Dungan, Ashley Grossman, et al. South Dartmouth (MA).

Noll, Sabine; Schaub-Kuhnen, Susanne; Höfler, Heinz (Hg.) (2000): Praxis der Immunhistochemie. 1. Aufl. München: Urban & Fischer.

Nyirenda, M. J.; Lindsay, R. S.; Kenyon, C. J.; Burchell, A.; Seckl, J. R. (1998): Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. In: *J Clin Invest* 101 (10), S. 2174–2181. DOI: 10.1172/jci1567.

Oakley, R. H.; Sar, M.; Cidlowski, J. A. (1996): The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. In: *The Journal of biological chemistry* 271 (16), S. 9550–9559. DOI: 10.1074/jbc.271.16.9550.

O'Dwyer, Vicky; Burke, Gerard; Unterscheider, Julia; Daly, Sean; Geary, Michael P.; Kennelly, Mairead M. et al. (2014): Defining the residual risk of adverse perinatal outcome in growth-restricted fetuses with normal umbilical artery blood flow. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 211 (4), 420.e1-5. DOI: 10.1016/j.ajog.2014.07.033.

Onis, M. de; Blössner, M.; Villar, J. (1998): Levels and patterns of intrauterine growth retardation in developing countries. In: *European journal of clinical nutrition* 52 Suppl 1, S5-15.

- Orgeig, Sandra; Morrison, Janna L. (2010): Does the intrauterine growth-restricted fetus benefit from antenatal glucocorticoids? In: *Expert Review of Obstetrics & Gynecology* 5 (2), S. 149–152. DOI: 10.1586/eog.10.4.
- Osmond, C.; Barker, D. J. (2000): Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. In: *Environmental Health Perspectives* 108 (Suppl 3), S. 545–553.
- Osmond, C.; Barker, D. J.; Winter, P. D.; Fall, C. H.; Simmonds, S. J. (1993): Early growth and death from cardiovascular disease in women. In: *BMJ : British Medical Journal* 307 (6918), S. 1519–1524. DOI: 10.1136/bmj.307.6918.1519.
- Ott, W. J. (1993): Intrauterine growth retardation and preterm delivery. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 168 (6 Pt 1), 1710-5; discussion 1715-7.
- Owen, Dawn; Matthews, Stephen G. (2003): Glucocorticoids and sex-dependent development of brain glucocorticoid and mineralocorticoid receptors. In: *Endocrinology* 144 (7), S. 2775–2784. DOI: 10.1210/en.2002-0145.
- Pauw, N. D.; Lely, A. T.; Joles, J. A.; Franx, A.; Nikkels, P. G.; Mokry, M.; van Rijn, B. B. (2018): H3K27 acetylation and gene expression analysis reveals differences in placental chromatin activity in fetal growth restriction. In: *Clinical epigenetics* 10, S. 85. DOI: 10.1186/s13148-018-0508-x.
- Pan, Xin; Bowman, Maria; Scott, Rodney J.; Fitter, John; Smith, Roger; Zakar, Tamas (2017): Promoter Methylation Pattern Controls Corticotropin Releasing Hormone Gene Activity in Human Trophoblasts. In: *PloS one* 12 (2), e0170671. DOI: 10.1371/journal.pone.0170671.
- Park, Jun H.; Stoffers, Doris A.; Nicholls, Robert D.; Simmons, Rebecca A. (2008): Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. In: *J Clin Invest* 118 (6), S. 2316–2324. DOI: 10.1172/JCI33655.
- Patterson, R. M.; Gibbs, C. E.; Wood, R. C. (1986): Birth weight percentile and perinatal outcome: recurrence of intrauterine growth retardation. In: *Obstetrics and gynecology* 68 (4), S. 464–468.
- Pattillo, R. A.; Gey, G. O.; Delfs, E.; Mattingly, R. F. (1968): Human hormone production in vitro. In: *Science (New York, N.Y.)* 159 (3822), S. 1467–1469. DOI: 10.1126/science.159.3822.1467.
- Pay, Aase Serine D.; Wiik, Johanna; Backe, Bjørn; Jacobsson, Bo; Strandell, Annika; Klovning, Atle (2015): Symphysis-fundus height measurement to predict small-for-gestational-age status at birth: a systematic review. In: *BMC pregnancy and childbirth* 15, S. 22. DOI: 10.1186/s12884-015-0461-z.

- Peleg, D.; Kennedy, C. M.; Hunter, S. K. (1998): Intrauterine growth restriction: identification and management. In: *American family physician* 58 (2), 453-60, 466-7.
- Perrotin, F.; Simon, E. G.; Potin, J.; Laffon, M. (2013): Modalités de naissance du fœtus porteur d'un RCIU. In: *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction* 42 (8), S. 975–984. DOI: 10.1016/j.jgyn.2013.09.019.
- Peserico, Alessia; Simone, Cristiano (2011): Physical and functional HAT/HDAC interplay regulates protein acetylation balance. In: *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011, S. 371832. DOI: 10.1155/2011/371832.
- Phillips, D. I.; Walker, B. R.; Reynolds, R. M.; Flanagan, D. E.; Wood, P. J.; Osmond, C. et al. (2000): Low birth weight predicts elevated plasma cortisol concentrations in adults from 3 populations. In: *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)* 35 (6), S. 1301–1306. DOI: 10.1161/01.hyp.35.6.1301.
- Pinney, Sara E.; Simmons, Rebecca A. (2010): Epigenetic mechanisms in the development of type 2 diabetes. In: *Trends in Endocrinology & Metabolism* 21 (4), S. 223–229. DOI: 10.1016/j.tem.2009.10.002.
- Pollack, R. N.; Divon, M. Y. (1992): Intrauterine growth retardation: definition, classification, and etiology. In: *Clinical obstetrics and gynecology* 35 (1), S. 99–107.
- Potter, J. M.; Mueller, U. W.; Hickman, P. E.; Michael, C. A. (1987): Corticosteroid binding globulin in normotensive and hypertensive human pregnancy. In: *Clinical science (London, England : 1979)* 72 (6), S. 725–735. DOI: 10.1042/cs0720725.
- Pratt, W. B.; Toft, D. O. (1997): Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. In: *Endocrine reviews* 18 (3), S. 306–360. DOI: 10.1210/edrv.18.3.0303.
- Quiñones, Joanne N.; Stamilio, David M.; Coassolo, Kara M.; Macones, George A.; Odibo, Anthony O. (2005): Is fetal gender associated with adverse perinatal outcome in intrauterine growth restriction (IUGR)? In: *American journal of obstetrics and gynecology* 193 (3 Pt 2), S. 1233–1237. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.05.053.
- Rahat, Beenish; Sharma, Renuka; Bagga, Rashmi; Hamid, Abid; Kaur, Jyotdeep (2016): Imbalance between matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in preeclampsia and gestational trophoblastic diseases. In: *Reproduction (Cambridge, England)* 152 (1), S. 11–22. DOI: 10.1530/REP-16-0060.
- Raychaudhuri, Nupur; Raychaudhuri, Santanu; Thamocharan, Manikkavasagar; Devaskar, Sherin U. (2008): Histone code modifications repress glucose transporter 4 expression in the intrauterine growth-restricted offspring. In: *The Journal of biological chemistry* 283 (20), S. 13611–13626. DOI: 10.1074/jbc.M800128200.

RCOG (2014): The investigation and management of the small-for-gestational-age fetus. Green-top Guideline No. 31. Online verfügbar unter https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_31.pdf.

Remmele, W.; Stegner, H. E. (1987): Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. In: *Der Pathologe* 8 (3), S. 138–140.

Resnik, Robert (2002): Intrauterine growth restriction. In: *Obstetrics and gynecology* 99 (3), S. 490–496.

Rich-Edwards, J. W.; Stampfer, M. J.; Manson, J. E.; Rosner, B.; Hankinson, S. E.; Colditz, G. A. et al. (1997): Birth weight and risk of cardiovascular disease in a cohort of women followed up since 1976. In: *BMJ : British Medical Journal* 315 (7105), S. 396–400. DOI: 10.1136/bmj.315.7105.396.

Riley, S. C.; Walton, J. C.; Herlick, J. M.; Challis, J. R. (1991): The localization and distribution of corticotropin-releasing hormone in the human placenta and fetal membranes throughout gestation. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 72 (5), S. 1001–1007. DOI: 10.1210/jcem-72-5-1001.

Rizzo, Giuseppe; Prefumo, Federico; Ferrazzi, Enrico; Zanardini, Cristina; Di Martino, Daniela; Bonto, Simona et al. (2016): The effect of fetal sex on customized fetal growth charts. In: *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 29 (23), S. 3768–3775. DOI: 10.3109/14767058.2016.1149565.

Roberge, Stéphanie; Nicolaides, Kypros; Demers, Suzanne; Hyett, Jon; Chaillet, Nils; Bujold, Emmanuel (2017): The role of aspirin dose on the prevention of preeclampsia and fetal growth restriction: systematic review and meta-analysis. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 216 (2), 110-120.e6. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.09.076.

Roberts, Devender; Brown, Julie; Medley, Nancy; Dalziel, Stuart R. (2017): Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. In: *The Cochrane database of systematic reviews* 3, CD004454. DOI: 10.1002/14651858.cd004454.pub3.

Roman C, Dafashy T. (2014): Epigenetic Modifications of Preeclamptic Placenta-A Systematic Review. In: *Gynecol Obstet (sunnyvale)* 04 (07). DOI: 10.4172/2161-0932.1000233.

Romo, Agustín; Carceller, Raquel; Tobajas, Javier (2009): Intrauterine growth retardation (IUGR): epidemiology and etiology. In: *Pediatric endocrinology reviews : PER* 6 Suppl 3, S. 332–336.

Roseboom, Tessa J.; van der Meulen, Jan H.P.; Ravelli, Anita C.J.; Osmond, Clive; Barker, David J.P.; Bleker, Otto P. (2001): Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in

later life: an overview. In: *Molecular and cellular endocrinology* 185 (1-2), S. 93–98. DOI: 10.1016/s0303-7207(01)00721-3.

Sadrzadeh, S.; Hui, E. V. H.; Schoonmade, L. J.; Painter, R. C.; Lambalk, C. B. (2017): Birthweight and PCOS: systematic review and meta-analysis. In: *Human reproduction open* 2017 (2), hox010. DOI: 10.1093/hropen/hox010.

Saegusa, Hirokazu; Nakagawa, Yuichi; Liu, Yan-Jun; Ohzeki, Takehiko (1999): Influence of placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD) inhibition on glucose metabolism and 11 β -HSD regulation in adult offspring of rats. In: *Metabolism* 48 (12), S. 1584–1588. DOI: 10.1016/s0026-0495(99)90249-4.

Saif, Z.; Hodyl, N. A.; Hobbs, E.; Tuck, A. R.; Butler, M. S.; Osei-Kumah, A.; Clifton, V. L. (2014): The human placenta expresses multiple glucocorticoid receptor isoforms that are altered by fetal sex, growth restriction and maternal asthma. In: *Placenta* 35 (4), S. 260–268. DOI: 10.1016/j.placenta.2014.01.012.

Saif, Z.; Hodyl, N. A.; Stark, M. J.; Fuller, P. J.; Cole, T.; Lu, N.; Clifton, V. L. (2015): Expression of eight glucocorticoid receptor isoforms in the human preterm placenta vary with fetal sex and birthweight. In: *Placenta* 36 (7), S. 723–730. DOI: 10.1016/j.placenta.2015.05.001.

Sankaran, Srividhya; Kyle, Phillipa M. (2009): Aetiology and Pathogenesis of IUGR. In: *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 23 (6), S. 765–777. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2009.05.003.

Sasi, Arun; Abraham, Vinita; Davies-Tuck, Miranda; Polglase, Graeme R.; Jenkin, Graham; Miller, Suzanne L.; Malhotra, Atul (2015): Impact of intrauterine growth restriction on preterm lung disease. In: *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 104 (12), e552-6. DOI: 10.1111/apa.13220.

Savchev, Stefan; Figueras, Francesc; Sanz-Cortes, Magda; Cruz-Lemini, Monica; Triunfo, Stefania; Botet, Francesc; Gratacos, Eduard (2014): Evaluation of an optimal gestational age cut-off for the definition of early- and late-onset fetal growth restriction. In: *Fetal diagnosis and therapy* 36 (2), S. 99–105. DOI: 10.1159/000355525.

Say, Lale; Gülmezoglu, A. Metin; Hofmeyr, G. Justus (2001): Betamimetics for suspected impaired fetal growth. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews* (4). DOI: 10.1002/14651858.CD000036.

Say, Lale; Gülmezoglu, A. Metin; Hofmeyr, G. Justus (2003a): Hormones for suspected impaired fetal growth. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews* (1). DOI: 10.1002/14651858.CD000109.

- Say, Lale; Gülmezoglu, A. Metin; Hofmeyr, G. Justus (2003b): Maternal oxygen administration for suspected impaired fetal growth. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews* (1). DOI: 10.1002/14651858.CD000137.
- Schneider, H.; Husslein, P.; Schneider, K.T.M. (2007): Die Geburtshilfe (German Edition). Dordrecht: Springer. Online verfügbar unter <http://gbv.ebib.com/patron/FullRecord.aspx?p=323627>.
- Schwarze, A.; Gembruch, U.; Krapp, M.; Katalinic, A.; Germer, U.; Axt-Flidner, R. (2005): Qualitative venous Doppler flow waveform analysis in preterm intrauterine growth-restricted fetuses with ARED flow in the umbilical artery--correlation with short-term outcome. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 25 (6), S. 573–579. DOI: 10.1002/uog.1914.
- Schwärzler, P.; Bland, J. M.; Holden, D.; Campbell, S.; Ville, Y. (2004): Sex-specific antenatal reference growth charts for uncomplicated singleton pregnancies at 15-40 weeks of gestation. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 23 (1), S. 23–29. DOI: 10.1002/uog.966.
- Seckl, Jonathan R.; Meaney, Michael J. (2004): Glucocorticoid programming. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1032, S. 63–84. DOI: 10.1196/annals.1314.006.
- Seeds, J. W. (1984): Impaired fetal growth: definition and clinical diagnosis. In: *Obstetrics and gynecology* 64 (3), S. 303–310.
- Seto, Edward; Yoshida, Minoru (2014): Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes. In: *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 6 (4), a018713. DOI: 10.1101/cshperspect.a018713.
- Shams, M.; Kilby, M. D.; Somerset, D. A.; Howie, A. J.; Gupta, A.; Wood, P. J. et al. (1998): 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human pregnancy and reduced expression in intrauterine growth restriction. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 13 (4), S. 799–804. DOI: 10.1093/humrep/13.4.799.
- Shankar, Kartik; Kang, Ping; Zhong, Ying; Borengasser, Sarah J.; Wingfield, Chase; Saben, Jessica et al. (2015): Transcriptomic and epigenomic landscapes during cell fusion in BeWo trophoblast cells. In: *Placenta* 36 (12), S. 1342–1351. DOI: 10.1016/j.placenta.2015.10.010.
- Sharma, Deepak; Shastri, Sweta; Sharma, Pradeep (2016): Intrauterine Growth Restriction: Antenatal and Postnatal Aspects. In: *Clinical medicine insights. Pediatrics* 10, S. 67–83. DOI: 10.4137/CMPed.S40070.
- Shi, Yujiang; Genot, Tsukada, Yuichi (2013): The discovery of histone demethylases. In: *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5 (9). DOI: 10.1101/cshperspect.a017947.

- Shilatifard, Ali (2012): The COMPASS family of histone H3K4 methylases: mechanisms of regulation in development and disease pathogenesis. In: *Annual review of biochemistry* 81, S. 65–95. DOI: 10.1146/annurev-biochem-051710-134100.
- Singh, G.; Singh, V.; Schneider, J. S. (2019): Post-translational histone modifications and their interaction with sex influence normal brain development and elaboration of neuropsychiatric disorders. In: *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease* 1865 (8), S. 1968–1981. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.10.016.
- Skeith, Leslie; Rodger, Marc (2017): Anticoagulants to prevent recurrent placenta-mediated pregnancy complications: Is it time to put the needles away? In: *Thrombosis research* 151 Suppl 1, S38-S42. DOI: 10.1016/S0049-3848(17)30065-8.
- Skjaerven, R.; Gjessing, H. K.; Bakketeig, L. S. (2000): New standards for birth weight by gestational age using family data. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 183 (3), S. 689–696. DOI: 10.1067/mob.2000.106590.
- Smoak, Kathleen A.; Cidlowski, John A. (2004): Mechanisms of glucocorticoid receptor signaling during inflammation. In: *Mechanisms of ageing and development* 125 (10-11), S. 697–706. DOI: 10.1016/j.mad.2004.06.010.
- Sood, Ruchira; Zehnder, James L.; Druzin, Maurice L.; Brown, Patrick O. (2006): Gene expression patterns in human placenta. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (14), S. 5478–5483. DOI: 10.1073/pnas.0508035103.
- Soothill, P. W.; Bobrow, C. S.; Holmes, R. (1999): Small for gestational age is not a diagnosis. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 13 (4), S. 225–228. DOI: 10.1046/j.1469-0705.1999.13040225.x.
- Soundararajan, Rama; Rao, A. Jagannadha (2004): Trophoblast 'pseudo-tumorigenesis': significance and contributory factors. In: *Reprod Biol Endocrinol* 2 (1), S. 15. DOI: 10.1186/1477-7827-2-15.
- Speer R (2009): Diagnostik und Management bei intrauteriner Wachstumsrestriktion. In: *Frauenarzt* (50(9)), S. 760–768.
- Spencer, Rebecca; Ambler, Gareth; Brodzki, Jana; Diemert, Anke; Figueras, Francesc; Gratacós, Eduard et al. (2017): EVERREST prospective study: a 6-year prospective study to define the clinical and biological characteristics of pregnancies affected by severe early onset fetal growth restriction. In: *BMC pregnancy and childbirth* 17 (1), S. 43. DOI: 10.1186/s12884-017-1226-7.

- Spiroski, A-M.; H. Oliver, M.; E. Harding, J.; H. Bloomfield, F. (2016): Intrauterine Intervention for the Treatment of Fetal Growth Restriction. In: *CPR* 12 (3), S. 168–178. DOI: 10.2174/1573396312666160808151856.
- Stark, Michael J.; Wright, Ian M. R.; Clifton, Vicki L. (2009): Sex-specific alterations in placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 activity and early postnatal clinical course following antenatal betamethasone. In: *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 297 (2), R510-4. DOI: 10.1152/ajpregu.00175.2009.
- Stein, C. E.; Fall, C. H.D.; Kumaran, K.; Osmond, C.; Barker, D. J.P.; Cox, V. (1996): Fetal growth and coronary heart disease in South India. In: *Lancet (London, England)* 348 (9037), S. 1269–1273. DOI: 10.1016/s0140-6736(96)04547-3.
- Stevenson, D. K.; Verter, J.; Fanaroff, A. A.; Oh, W.; Ehrenkranz, R. A.; Shankaran, S. et al. (2000): Sex differences in outcomes of very low birthweight infants: the newborn male disadvantage. In: *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* 83 (3), F182-5. DOI: 10.1136/fn.83.3.f182.
- Stewart, Paul M.; Whorwood, Christopher B.; Mason, J.Ian (1995): Type 2 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase in foetal and adult life. In: *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 55 (5-6), S. 465–471. DOI: 10.1016/0960-0760(95)00195-6.
- Stockley, Elizabeth L.; Ting, Joseph Y.; Kingdom, John C.; McDonald, Sarah D.; Barrett, Jon F.; Synnes, Anne R. et al. (2018): Intrapartum magnesium sulfate is associated with neuroprotection in growth-restricted fetuses. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 219 (6), 606.e1-606.e8. DOI: 10.1016/j.ajog.2018.09.010.
- Street, P.; Dawes, G. S.; Moulden, M.; Redman, C. W. (1991): Short-term variation in abnormal antenatal fetal heart rate records. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 165 (3), S. 515–523. DOI: 10.1016/0002-9378(91)90277-x.
- Struhl, K. (1998): Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. In: *Genes & development* 12 (5), S. 599–606. DOI: 10.1101/gad.12.5.599.
- Sun, Congshan; Denisenko, Oleg; Sheth, Bhavwanti; Cox, Andy; Lucas, Emma S.; Smyth, Neil R.; Fleming, Tom P. (2015): Epigenetic regulation of histone modifications and Gata6 gene expression induced by maternal diet in mouse embryoid bodies in a model of developmental programming. In: *BMC developmental biology* 15, S. 3. DOI: 10.1186/s12861-015-0053-1.

- Sun, Hai-Jing; Xu, Xin; Wang, Xiu-Li; Wei, Liang; Li, Fen; Lu, Jun; Huang, Bai-Qu (2006): Transcription factors Ets2 and Sp1 act synergistically with histone acetyltransferase p300 in activating human interleukin-12 p40 promoter. In: *Acta biochimica et biophysica Sinica* 38 (3), S. 194–200. DOI: 10.1111/j.1745-7270.2006.00147.x.
- Suter, Melissa A.; Ma, Jun; Vuguin, Patricia M.; Hartil, Kirsten; Fiallo, Ariana; Harris, R. Alan et al. (2014): In utero exposure to a maternal high-fat diet alters the epigenetic histone code in a murine model. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 210 (5), 463.e1-463.e11. DOI: 10.1016/j.ajog.2014.01.045.
- Tang, Li; He, Guolin; Liu, Xinghui; Xu, Wenming (2017): Progress in the understanding of the etiology and predictability of fetal growth restriction. In: *Reproduction (Cambridge, England)* 153 (6), R227-R240. DOI: 10.1530/REP-16-0287.
- Teasdale, François (1984): Idiopathic intrauterine growth retardation: Histomorphometry of the human placenta. In: *Placenta* 5 (1), S. 83–92. DOI: 10.1016/S0143-4004(84)80051-X.
- Togher, Katie L.; Kenny, Louise C.; O'Keeffe, Gerard W. (2017): Class-Specific Histone Deacetylase Inhibitors Promote 11-Beta Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 Expression in JEG-3 Cells. In: *International journal of cell biology* 2017, S. 6169310. DOI: 10.1155/2017/6169310.
- Trudell, Amanda S.; Cahill, Alison G.; Tuuli, Methodius G.; Macones, George A.; Odibo, Anthony O. (2013): Risk of stillbirth after 37 weeks in pregnancies complicated by small-for-gestational-age fetuses. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 208 (5), 376.e1-7. DOI: 10.1016/j.ajog.2013.02.030.
- Tsai, Houn-Wei; Grant, Patrick A.; Rissman, Emilie F. (2009): Sex differences in histone modifications in the neonatal mouse brain. In: *Epigenetics : official journal of the DNA Methylation Society* 4 (1), S. 47–53. DOI: 10.4161/epi.4.1.7288.
- Turan, O. M.; Turan, S.; Berg, C.; Gembruch, U.; Nicolaidis, K. H.; Harman, C. R.; Baschat, A. A. (2011): Duration of persistent abnormal ductus venosus flow and its impact on perinatal outcome in fetal growth restriction. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 38 (3), S. 295–302. DOI: 10.1002/uog.9011.
- Unterscheider, Julia; Daly, Sean; Geary, Michael Patrick; Kennelly, Mairead Mary; McAuliffe, Fionnuala Mary; O'Donoghue, Keelin et al. (2013): Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 208 (4), 290.e1-6. DOI: 10.1016/j.ajog.2013.02.007.

- van Os, J.; Selten, J. P. (1998): Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. The May 1940 invasion of The Netherlands. In: *The British journal of psychiatry : the journal of mental science* 172, S. 324–326. DOI: 10.1192/bjp.172.4.324.
- van Wassenaeer, Aleid (2005): Neurodevelopmental consequences of being born SGA. In: *Pediatric endocrinology reviews : PER* 2 (3), S. 372–377.
- van Weissenbruch, Mirjam M. (2007): Premature adrenarche, polycystic ovary syndrome and intrauterine growth retardation: does a relationship exist? In: *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity* 14 (1), S. 35–40. DOI: 10.1097/MED.0b013e328013da7d.
- Varcin, Kandice J.; Alvares, Gail A.; Uljarević, Mirko; Whitehouse, Andrew J. O. (2017): Prenatal maternal stress events and phenotypic outcomes in Autism Spectrum Disorder. In: *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research* 10 (11), S. 1866–1877. DOI: 10.1002/aur.1830.
- Villar, José; Papageorgiou, Aris T.; Pang, Ruyan; Ohuma, Eric O.; Ismail, Leila Cheikh; Barros, Fernando C. et al. (2014): The likeness of fetal growth and newborn size across non-isolated populations in the INTERGROWTH-21st Project: the Fetal Growth Longitudinal Study and Newborn Cross-Sectional Study. In: *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2 (10), S. 781–792. DOI: 10.1016/S2213-8587(14)70121-4.
- Visser, G. H. A.; Bilardo, C. M.; Derks, J. B.; Ferrazzi, E.; Fratelli, N.; Frusca, T. et al. (2017): Fetal monitoring indications for delivery and 2-year outcome in 310 infants with fetal growth restriction delivered before 32 weeks' gestation in the TRUFFLE study. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 50 (3), S. 347–352. DOI: 10.1002/uog.17361.
- Voigt, M.; Schneider, K.; Jährig, K. (1997): Analyse des Geburtsgutes des Jahrgangs 1992 der Bundesrepublik Deutschland. In: *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 57 (05), S. 246–255. DOI: 10.1055/s-2007-1023078.
- Vollgraff Heidweiller-Schreurs, C. A.; Boer, M. A. de; Heymans, M. W.; Schoonmade, L. J.; Bossuyt, P. M. M.; Mol, B. W. J. et al. (2018): Prognostic accuracy of cerebroplacental ratio and middle cerebral artery Doppler for adverse perinatal outcome: systematic review and meta-analysis. In: *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 51 (3), S. 313–322. DOI: 10.1002/uog.18809.
- Waddington, C. H. (2012): The epigenotype. 1942. In: *International journal of epidemiology* 41 (1), S. 10–13. DOI: 10.1093/ije/dyr184.
- Wadsack, Christian; Hrzenjak, Anđelko; Hammer, Astrid; Hirschmugl, Birgit; Levak-Frank, Sanja; Desoye, Gernot et al. (2003): Trophoblast-like human choriocarcinoma cells serve as a suitable

in vitro model for selective cholesteryl ester uptake from high density lipoproteins. In: *European journal of biochemistry* 270 (3), S. 451–462. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2003.03394.x.

Wang, Bingbing; Wang, Panwen; Parobchak, Nataliya; Treff, Nathan; Tao, Xin; Wang, Junwen; Rosen, Todd (2019): Integrated RNA-seq and ChIP-seq analysis reveals a feed-forward loop regulating H3K9ac and key labor drivers in human placenta. In: *Placenta* 76, S. 40–50. DOI: 10.1016/j.placenta.2019.01.010.

Wang, Zhibin; Zang, Chongzhi; Rosenfeld, Jeffrey A.; Schones, Dustin E.; Barski, Artem; Cuddapah, Suresh et al. (2008): Combinatorial patterns of histone acetylations and methylations in the human genome. In: *Nature genetics* 40 (7), S. 897–903. DOI: 10.1038/ng.154.

Wardlaw, Tessa (2004): Low birthweight. Country, regional and global estimates. Geneva.

Weaver, Ian C. G.; Cervoni, Nadia; Champagne, Frances A.; D'Alessio, Ana C.; Sharma, Shakti; Seckl, Jonathan R. et al. (2004): Epigenetic programming by maternal behavior. In: *Nature neuroscience* 7 (8), S. 847–854. DOI: 10.1038/nn1276.

Welsch, Ulrich (2010): Lehrbuch Histologie. 3. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer.

Weyerstahl, Thomas (2013): Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe. 4., vollständig überarbeitete Aufl. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe).

Weyerstahl, Thomas; Stauber, Manfred (2013): Gynäkologie und Geburtshilfe. 4., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe). Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1055/b-002-94109>.

Wieczorek, Agnes; Perani, Clara V.; Nixon, Mark; Constancia, Miguel; Sandovici, Ionel; Zazara, Dimitra E. et al. (2019): Sex-specific regulation of stress-induced fetal glucocorticoid surge by the mouse placenta. In: *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 317 (1), E109-E120. DOI: 10.1152/ajpendo.00551.2018.

Wirén, Marianna; Silverstein, Rebecca A.; Sinha, Indranil; Walfridsson, Julian; Lee, Hang-Mao; Laurenson, Patricia et al. (2005): Genomewide analysis of nucleosome density histone acetylation and HDAC function in fission yeast. In: *The EMBO journal* 24 (16), S. 2906–2918. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600758.

Wollmann, H. A. (1998): Intrauterine Wachstumsretardierung. In: *Monatsschrift Kinderheilkunde* 146 (7), S. 714–726. DOI: 10.1007/s001120050315.

Woo, Hyeonju; Dam Ha, So; Lee, Sung Bae; Buratowski, Stephen; Kim, TaeSoo (2017): Modulation of gene expression dynamics by co-transcriptional histone methylations. In: *Experimental & Molecular Medicine* 49 (4), e326. DOI: 10.1038/emm.2017.19.

- Xydous, M.; Prombona, A.; Sourlingas, T. G. (2014): The role of H3K4me3 and H3K9/14ac in the induction by dexamethasone of Per1 and Sgk1, two glucocorticoid corrected early response genes that mediate the effects of acute stress in mammals. In: *Biochimica et biophysica acta* 1839 (9), S. 866–872. DOI: 10.1016/j.bbagr.2014.07.011.
- Yu, Luting; Zhou, Jin; Zhang, Guohui; Huang, Wen; Pei, Linguo; Lv, Feng et al. (2018): cAMP/PKA/EGR1 signaling mediates the molecular mechanism of ethanol-induced inhibition of placental 11 β -HSD2 expression. In: *Toxicology and applied pharmacology* 352, S. 77–86. DOI: 10.1016/j.taap.2018.05.029.
- Zeitlin, J.; Ancel, P. Y.; Saurel-Cubizolles, M. J.; Papiernik, E. (2000): The relationship between intrauterine growth restriction and preterm delivery: an empirical approach using data from a European case-control study. In: *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 107 (6), S. 750–758. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2000.tb13336.x.
- Zhang, Tianyi; Cooper, Sarah; Brockdorff, Neil (2015): The interplay of histone modifications - writers that read. In: *EMBO reports* 16 (11), S. 1467–1481. DOI: 10.15252/embr.201540945.
- Zhou, Jin; Liu, Fulin; Yu, Luting; Xu, Dan; Li, Bin; Zhang, Guohui et al. (2018): nAChRs-ERK1/2-Egr-1 signaling participates in the developmental toxicity of nicotine by epigenetically down-regulating placental 11 β -HSD2. In: *Toxicology and applied pharmacology* 344, S. 1–12. DOI: 10.1016/j.taap.2018.02.017.
- Zhou, Junguo; Cidlowski, John A. (2005): The human glucocorticoid receptor: one gene, multiple proteins and diverse responses. In: *Steroids* 70 (5-7), S. 407–417. DOI: 10.1016/j.steroids.2005.02.006.
- Zhu, Yanan; Chen, Haiyun; Zhao, Xiaoqi; Li, Bin; He, Hangyuan; Cheng, Hui et al. (2019): Decreased H3K9ac level of KLF4 mediates podocyte developmental toxicity induced by prenatal caffeine exposure in male offspring rats. In: *Toxicology letters* 314, S. 63–74. DOI: 10.1016/j.toxlet.2019.07.011.
- Zilles, Karl; Tillmann, Bernhard (2010): Anatomie. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch). Online verfügbar unter <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10447065>.
- Zucchi, Fabiola C. R.; Yao, Youli; Ward, Isaac D.; Ilnytsky, Yaroslav; Olson, David M.; Benzie, Karen et al. (2013): Maternal stress induces epigenetic signatures of psychiatric and neurological diseases in the offspring. In: *PLoS one* 8 (2), e56967. DOI: 10.1371/journal.pone.0056967.

Zuckermann, F. A.; Head, J. R. (1986): Expression of MHC antigens on murine trophoblast and their modulation by interferon. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 137 (3), S. 846–853.

Danksagung

An erster Stelle gilt mein größter Dank meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. rer. nat. Udo Jeschke für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit, in seiner Forschungsgruppe wissenschaftliche Erfahrung zu sammeln. Seine motivierende und geduldige Unterstützung bei sämtlichen Fragestellungen weiß ich sehr zu schätzen.

Des Weiteren möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. Stefan Hutter bedanken, der mich über den gesamten Zeitraum wertvoll beraten und konstruktiv begleitet hat.

Ein ganz großes Dankeschön spreche ich den Medizinisch Technischen Assistentinnen des Labors Christina Kuhn und Simone Hofman aus, die mich beim praktischen Teil der Arbeit sorgfältig eingearbeitet und mir immerfort freundlich Hilfestellung geleistet haben.

Mein ganz besonderer Dank gebührt den Menschen, die mir durch ihre vielfältige Zuwendung das Medizinstudium ermöglicht haben - meiner Familie (Mama, Papa, Oma, Anna und Johannes mit Familie).

Meinem Mann Salahedine danke ich für sein außergewöhnliches Verständnis für meinen Beruf und die dadurch begrenzte gemeinsame Zeit, auch bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Von ganzem Herzen möchte ich meiner Schwester Anna und meiner Kollegin Julia für das Korrekturlesen danken.

Weiterhin danke ich allen Freunden und Kollegen, die mich in den letzten Jahren bei diesem Projekt bestärkt haben.

Publikationsliste

Meister S, Kolben T, Beyer S, Hutter S, Hofmann S, Kuhn C, **Messner J**, Mayr D, Solano ME, Jegen M, Obermeier V, Mahner S, Arck P, Jeschke U. Sex-specific epigenetic gene activation profiles are differentially modulated in human placentas affected by intrauterine growth restriction. *J Reprod Immunol.* 2020 Jun;139:103124.

Hutter S, Hepp P, Hofmann S, Kuhn C, **Messner J**, Andergassen U, Mayr D, Emilia Solano M, Obermeier V, Mahner S, Arck P, Jeschke U. Glucocorticoid receptors α and β are modulated sex specifically in human placentas of intrauterine growth restriction (IUGR). *Arch Gynecol Obstet.* 2019 Aug;300(2):323-335.

Hutter S, Martin N, von Schönfeldt V, **Messner J**, Kuhn C, Hofmann S, Andergassen U, Knabl J, Jeschke U. Galectin 2 (gal-2) expression is downregulated on protein and mRNA level in placentas of preeclamptic (PE) patients. *Placenta.* 2015 Apr;36(4):438-45.

Messner J, Kuhn C, Knabl J, Jeschke U, Mahner S, Hutter S. Die Expression von IL-1beta ist vermindert in extravillösen Trophoblastzellen von makrosomen Feten. *Geburts-hilfe Frauenheilkd* 2016; 76(04): 427-441.

Tagung der Bayerischen Gesellschaft für Geburtshilfe und Frauenheilkunde e.V. (BGGF) Nürnberg, 05.–07.05.2016

Eidesstattliche Versicherung

Nassiri, Julia Maria Clara

Name, Vorname

Hiermit erkläre ich an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Geschlechtsabhängige Expression von Glucocorticoid-Rezeptoren und Histonmodifikationen der Plazenta bei Intrauteriner Wachstumsrestriktion

selbstständig 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 vorliegende Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Stuttgart, den 04.04.2023

Ort, Datum

Julia Nassiri

Unterschrift Doktorandin