

Aus der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
(Direktor: Prof. Dr. med. Nicolai. Maass)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Phytosterole im fetalen Blut bei intrauteriner Wachstumsrestriktion

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Anika Ertel

aus Schwerin

Kiel 2024

1. Berichterstatter	Prof. Dr. Ulrich Pecks, Frauenklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Würzburg
2. Berichterstatter	Prof. Dr. Ralph Lucius, Anatomisches Institut
Tag der mündlichen Prüfung	16.06.2025
Zum Druck genehmigt, Kiel, den	14.03.2025

gez.: Prof. Dr. med. Ulrich Pecks

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Intrauterine Wachstumsrestriktion	1
1.1.1 Definition	1
1.1.2 Epidemiologie, Ätiologie und Folgen der IUGR.....	3
Diagnostik	5
1.1.3 Management	9
1.1.4 Prophylaxe	12
1.2 Serumlipide	12
1.2.1 Maternaler Lipidmetabolismus in der Schwangerschaft und bei fetaler IUGR	12
1.2.2 Transplazentaler Transport von Cholesterin	13
1.3 Phytosterole	14
1.3.1 Eigenschaften, Vorkommen und Funktion	14
1.3.2 Phytosterolmetabolismus.....	16
1.3.3 Phytosterole in der Schwangerschaft	17
1.4 Fragestellung und Hypothese	17
2 Material und Methoden.....	19
2.1 Probandenkollektiv.....	19
2.2 Probengewinnung	21
2.3 Probenaufbereitung	21
2.4 Fallzahlplanung und Probenauswahl.....	22
2.5 Serumlipidanalysen	22
2.6 Statistik.....	23
3 Ergebnisse.....	25
3.1 Charakteristika der Studiengruppen	25
3.2 Fetale Phytosterole	27
3.3 Analyse geschlechtsspezifischer Unterschiede fetaler Phytosterole	30
3.4 Einfluss der Schwangerschaftswoche nach Entbindung auf die Phytosterolkonzentration der Neugeborenen	34
3.5 Einfluss des maternalen Rauchstatus auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen	37
3.6 Einfluss weiterer potenzieller Störfaktoren auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen.....	37

3.7	Veränderung des Phytosterolkonzentration im Schwangerschaftsverlauf	39
4	Diskussion.....	43
4.1	Diskussion der Methodik	43
4.1.1	Auswahl des Patientenkollektivs und Selektionsverzerrung	43
4.1.2	Präanalytik.....	46
4.1.3	Serumanalytik (Auswirkungen auf die Qualität der Datengeneration).....	47
4.1.4	Statistik.....	48
4.2	Diskussion der Ergebnisse	48
4.2.1	Phytosterole bei IUGR-Feten	49
4.2.2	Geschlechtsspezifische Unterschiede fetaler Phytosterole	52
4.2.3	Einfluss der Schwangerschaftswoche nach Entbindung auf die fetale Phytosterolkonzentration	52
4.2.4	Einfluss des maternalen Rauchstatus auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen.....	54
4.2.5	Der Einfluss maternalen Rauchens, Gestationsalter bei Geburt, fetales Geschlecht, Parität, maternaler BMI auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen.....	56
4.2.6	Limitationen und Stärken der Studie.....	56
4.3	Ausblick	57
5	Zusammenfassung	59
6	Literaturverzeichnis.....	61
7	Anhang.....	77
7.1	Publikationen und wissenschaftliche Konferenzen	77
7.1.1	Publikationen.....	77
7.1.2	Wissenschaftliche Konferenzen	77
7.2	Danksagung	78

Abkürzungsverzeichnis

A./Aa.	Arteria/ Arteriae
AFI	Amniotic fluid index, Fruchtwasserindex
AU	Abdominalumfang
AED-flow	Absent enddiastolic blood flow
ARED-flow	Absent or reserved enddiastolic blood flow
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
BPD	Biparietaler Diameter
BMI	Body-Mass-Index
Bzw.	Beziehungsweise
°C	Grad Celsius
CI	Confidence interval, Konfidenzintervall
cm	Zentimeter
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease, chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CPR	Zerebroplazentare Ratio
CTG	Kardiotokographie
CTRL	Kontrollgruppe
DGGG	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe
DM	Diabetes mellitus
DNA/DNS	Desoxyribonucleic acid/ Desoxyribonukleinsäure
eV	Elektronenvolt
FL	Femurlänge
g	Gramm
GC-FID	Gaschromatographie-Flammenionisationsdetektor
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GDM	Gestationsdiabetes mellitus

HCG	Humanes Choriongonadotropin
HDL	High Density Lipoprotein
HPL	Humanes Plazentalaktogen
IUGR	Intrauterine growth restriction, Intrauterine Wachstumsrestriktion
kg	Kilogramm
kg/m ²	Kilogramm/Quadratmeter
KU	Kopfumfang
KU/AU	Kopf-zu-Bauchumfang-Ratio
LDL	Low Density Lipoprotein
LDLR	Low Density Lipoprotein Rezeptor
M	Männlich
m	Meter
mg	Milligramm
mg/dL	Milligramm/Deziliter
ml	Milliliter
ml/min	Milliliter/Minute
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
m/z	Masse-zu-Ladungsverhältnis
n	Number, Anzahl
NETs	Neutrophil extracellular traps
NPC1	Niemann-Pick C1
P	Perzentile
p	Korrelationskoeffizient rho
PI	Pulsatilitätsindex
p.m.	post menstruationem
RDS	Respiratory distress syndrom
REDF	Reversed enddiastolic blood flow
RI	Resistenzindex

RWTH	Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule
SGA	Small for gestational age
SIM	Selektives Ionenmonitoring
SR-B1	Scavenger-receptor class 1
SSW	Schwangerschaftswoche
TC	Total cholesterol, Gesamtcholesterol
T1DM	Diabetes mellitus Typ 1
T2DM	Diabetes mellitus Typ 2
V.	Vena
V. a.	Verdacht auf
vs.	versus
W	weiblich
z. B.	Zum Beispiel
Z. n.	Zustand nach

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Algorithmus zum pränatalen Management der Intrauterinen Wachstumsrestriktion nach Intrauterine growth restriction [22].	9
Abbildung 2: Chemische Struktur von Cholesterol und verschiedenen Phytosterolen.	15
Abbildung 3: Extraktion von Cholesterol und Phytosterolen aus Serumaliquots.	23
Abbildung 4: Konzentration fetaler Phytosterole im Gruppenvergleich.....	29
Abbildung 5: Konzentration der fetalen Phytosterole im Verhältnis zum Gesamtcholesterol (TC) im Gruppenvergleich.	30
Abbildung 6: Geschlechtsspezifische Analyse fetaler Phytosterole.	32
Abbildung 7: Geschlechtsspezifische Analyse fetaler Phytosterole im Verhältnis zum Gesamtcholesterol.	33
Abbildung 8: Einfluss der Schwangerschaftswoche (SSW) nach Entbindung auf die Phytosterolkonzentration der Neugeborenen.	35
Abbildung 9: Einfluss der Schwangerschaftswoche (SSW) nach Entbindung der Neugeborenen auf die Phytosterolkonzentration im Verhältnis zur Gesamtcholesterolkonzentration.	36
Abbildung 10: Einfluss des maternalen Rauchstatus auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen.	38
Abbildung 11: Residualanalyse für bekannte Confounder der Phytosterole von Neugeborenen.	39
Abbildung 12: Phytosterolkonzentrationen von Neugeborenen in Abhängigkeit vom Gestationsalter.	41
Abbildung 13: Phytosterolkonzentrationen von Neugeborenen im Verhältnis zu Gesamtcholesterol (TC) in Abhängigkeit vom Gestationsalter.	42

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Risikofaktoren für die Entstehung einer intrauterinen Wachstumsrestriktion [13, 22, 32].	4
Tabelle 2: Beurteilbarkeit hämodynamischer Kompartimente mittels Dopplersonographie nach Steiner und Schneider [15].	7
Tabelle 3: Klinische Merkmale und Lipidkonzentrationen bei Müttern und Neugeborenen. Darstellung von klinischen Merkmalen und Lipidkonzentrationen bei Müttern bzw. Neugeborenen der CTRL und der IUGR-Gruppe.....	26

1 Einleitung

Die Entwicklung eines Kindes im Mutterleib stellt eine sensible und multifaktoriell beeinflussbare Phase im Leben eines Menschen dar. Grundsätzlich spielt die körperliche und psychische Gesundheit ebenso wie eine funktionstüchtige Plazenta eine entscheidende Rolle in der fetalen Entwicklung, besonders auch in Bezug auf das Geburtsgewicht. Allgemein bekannt ist, dass beispielsweise der Konsum von Nikotin zu einem verminderten Geburtsgewicht führen und der Genuss von Alkohol das fetale Alkoholsyndrom bedingen kann [1, 2], welches ebenfalls mit einem niedrigen Geburtsgewicht einhergeht [3], beides vermeidbare Risiken.

1.1 Intrauterine Wachstumsrestriktion

Die uteroplazentare Insuffizienz, welche eine Mangelversorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff bedingen kann und das fetale Wachstum verzögert, wird als häufigste Ursache einer intrauterinen Gewichtsrestriktion (Intrauterine growth restriction, IUGR) gewertet [4]. IUGR ist eine Schwangerschaftskomplikation, welche mit einer Vielzahl von ungünstigen perinatalen Entwicklungsergebnissen assoziiert ist [5].

Die Feten erreichen ihr genetisch determiniertes Gewicht aufgrund von gehemmtem Wachstum nicht [6]. Bei etwa 30 % der Feten ist die chronische Hypoxämie mit drohender Asphyxie die Hauptkomplikation [7]. Hieraus können schwere gesundheitliche Folgen wie eine erhöhte perinatale Mortalität und Morbidität mit einem breiten Spektrum an Langzeitfolgen, wie fetale Hypoxie, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und eine gestörte neurologische Entwicklung entstehen [8-11].

Es gibt bis heute keine wirksame Therapie, um das Wachstum der IUGR-Feten zu verbessern. Umso wichtiger ist es daher, eine IUGR frühzeitig zu erkennen und den optimalen Entbindungszeitpunkt vor einer fetalen Dekompensation im Mutterleib festzulegen.

1.1.1 Definition

Einen einheitlichen internationalen Konsens zur Definition gibt es nicht [12]. Die IUGR wird durch die Amerikanische Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (ACOG) allein als das Unterschreiten des genetischen Wachstumspotentials aufgrund von pathologischen Prozessen in der fetomaternalen Einheit beschrieben. Das

Hauptkriterium stellt hierbei ein pränatal gemessenes und postnatal bestätigtes fetales Gewicht unterhalb der 10. Perzentile (P.) bezogen auf das Gestationsalter dar [5, 13, 14] und berücksichtigt so weder pathophysiologische noch konstitutionelle Determinanten des Gewichtes.

Die Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) mit ihrer AWMF-Leitlinie als auch die eigene Arbeitsgruppe streben eine exaktere, differenzierte Terminologie an.

Definiert werden hierbei ein fetales Schätzwicht $<10. P$ und/oder ein nicht perzentilengerechtes Wachstum im Verlauf und:

- eine pathologische Dopplersonographie der *Arteria umbilicalis* oder
- eine pathologische Dopplersonographie der *Arteriae uterinae* oder
- ein Oligohydramnion

Vom Gestationsalter abhängig lassen sich die frühe (early onset < 34 SSW) IUGR und die späte (late onset ab 34 SSW) IUGR unterscheiden.

Zur weiteren Klassifikation kann die IUGR in einen symmetrischen und einen asymmetrischen Typ unterteilt werden. Die symmetrische Form tritt typischerweise bereits in der Frühschwangerschaft auf und macht 30 % der Fälle aus (Typ I) [15]. Die Ursache liegt hier eher intrinsisch beim Fetus, unabhängig vom Nährstoffangebot. Zellteilung und Zellwachstum sind reduziert, weshalb man von einer hypoplastischen Form mit oft postpartalem Wachstumsdefizit spricht [6, 16].

Bei der asymmetrischen Form kommt es wahrscheinlich aufgrund einer Plazentainsuffizienz im dritten Trimenon zu einem Sauerstoff- bzw. Substratmangel. Sie macht 70 % der Fälle aus (Typ II). Die Ursache ist meist extrinsisch bedingt [6]. Postpartal kommt es trotz oft auftretender perinataler Hypoxie und Hypoglykämie zu einem Aufholwachstum. Der Kopfumfang (KU) ist im Vergleich zum Abdominalumfang (AU) durch den „brain-sparing-effect“ regelhaft entwickelt [16]. Der „brain-sparing-effect“ beschreibt ein Adaptationsphänomen des Gehirnes, bei welchem es die notwendigen Ressourcen für seine Entwicklung erhält.

Als rein deskriptive Definition wird der Terminus „Small for Gestational Age“ (SGA) verwendet, wenn das Neugeborene zu klein für sein Gestationsalter ist. Die Grenze bildet hierbei ebenfalls ein Geburtsgewicht $<10. P$ und macht 70 % der Feten $<10. P$ aus [6, 9, 17-19]. Es wird lediglich ein Gewicht am unteren Ende der Norm und somit kein unmittelbarer Zusammenhang zu einem pathologischen Wachstum beschrieben.

Auch konstitutionell kleine Kinder, bei denen das genetische Wachstumspotential unter dem der Normalbevölkerung liegt, fallen unter diese Gruppe. Sie weisen ein regelrechtes dynamisches Wachstum mit gleichermaßen niedrigem Kopf- und Abdomenumfang <10. P auf [20-22]. SGA-Feten <3. P werden als Very small for gestational age (VSGA) definiert. Da unter diesen Kindern die perinatale Morbidität und Mortalität erhöht ist, wird dieses Merkmal auch durch Fachgesellschaften und Expertenkomitees, wie beispielsweise die International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology zunehmend in die Definition der IUGR aufgenommen. [19].

1.1.2 Epidemiologie, Ätiologie und Folgen der IUGR

Ungefähr 5 - 10 % aller Schwangerschaften sind von der IUGR betroffen. Man kann die Ursachen ätiologisch in mütterlich, plazentar und fetal einteilen (Tabelle 1). Sie enden meist in einer suboptimalen plazentaren Funktion und damit ungenügenden fetalen Versorgung, die eine erhöhte Morbidität und Mortalität bedingt. Unentdeckte IUGR haben ein 8-fach höheres Risiko für intrauterinen Fruchttod (IUFT) [31, 32]. Lebendgeborene Kinder haben ein erhöhtes Risiko für Hypoglykämie, Hyperbilirubinämie, Hypothermie, Hirnblutung, periventrikuläre Leukomalazie, infantile Zerebralparese, nekrotisierende Enterokolitis, fokalintestinale Perforation, Ernährungsstörungen, Krampfanfälle, Sepsis, Atemnotsyndrom und bronchopulmonale Dysplasie [23, 24]. Besonders hämatologische Veränderungen wie Thrombozytopenie, Leukopenie und Polyzytämie können bei der frühen IUGR stark ausgeprägt sein und nehmen bei Verschlechterung der dopplersonographischen Befunde und chronischen fetalen Hypoxämie zu [25-28]. Infolgedessen kann es häufiger zu Entwicklungsverzögerungen und Erkrankungen (z. B. Adipositas, Diabetes mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen) im Erwachsenenalter kommen [29, 30]. Des weiteren sind 50 % der Totgeburten mit IUGR in Zusammenhang zu bringen [31].

Eine gute maternale Anamnese ist essenziell, um ein erhöhtes IUGR-Risiko zu identifizieren und eine engmaschige Überwachung des Schwangerschaftsverlaufes sicher zu stellen. Die Risikofaktoren für die Entstehung einer IUGR sind in Tabelle 1 zusammengefasst. In der vorliegenden Arbeit liegt der Fokus auf den plazentaren Ursachen. Bekannte mütterliche und fetale Ursachen wurden bewusst ausgeschlossen, um ein möglichst homogenes Kollektiv zu erhalten.

Tabelle 1: Risikofaktoren für die Entstehung einer intrauterinen Wachstumsrestriktion [13, 22, 32]. Intrauteriner Fruchttod (IUFT), Small for Gestational Age (SGA).

Ursachen	Risikofaktoren
Mütterliche Ursachen	<p>Bluthochdruckerkrankung in der Schwangerschaft (Präeklampsie, Gestationshypertonie) Maternales Alter (> 35/> 40 Jahre) Maternales Gewicht (erhöhter oder sehr niedriger Body-Mass-Index (BMI)) Niedriger sozioökonomischer Status Nulliparität Z. n. hypertensiver Erkrankung in vorheriger Schwangerschaft Z. n. IUFT Z. n. SGA/IUGR oder in Familienanamnese Chronisch einwirkende Noxen</p> <ul style="list-style-type: none"> - Alkohol-, Drogen-, Nikotinabusus - Embryo- oder fetotoxische Medikamente <p>Präexistente maternale Erkrankungen, die zu einer reduzierten uteroplazentaren Perfusion oder reduzierten Oxygenierung des maternalen Blutes führen können z. B.:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chronische Atemwegserkrankung - Chronische Hypertonie - Chronische Nierenerkrankung - Diabetes mellitus mit vaskulärer Erkrankung - Kardiale Erkrankungen mit zyanotischer Komponente - Schwere Anämie - Systemischer Lupus erythematodes und Antiphospholipidsyndrom
Uteroplazentare Ursachen	<p>Strukturanomalien mit herabgesetzter Funktion</p> <ul style="list-style-type: none"> - Abruptio placentae - Insertio velamentosa - Plazentainfarkte - Plazentationsstörungen mit ungenügender Trophoblastinvasion und erhöhtem mütterlichen Präeklampsierisiko - Plazentatumoren - Idiopathische Plazentainsuffizienz <p>Mehrlingsschwangerschaft Chromosomenmosaik</p>
Fetale Ursachen	<p>Chromosomenstörungen und syndromale Erkrankungen Intrauterine Infektionen mit Viren oder Protozoen (z. B. V. a. Zytomegalie, Toxoplasmose, Röteln, Varizellen)</p>

	Mehrlingsschwangerschaft Kongenitale Stoffwechselerkrankungen
--	--

Diagnostik

Zur Erkennung einer IUGR ist die Kombination aus ausführlicher Anamnese mit klinischer und apparativer Untersuchung (Sonographie und Kardiotokographie) entscheidend [32, 33]. Miranda et al. konnten 2017 in ihrer Studie zeigen, dass durch die alleinige Erfassung von Risikofaktoren im 3. Trimester lediglich 29 % der IUGR-Feten prädiktiv erfasst werden. Im Zusammenspiel mit angepassten Perzentilen, dopplersonographischen Untersuchungen, Bestimmung des plazentaren Wachstumsfaktors (PIGF) und der maternalen Estradiol-Konzentration steigt die Erfassungsrate auf 77 % [34]. Ausschlaggebend für eine Detektion der IUGR ist die korrekte Bestimmung des Schwangerschaftsalters. Die verlässlichsten Angaben für die Bestimmung des Gestationsalters liefert die Messung der Scheitel-Steiß-Länge (SSL) oder die des biparietalen Durchmessers (BPD) in der Frühschwangerschaft [35]. Eine Korrektur des nach letzter Periode (LP) berechneten Entbindungstermines (ET) sollte bei Abweichungen in der sonografischen Messung der SSL von mehr als 7 Tagen erfolgen. Das im Schwangerschaftsverlauf gemessene Schätzwert lässt sich somit auf eine korrekte Schwangerschaftswoche beziehen und die Gewichtsperzentile des Fetus kann ermittelt werden.

Klinische Untersuchung

Gemäß Mutterschaftsrichtlinien sollte eine Kontrolle des maternalen Fundusstandes in regelmäßigen Abständen von 4 Wochen erfolgen und durch die Messung des Symphysen-Fundus-Abstandes ergänzt und dokumentiert werden (Richtlinien des gemeinsamen Bundesausschusses 2016). Beide weisen jedoch eine geringe Sensitivität und Spezifität auf [36].

Sonographie

Besonders bei der Fetometrie gemäß den Mutterschaftsrichtlinien in der 2. (18+0 – 21+6 SSW) und 3. (28+0 – 31+6 SSW) Basis-Ultraschalluntersuchung sollte auf die Erkennung fetaler Wachstumsstörungen geachtet und bei Auffälligkeiten weiterführende, differenzierte Organdiagnostik durch einen entsprechend ausgebildeten Untersucher angeraten werden (Richtlinien des gemeinsamen Bundesausschusses 2016). Die vier Standardparameter Kopfumfang (KU),

Biparietaler Durchmesser (BIP), Abdomenumfang (AU) und Femurlänge (FL) werden hierfür erhoben [37]. Ein möglicher Wachstumsabfall in Bezug auf die Normalverteilung wird durch Perzentilenflucht in den populationsbasierten Perzentilenkurven nach Voigt et al. deutlich [38]. Alternativ werden die durch Regressionsanalysen auf das fetale Geschlecht, maternale Gewicht und Größe, ethnische Zugehörigkeit und Parität angepassten Perzentilenkurven nach Gardosi et al. berücksichtigt [39].

Ebenfalls können eine fetale Asymmetrie in Bezug auf eine Diskrepanz zwischen AU und KU oder das Vorliegen eines Oligohydramnions mit reduziertem Fruchtwasser (durch Ermittlung des Amniotic fluid index (AFI) oder durch die Messung des tiefsten Fruchtwasserdepots (single deepest pocket-Methode, SDP)) auf einen pathologischen Prozess im Sinne einer IUGR hinweisen (Richtlinien des gemeinsamen Bundesausschusses 2016) und von konstitutionellen SGA abgrenzen.

Dopplersonographie

Um die aktuelle Versorgungssituation der Feten beurteilen zu können, wird als weiterführende Untersuchungsmaßnahme bei Verdacht auf IUGR die Dopplersonographie nach Mutterschaftsrichtlinien durchgeführt. Hier können unter anderem Hinweise auf die Ätiologie gefunden werden, indem eine ortsspezifische Darstellung von Blutflussgeschwindigkeiten über die Zeit gemessen wird.

Betrachtet werden insbesondere die Gefäßwiderstände der *Aa. uterinae* und *A. umbilicalis* welche auf eine Plazentainsuffizienz hindeuten. Durch die zusätzliche Sonographie der *A. cerebri media* und die Bestimmung der cerebroplazentaren Ratio kann bei oft vorliegendem Normalfluss der *A. umbilicalis* um den Geburtstermin eine fragliche IUGR abgeklärt werden. Wird eine IUGR diagnostiziert, liefert die Messung des Flusses im *Ductus venosus* zusätzlich wertvolle Informationen (Richtlinien des gemeinsamen Bundesausschusses 2016).

In Tabelle 2 sind die zu sonographierenden Gefäße in Bezug auf die Beurteilung zusammengefasst.

Tabelle 2: Beurteilbarkeit hämodynamischer Kompartimente mittels Dopplersonographie nach Steiner und Schneider [15]. A.: Arteria, V.: Vena.

Beurteilung	Gefäß
Maternoplazentare Hämodynamik	<i>A. uterina</i>
Fetoplazentare Hämodynamik	<i>A. umbilicalis</i> Fetale <i>Aorta</i>
Fetale Hämodynamik	<i>V. umbilicalis</i> Fetale <i>A. cerebri media</i> Fetaler <i>Ductus venosus</i> Fetale <i>Aorta</i> Fetale <i>V. cava inferior</i> Fetale <i>V. hepatica</i>

Da schädigende Einwirkungen der Dopplersonographie auf den Feten zwar durch sich entwickelnde Wärmewirkung im Gewebe denkbar, aber nicht nachzuweisen sind, ist diese laut Mutterschaftsrichtlinien nur folgenden Situationen vorbehalten:

- Verdacht auf intrauterine Wachstumsrestriktion
- Hypertensive Schwangerschaftserkrankung oder Zustand nach dieser
- Zustand nach Mangelgeburt
- Auffälligkeiten in der fetalen Herzfrequenzmessung
- Begründeter Verdacht auf Fehlbildungen oder fetale Erkrankung
- Mehrlingsschwangerschaft mit diskordantem Wachstum

Wichtigste Messgrößen sind hierbei das systolische Maximum (A) und das enddiastolische Maximum (B) der Blutflussgeschwindigkeit. Hieraus lassen sich folgende zwei Parameter als Maß berechnen. Zum einen der Resistance-Index, welcher das Verhältnis von maximaler enddiastolischer und maximaler systolischer Blutflussgeschwindigkeit beschreibt und als ein direktes Maß für den peripheren Gefäßwiderstand dient. Hier spiegelt ein hoher RI einen hohen Gefäßwiderstand wider. Der RI steigt zunächst bei zunehmendem Gefäßwiderstand an, wird aber bei hohen Widerständen nur wenig beeinflusst. Dies lässt Rückschlüsse auf die Impedanz und Compliance des nachgeschalteten Gefäßbettes zu [15].

Zum anderen wird der Pulsatilitäts-Index (PI) als Verhältnis von peripherem Widerstand zur Blutflussgeschwindigkeit bestimmt. Er nimmt bei sinkendem Gefäßwiderstand und steigendem Blutfluss ab und umgekehrt bei steigendem Gefäßwiderstand und sinkendem Blutfluss zu. Der PI steht durchgehend in linearem Zusammenhang mit dem Gefäßwiderstand und kann demzufolge auch bei hochpathologischen Werten angewandt werden [15].

Weiterhin kann eine zunehmende periphere Widerstandserhöhung zu einem diastolischen Nullfluss (Absent enddiastolic blood flow = AED-flow) führen und sich im Verlauf zu einem retrograden Blutfluss in der Diastole entwickeln. Dies wird in der Dopplersonographie als Absent or reversed enddiastolic blood flow (ARED-flow) dargestellt [40].

Kardiotokographie

Im Vergleich zu chronischen Verläufen lassen sich akut hypoxische fetale Zustände mit der Kardiotokographie (CTG) gut detektieren [41]. Um eine IUGR sicher zu diagnostizieren ist dieses Verfahren jedoch nur bedingt hilfreich, wird aber gemäß Mutterschaftsrichtlinien im Rahmen der Schwangerenvorsorge bei einem Verdacht auf Plazentainsuffizienz unterstützend hinzugezogen (Richtlinien des gemeinsamen Bundesausschusses 2016).

Differentialdiagnostik

Eine Karyotypisierung auf chromosomale Anomalien beispielsweise durch eine invasive Pränataldiagnostik zur zytogenetischen, ggf. molekularzytogenetischen Diagnostik sollte ebenso wie eine Analyse der zellfreien DNA im maternalen Blut in Betracht gezogen werden, um das weitere Management zu planen.

Da auch intrauterine Infektionen ursächlich für eine IUGR sein können, kann im Hinblick auf virale Infektionen oder bei Verdacht das TORCH-Screening stattfinden [16]:

- **T:** Toxoplasmose
- **O:** Others (z. B. Parvovirus B19, Varizella-Zoster-Virus)
- **R:** Rubella (Bei fehlender Dokumentation einer zweifachen Impfung)
- **C:** Zytomegalie
- **H:** Herpes-Simplex, Hepatitis B/C, Humanes-Immundefizienz-Virus

1.1.3 Management

Eine kausale Therapieoption für die IUGR gibt es bisher nicht. Vor diesem Hintergrund stellt das Management alle Beteiligten vor eine große Herausforderung. Um irreversible Schäden durch fetale Hypoxämie oder gar einen intrauterinen Fruchttod zu vermeiden ist eine rechtzeitige Entbindung die Zielsetzung. Dem gegenüber steht, dass die Schwangerschaft so lange wie möglich erhalten bleiben sollte, um Folgen einer Frühgeburt so weit wie möglich zu reduzieren [26].

Hier ist für wachstumsrestringente Feten das Zusammenspiel verschiedener Überwachungsverfahren empfehlenswert. Um die perinatale Mortalität zu senken, sind die biometrische Sonographie und vor allem die Dopplersonographie essenziell (Richtlinien des gemeinsamen Bundesausschusses 2016). Aber auch die regelmäßigen Kontrollen des AFI, der fetalen Entwicklung und des CTG sollten nicht außer Acht gelassen werden [7]. In Abbildung 1 ist das Management der IUGR als Algorithmus zusammengefasst.

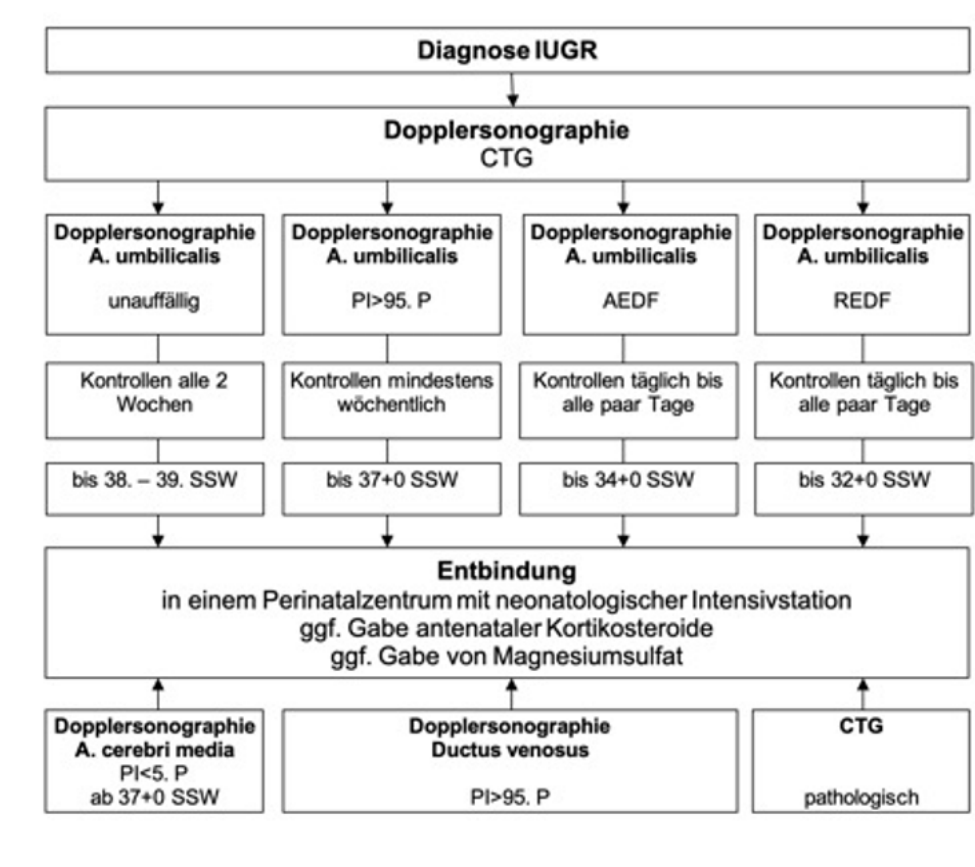


Abbildung 1: Algorithmus zum pränatalen Management der Intrauterinen Wachstumsrestriktion nach Intrauterine growth restriction [22]. IUGR: Intrauterine

Wachstumsrestriktion, CTG: Kardiotokographie, A.: Arteria, PI: Pulsatility Index, P: Perzentile, AEDF: absent enddiastolic blood flow, REDF: reversed enddiastolic blood flow, SSW: Schwangerschaftswoche, ggf.: gegebenenfalls.

Diagnostische Verlaufskontrollen

Vor dem Hintergrund der Limitation der sonographischen Gewichtsschätzung sind serielle sonographische Kontrollen des fetalen Wachstums alle zwei bis drei Wochen empfehlenswert [42]. Die sonographische Kontrolle des Fruchtwassers spielt im Gesamtkontext ebenfalls eine wichtige Rolle. Aufgrund hypoxieinduzierter Blutflussumverteilung zu Ungunsten weniger vitaler Organe wie der Niere resultiert eine verminderte Urinproduktion und damit einhergehend ein Oligohydramnion. Allem voran ist jedoch die Dopplersonographie der fetalen *Aa. umbilicales*, *Aa. cerebri mediae* und des *Ductus venosus* von entscheidender Bedeutung für die Überwachung der IUGR.

Durch einen zunehmenden Verschluss fetoplazentarer Blutgefäße und damit einhergehender uteroplazentarer Dysfunktion werden die hämodynamischen Veränderungen deutlich. Der Verschluss der Zottenarterien wird durch einen Anstieg des PI in den *Aa. umbilicales* veranschaulicht. Bei einem hochgradigen Verschluss von 60 – 70 % kommt es zum AED- oder ARED-Flussmuster [43, 44]. Die dopplersonographische Kontrolle der *Aa. umbilicales* allein ist zur Beurteilung nicht ausreichend. Zusätzlich wird der Fluss in den *Aa. cerebri mediae* beobachtet. Eine zunehmende Hypoxämie führt hier zur kompensatorischen Gefäßdilatation, um die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung des fetalen Gehirnes im Sinne des „brain-sparing-effects“ zu gewährleisten. Die arterielle Dilatation führt zur Abnahme des PI und ist damit ein frühes Zeichen einer fetalen Hypoxämie bei IUGR [45, 46].

Ein weiteres frühes Zeichen gibt die cerebroplazentare Ratio (CPR) an. Sie ist der Quotient aus PI bzw. RI der *A. cerebri media* und dem PI bzw. RI der *A. umbilicalis*. Erniedrigte Werte kennzeichnen eine erhöhte zerebrale Blutumverteilung (brain-sparing-effect) zugunsten des fetalen Gehirnes [47] und sind mit einem schlechten perinatalen Outcome verbunden [48].

Eine dopplersonographische Erhöhung des PI im *Ductus venosus* dient als später Prädiktor für eine fetale Azidämie. Hierdurch zeigt sich eine fetale myokardiale Hypoxämie, welche zur kardialen Funktionseinschränkung und Erhöhung des zentralvenösen Druckes führt [49].

Respiratory Distress Syndrome-Prophylaxe (RDS)

Die intramuskuläre Gabe antenataler Kortikosteroide wird leitliniengerecht bei IUGR zwischen der 24+0 SSW und 34+0 SSW mit zu erwartender Entbindung in den nächsten sieben Tagen zur Senkung des Risikos eines Atemnotsyndroms, einer intraventrikulären Blutung, einer nekrotisierenden Enterokolitis oder des kindlichen Todes empfohlen (Richtlinien des gemeinsamen Bundesausschusses 2016).

Neuroprotektion

Da international in verschiedenen Studien Hinweise auf den neuroprotektiven Effekt von Magnesiumsulfat unter der 32+0 SSW existieren, wird dessen Gabe empfohlen. Das Risiko einer infantilen Zerebralparese ist umso höher, je niedriger das Gestationsalter ist. Der Wirkmechanismus ist ebenso wie die exakte Dosierung, der Beginn und die Dauer der Gabe unklar [50-52].

Entbindung

Bei Vorliegen oder V. a. einer IUGR soll die Entbindung in einem Perinatalzentrum mit neonataler Intensivstation und erfahrenem Team erfolgen, um auf Morbiditäten adäquat reagieren zu können. Bereits in der Schwangerschaft kann interdisziplinär (Pränatalmediziner/Geburtshelfer, Neonatologen und ggf. Humangenetiker) ein Gespräch über das Krankheitsbild mit den werdenden Eltern geführt werden. Hier sollte eine Aufklärung über mögliche Ursachen, Kurz- und Langzeitfolgen, das Wiederholungsrisiko (ca. 20 %) und mögliche diagnostische Verlaufsuntersuchungen stattfinden [53].

Das Gestationsalter spielt eine entscheidende Rolle für das morbiditätsfreie Überleben [27]. Für die Planung des Entbindungszeitpunktes sollten daher die Risiken einer Frühgeburtlichkeit mit denen des intrauterinen Verbleibs abgewogen werden [26].

Eine Entbindung wird empfohlen, wenn mindestens eine der folgenden fetalen Auffälligkeiten beobachtet wird:

- Erhöhter PI des *Ductus venosus* bei < 32+0 SSW
- Enddiastolisch retrograder Blutfluss der Aa. umbilicales bei < 32+0 SSW
- Enddiastolischer Nullfluss der Aa. *umbilicales* bei > 34+0 SSW
- Erhöhter PI der Aa. *umbilicales* > 95. P bei > 37+0 SSW
- Erhöhter PI der A. *cerebri media* > 95. P bei > 37+0 SSW
- Auffällige CPR < 1 bzw. < 5. P bei > 37+0 SSW

1.1.4 Prophylaxe

Besteht beispielsweise nach vorausgegangener IUGR-Schwangerschaft ein erhöhtes Risiko für die erneute Entwicklung einer IUGR, wird prophylaktisch eine tägliche Therapie mit niedrig dosierter Acetylsalicylsäure p.o. empfohlen. Begonnen werden sollte diese < 16. SSW [54]. Bezüglich Bettruhe, spezieller Ernährung oder einer prophylaktischen Gabe von niedermolekularem Heparin besteht keine ausreichende Evidenz [55, 56]. Es sollten jedoch alle Schwangeren darüber aufgeklärt werden, dass ein Nikotinverzicht das Risiko für eine IUGR senken kann [57].

1.2 Serumlipide

Cholesterol und Fettsäuren erfüllen im Organismus als essenzielle Lipidmetabolite vielfältige Funktionen. Cholesterol wird in Lipiddoppelschichten in Zellmembranen eingelagert und beeinflusst so deren Stabilität. Darüber hinaus dient Cholesterol als Vorläufer von Gallensäuren und Steroidhormonen. Fettsäuren dienen in freier Form als hochenergetischer Energielieferant [57], wobei die Speicherung von Energie durch Dreifachveresterung von Fettsäuren mit Glycerin zu Triglyceriden (TG) erfolgt.

Cholesterol und TG werden aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften im Blut in Form von Lipoproteinen zum Gewebe transportiert, in dem sie gespeichert, verbraucht oder abgebaut werden. Diese Lipoproteine sind Molekülkomplexe, deren Außenschicht aus hydrophilen Phospholipiden und Cholesterol bestehen. Das lipophile Innere setzt sich zu bestimmten Anteilen aus TG, Cholesterinestern und Apolipoproteinen (Apo) zusammen. Apo haben die Funktion Lipide zu binden, die Bindung an Rezeptoren auf Zielzellen zu vermitteln und am Lipidstoffwechsel beteiligte Enzyme zu aktivieren. Lipoproteine werden aufgrund ihrer physikalischen Dichte unterschieden, wobei sich diese aus dem unterschiedlichen Protein- und Lipidanteil des jeweiligen Lipidproteins ergibt. Mit aufsteigendem Dichtegrad werden Lipidproteine in die vier Hauptklassen Chylomikronen, Very low density Lipoproteine (VLDL), Low density Lipoproteine (LDL) und High density Lipoproteine (HDL) eingeteilt.

1.2.1 Maternaler Lipidmetabolismus in der Schwangerschaft und bei fetaler IUGR

Cholesterol kann durch die Nahrung aufgenommen, aber auch in der Leber und dem Darm durch Eigensynthese hergestellt werden [58]. Im gesunden Menschen stehen

die körperliche Eigensynthese, die intestinale Aufnahme aus der Nahrung, der Transport in Lipidproteinen und die biliäre Ausscheidung im Gleichgewicht [59].

Der maternale Cholesterolspiegel in der Schwangerschaft unterscheidet sich deutlich vom nicht graviden Zustand. Die mütterlichen Serumlipide steigen im physiologischen Schwangerschaftsverlauf an und erreichen ihre Höchstwerte nahe dem Geburtstermin. Am stärksten steigen die TG an, gefolgt vom Gesamtcholesterol sowie dem LDL-Cholesterol und HDL-Cholesterol [58, 60, 61].

Das Cholesterol, Hauptbestandteil der Zellmembranen, Stoffwechselregulator (Oxysterole) und Vorläufer von Steroidhormonen im menschlichen Körper, ist für die fetale Entwicklung als Modulator des Hedgehog-Signalweges von großer Bedeutung [61]. Der Cholesterolbedarf des Fetus steigt im Schwangerschaftsverlauf stark an [62]. Während der Schwangerschaft wird Cholesterol über die Plazenta zum Fetus transportiert und trägt zur normalen fetalen Entwicklung bei. Der größte Anteil des Cholesterols wird jedoch vom Fetus selbst endogen synthetisiert [63]. Der Fetus beginnt erst gegen Ende des zweiten Schwangerschaftsdrittels einen Teil der Lipidmetabolite als Energiespeicher in Form von Fettdepots zu speichern [64].

Studien konnten zeigen, dass die Cholesterolkonzentration im fetalen Blut von IUGR-Neugeborenen erniedrigt ist [65-71]. Insbesondere die HDL-Fraktion, welche als Haupttransportmolekül für Cholesterol dient und das häufigste Lipoprotein im Fetus darstellt, ist um bis zu 50 % im Vergleich zu normal entwickelten Feten reduziert. Die Gründe hierfür sind nicht abschließend geklärt [71].

1.2.2 Transplazentaler Transport von Cholesterin

Während der Schwangerschaft steuert die Plazenta den Transport von Cholesterol von der Mutter zum Fetus und umgekehrt. Das maternale Cholesterol muss dabei zwei Hauptmembranbarrieren überwinden. Zunächst wird Cholesterol von der apikalen Seite des Synzytiotrophoblasten (STB) aus dem mütterlichen Kreislauf als HDL-, LDL- oder VLDL-Cholesterol gebunden und an der dem villösen Stroma zugewandten Basalseite ausgeschieden [61, 72]. Anschließend wird das Cholesterol vom villösen Stroma vom Endothel des fetalen Gefäßsystems aufgenommen und zu den fetalen Gefäßen transportiert oder es wird von der Plazenta zur Synthese von Hormonen genutzt. An der Aufnahme des HDL-, LDL- und VLDL-Cholesterols sind Scavenger-Rezeptoren vom Typ B Klasse 1 (SR-B1), Cubulin, Megalin, LDL-Rezeptor (LDLR) und das Niemann-Pick-C1 (NPC1) beteiligt [73-75]. Durch Wechselwirkungen mit

Apolipoproteinen (z. B. apoA1) wird Cholesterol entweder über den ABC-Transporter A1 oder G1, die auf der apikalen/basalen Seite des STB oder des Endothels lokalisiert sind, in den mütterlichen oder fetalen Kreislauf abgeführt [76, 77].

1.3 Phytosterole

1.3.1 Eigenschaften, Vorkommen und Funktion

Als Phytosterole werden Sterole bezeichnet, die ausschließlich von Pflanzen synthetisiert werden. In Pflanzen stellen sie, analog zum Cholesterol in Säugerzellen, eine wichtige Strukturkomponente zur Gewährleistung der Stabilität der Zellmembran dar [78]. Darüber hinaus dienen Phytosterole als Vorstufen für die Synthese von Phytosteroidhormonen, den Brassinosteroiden. Diese haben als Phytohormone einen Einfluss auf Wachstums- und Transportvorgänge der Pflanzen [79, 80].

Phytosterole weisen strukturell eine große Ähnlichkeit zu Cholesterol auf. Das tetrazyklische Sterangerüst hat eine Hydroxylgruppe an C-3 und eine Seitenkette an C-17 (Abbildung 2). Unterschiede bestehen in der Modifikation der Seitenkette. Campesterol zeichnet sich durch eine zusätzliche Methylgruppe am C-24 Atom und Sitosterol durch eine zusätzliche Ethylgruppe am C-24 Atom aus. Stigmasterol weist neben einer Ethylgruppe an C-24 eine zusätzliche Doppelbindung an C-22 auf. Brassicasterol weist ebenfalls an C-22 eine Doppelbindung auf, jedoch befindet sich hier an C-24 eine Methylgruppe.

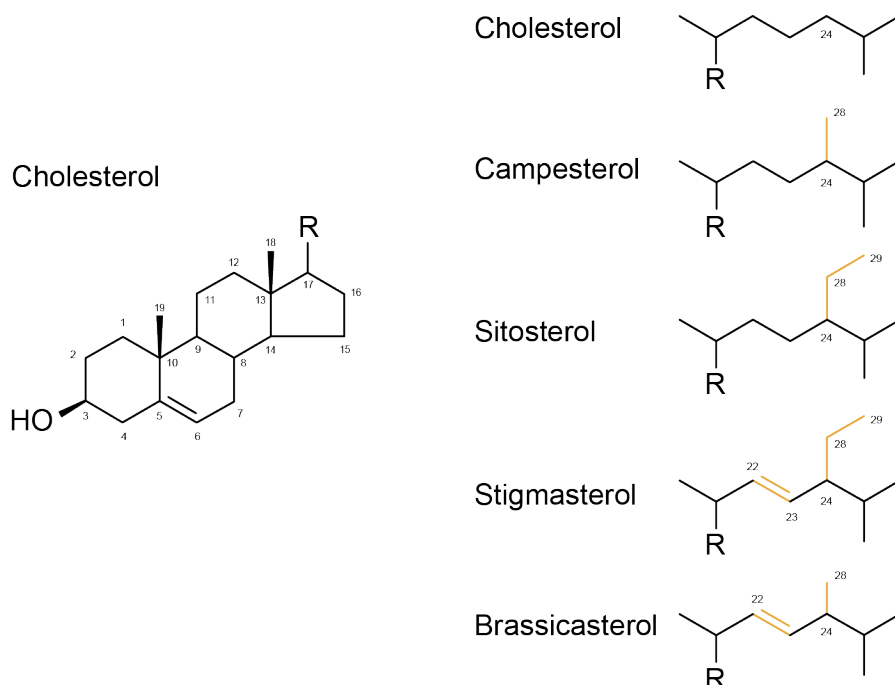


Abbildung 2: Chemische Struktur von Cholesterol und verschiedenen Phytosterolen

Während Säugetier- und Pilzzellen fast ausschließlich Cholesterol bzw. Ergosterol als Sterole enthalten, sind Pflanzenzellen durch eine komplexe Sterolmischung aus Cholesterolanaloga charakterisiert [81]. Bisher konnten mehr als 250 verschiedene Phytosterole in Pflanzen identifiziert werden. Dabei sind die am häufigsten vorkommenden Phytosterole Sitosterol, Campesterol und Stigmasterol. Sitosterol kann als am häufigsten vorkommendes Pflanzensterol 45 – 95 % des Gesamtsterolgehaltes in Pflanzen ausmachen, Campesterol bis zu 30 % und Stigmasterol bis zu 25 % [82-84]. In geringeren Mengen treten Brassicasterol, Campestanol, Sitostanol und Avenasterol auf.

Da Phytosterole nur geringfügig wasserlöslich sind, kommen sie primär in Pflanzenteilen vor, in denen Fett oder Stärke gespeichert werden [85]. Als reichste natürliche Quelle dienen dabei Pflanzenöle und deren Produkte, gefolgt von Getreidekörnern sowie Produkten auf Getreidebasis und Nüsse. Der Gehalt variiert dabei erheblich und kann in pflanzlichen Ölen (z. B. Maiskeimöl, Sonnenblumenöl) Konzentrationen von 900 mg/100 g erreichen. Die Hauptquelle der Aufnahme mit der Nahrung stellen Getreide wie Weizen oder Gerste dar. Diese enthalten ca. 70 mg/100 g. In frischem Gemüse ist die Phytosterolkonzentration geringer. Die

Gesamtphytosterol-Konzentration in Brokkoli beträgt im Schnitt 30 mg/100 g, Karotten enthalten im Schnitt 20 – 30 mg/100 g [86, 87].

1.3.2 Phytosterolmetabolismus

Phytosterole können nicht de novo vom menschlichen Körper produziert werden. Jedoch werden im Durchschnitt mit der Nahrung täglich 200 – 400 mg Phytosterole aufgenommen [87]. Obwohl eine strukturelle Ähnlichkeit zwischen Cholesterol und Phytosterolen besteht, wird Cholesterol im Schnitt zu 40 – 60 % im Darm resorbiert, wohingegen die Resorption von Phytosterolen mit 0,6 – 7,5 % deutlich geringer ist [88]. Auch innerhalb der Phytosterole sind Unterschiede in der Absorption zu erkennen, wobei mit zunehmender Länge der Seitenkette die Absorptionsrate abnimmt. So beträgt die Resorption von Campesterol 9 – 18 %, von Sitosterol 5 – 8 % und von Stigmasterol ca. 4,8 %.

Die Aufnahme der Phytosterole aus dem Intestinaltrakt erfolgt wie beim Cholesterol mit Hilfe des Niemann-Pick-C1-Like-1 (NPC1L1) Proteins [89]. Dabei werden sowohl Cholesterol als auch Phytosterole im Verdauungstrakt emulgiert und mit Hilfe von gemischten Mizellen (kugelförmige Aggregate von Gallensäuren, Fettsäuren, Monoglyceriden und Lysophospholipiden) zum NPC1L1 transportiert und über dieses aufgenommen [90]. In den Enterozyten wird ein Teil der Phytosterole verestert, wo sie zum Teil in freier und veresteter Form in Chylomikronen verpackt werden [91] und über das Lymphsystem in den Blutkreislauf gelangen können. Von hier aus werden sie wiederum in die Leber transportiert. Ein gewisser Teil der freien Phytosterole wird über den basolateral exprimierten Steroltransporter ABCA1 auf ApoA-I übertragen [92]. Die unveresterten Phytosterole werden über die apikal exprimierten Steroltransportproteine ABCG5 und ABCG8 größtenteils zurück ins Darmlumen exportiert [93, 94].

Die Galle scheidet die Phytosterole aus, wobei sie aber nicht wie das Cholesterol in der Leber zu Gallensäuren metabolisiert werden [95].

Während die durchschnittliche Serumkonzentration des Gesamtcholesterols zwischen 125 – 320 mg/dL liegt, beträgt die Serumkonzentration von Phytosterolen 0,3 – 1,7 mg/dL [90]. Phytosterole werden wie das Cholesterol gebunden an LDL (ca. 70 – 80 %) und HDL (ca. 20 – 30 %) im Blut transportiert [96] und liegen zum Teil als Fettsäureester vor.

Verschiedene Studien konnten zeigen, dass Phytosterole die LDL-Cholesterolkonzentration um 8 – 10 % senken können, wenn sie in höheren Mengen (ca. 2 g/Tag) eingenommen werden [97, 98].

Unterschiedliche Gründe konnten hierfür aufgezeigt werden:

1. Die Verdrängung von Cholesterin aus gemischten Mizellen (Mizellentheorie).
2. Durch das Modifizieren der Expression von Genen, die für das Steroltransportprotein NPC1L1 kodieren oder die Transporter der ATP-Bindungskassette (ABCG5 und ABCG8), die den Cholesterintransport aus Enterozyten zurück in das Darmlumen fördern.
3. Durch das Verringern der Cholesterin-Wiederveresterung in den Enterozyten.
4. Durch die Erhöhung der Cholesterinentfernung aus dem Körper über den transintestinalen Cholesterinabfluss (transintestinal cholesterol efflux, TICE) [90].

Jedoch konnten bisher nur für die Mizellentheorie experimentelle Hinweise gefunden werden [90, 99-101].

1.3.3 Phytosterole in der Schwangerschaft

Es liegen wenig Daten zu Phytosterolen in der Schwangerschaft und insbesondere beim Neugeborenen vor. Eine Studie konnte zeigen, dass die Konzentrationen von Pflanzensterolen im Nabelschnurblut von gesunden Neugeborenen unmittelbar nach der Geburt 40 – 50 % der maternalen Konzentrationen betragen, was wiederum auf einen Transport durch die Plazenta zum Fetus hinweist [102]. Baardman et al. wiesen nach, dass Phytosterole die gleichen Transportmechanismen wie Cholesterol von der Mutter durch die Plazenta zum Fetus nutzen [103].

1.4 Fragestellung und Hypothese

Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Cholesterolkonzentration im fetalen Blut von IUGR-Neugeborenen im Vergleich zu adäquat entwickelten Feten erniedrigt ist [65, 66, 69, 71]. Es ist unklar, ob diese erniedrigte Cholesterolkonzentration durch eine verminderte fetale Cholesterolsynthese, eine verminderte plazentare Abgabe oder eine erniedrigte mütterliche Cholesterolbereitstellung verursacht wird.

Da Phytosterole unabhängig von der Cholesterolsynthese ausschließlich über die Nahrung aufgenommen werden, ist die Konzentration bei den Feten direkt abhängig

von der Mutter. Eine erniedrigte Phytosterolkonzentration in IUGR-Feten, im Vergleich zu adäquat entwickelten Feten, würde auf eine verminderte Cholesterollbereitstellung durch die Mutter oder einen verminderten Transport durch die Plazenta hinweisen.

Dieser Arbeit liegt die Hypothese zu Grunde, dass die IUGR pathophysiologisch durch eine verminderte materno-plazentare Cholesterollbereitstellung bedingt ist. Es wird eine verminderte Phytosterolkonzentration im Nabelschnurblut bei IUGR im Vergleich zu einer Kontrollgruppe postuliert.

2 Material und Methoden

Zur Beantwortung der Hypothese erfolgte prospektiv antenatal das Screening schwangerer Frauen auf einen möglichen Einschluss in die Studie. Es wurden bei eingeschlossenen Frauen im Nabelschnurblut Cholesterol und Phytosterole mittels Gas-Chromatographie-Massen-Spektrometrie (GC-MS) gemessen. Die Werte der antenatal als IUGR identifizierten Schwangerschaften wurden mit denen einer Kontrollgruppe verglichen. Die mütterlichen und fetalen Charakteristika wurden mit den gemessenen Werten korreliert, um die Einflussfaktoren abzuschätzen.

2.1 Probandenkollektiv

Ein Votum bei den Ethikkommissionen des Universitätsklinikums der Rheinischen-Westfälischen Technischen Hochschule (RWTH) Aachen wurde unter den Nummern EK-154-11 und des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH) Campus Kiel unter B315/15 erteilt. Das schriftliche Einverständnis aller Probandinnen und ihrer Partner wurde für die Verwendung schwangerschaftsbezogener Daten und der Bioproben eingeholt. Für die vorliegende Studie wurden schwangere Patientinnen ab 24+0 SSW bei Vorstellung in der Klinik aus unterschiedlichen Indikationen mit und ohne Frühgeburtsbestrebung eingeschlossen. Folgende Ausschlusskriterien wurden für die Aufnahme in die Studie festgelegt:

- Mehrlingsschwangerschaft
- Fetale Anomalien, abnormer Karyotyp
- Klinische oder laborchemische Zeichen einer Infektion
- Positives TORCH-Screening
- Maternaler Diabetes mellitus/Gestationsdiabetes mellitus
- Schwere maternale Erkrankungen
- Lungenreifeinduktionstherapie ≤ 5 Tagen vor Geburt
- Fehlende Einwilligung

Als zusätzliches Ausschlusskriterium für die Kontrollgruppe galt ein maternaler Hypertonus, da die IUGR pathophysiologisch stark mit einer hypertensiven Schwangerschaftserkrankung assoziiert ist.

Insgesamt wurden die Daten von 1200 Patientinnen an den Universitätskliniken der RWTH Aachen und des UKSH, Campus Kiel, im Zeitraum zwischen 2006 bis 2018 erhoben. Die Daten zum Schwangerschaftsverlauf wurden mit Hilfe des Mutterpasses und der klinikinternen Dokumentation erfasst. Die Berechnung des Schwangerschaftsalters erfolgte anhand des Beginns der letzten Menstruationsblutung (post menstruationem, p.m.). Hier kann es zu Abweichungen kommen, da für die Berechnung von einem regelmäßigen Zyklus mit 28 Tagen Länge ausgegangen wurde. Dementsprechend führen ein unregelmäßiger, verkürzter oder verlängerter Zyklus zu Unregelmäßigkeiten. Um diesen entgegenzuwirken wurde das Schwangerschaftsalter stets per Ersttrimester-Ultraschall-Befund überprüft und ggf. korrigiert. Hierzu wurde die Biometrie des Fetus mittels Messung der Scheitel-Steiß-Länge (Mutterschafts-Richtlinien des Gemeinsamen Bundesausschuss, 2016) ermittelt.

Als weitere klinische Parameter wurden erhoben:

- Geschlecht
- Schwangerschaftswoche
- Maternaler Rauchstatus
- Gestationsalter bei Geburt
- Parität
- Maternaler BMI

Bei Aufnahme und ggf. im Verlauf erfolgten fetale Biometrien mit Hilfe des Ultraschallgerätes GE Logiq 5® und GE Voluson. Zur Bestimmung des fetalen Schätzwichtes wurden antepartal die Parameter biparietaler Durchmesser, Kopf- und Abdomenumfang sowie Femurlänge gemäß der Regressionsgleichung nach Hadlock et al. hinzugezogen [104]. Als Referenzen des fetalen und neonatelen Gewichtes dienten dabei die Perzentilkurven von Voigt und Schneider [38].

Die in diese Studie eingeschlossenen Mütter und Feten wurden in zwei Gruppen eingeteilt: Die Kontrollgruppe (CTRL) und die IUGR-Gruppe. Als Einschlusskriterien für die IUGR-Gruppe wurden folgende Diagnosekriterien verwendet: Gewicht < 10. P (postpartal bestätigt) und mindestens ein weiteres Kriterium:

- Wachstumsabfall um > 40 Perzentilen (P)
- RI der *A. umbilicalis* > 95. P oder ARED in der Dopplersonographie

- Fetale Asymmetrie: KU/AU > 95. P
- Oligohydramnion: AFI < 6 cm

Die Studienteilnehmerinnen mit einem unauffälligen Schwangerschaftsverlauf und einem Geburtsgewicht zwischen der 10. – 90. P wurden der CTRL-Gruppe zugeteilt.

2.2 Probengewinnung

Zunächst erfolgte die maternale Blutentnahme im Rahmen der stationären Aufnahme zur Geburt durch Stauung der *V. cubitalis*. Hierbei wurden zwei 9 ml (Milliliter) Serum-Monovetten® sowie eine 4,9 ml Serum-Monovette® (Sarstedt, Deutschland) entnommen. Das fetale Nabelschnurblut wurde postnatal innerhalb von 15 min (Minuten) nach der Geburt an einer doppelt abgeklemmten Nabelschnur entnommen. Dazu wurde je eine 4,9 ml Serum-Monovette® (Sarstedt, Deutschland) mit venösem Nabelschnurblut befüllt. Die Blutentnahmen erfolgten durch Mitarbeiter der geburtshilflichen Abteilungen der Universitätskliniken Aachen und Kiel. Erfolgte keine direkte Probenaufbereitung, wurden die befüllten Serum-Monovetten® in einer Bosch Kältemaschine der Firma Kirsch bei +4 °C für maximal 24 h gelagert. Ein Lipidprofil aus mütterlichem und Nabelschnurblut mit den Konzentrationen von TG, Gesamtcholesterol, HDL- und LDL-Cholesterol wurde im Rahmen anderer Untersuchungen erfasst. Auf die Methodik und Analytik diesbezüglich wird an dieser Stelle nicht weiter eingegangen sondern auf die entsprechenden Studien und Publikationen verwiesen [71]. Die Ergebnisse und Laborwerte wurden für die vorliegende Studie sekundär verwendet, um die Zielparameter auf die Cholesterol-Hintergrundkonzentration zu beziehen.

2.3 Probenaufbereitung

Um die Separation von Serum und Plasma zu gewährleisten, wurden die Blutproben nach einer Inkubationszeit von 15 – 30 min bei Raumtemperatur mit 2000 Umdrehungen/Minute für 15 min. in einer Zentrifuge der Firma Hettrich zentrifugiert. Die Blutproben wurden hierfür mit einer Waage der Firma Sartorius abgewogen und ein gewichtsidentisches Oppositionsröhrchen genutzt. Das Serum wurde anschließend mittels einer Pipette der Firma Eppendorf entnommen und in 4 Cryoröhrchen „Cryovials“ der Firma Simport aliquotiert. Die Lagerung erfolgte in einem Kühlschrank der Firma Sanyo Ultraflow bei –80 °C bis zur weiteren Verarbeitung.

2.4 Fallzahlplanung und Probenauswahl

Anhand des maternalen LDL/HDL-Quotienten wurde die Fallzahlplanung vorgenommen. Dies begründet sich durch die bisherige Überzeugung einer Korrelation von maternalen Blutfettwerten mit der IUGR. So ergab sich bei einer angestrebten Power von 80 % und einem Signifikanzniveau von $p = 0,05$ eine notwendige Fallzahl von $n = 26$ pro Studiengruppe. Von insgesamt 40 IUGR-Feten unterschiedlichster Schwangerschaftswochen bei Entbindung standen ausreichend Nabelschnurblut sowie vollständige klinische Datensätze zur Verfügung. 102 Geburten wurden als adäquat entwickelte Früh- oder Termingeborene gewertet. Um unabhängige Störfaktoren auszuschließen, wurden 40 IUGR-Probanden anhand fetalen Geschlechtes und Gestationsalters bei Geburt (± 7 Tage) mit 40 CTRL-Probanden gepaart. Darüber hinaus wurden für die Paare möglichst geringe Unterschiede in Bezug auf das maternale Alter, den maternalen Nikotinkonsum und BMI sowie eine durchgeführte Betamethasonbehandlung angestrebt.

Folgende Subgruppen wurden gebildet und berücksichtigen mögliche Gender-Unterschiede sowie pathophysiologische Aspekte zwischen early-onset und late-onset IUGR:

- IUGR ≤ 34 . SSW versus (vs.) CTRL ≤ 34 . SSW
- IUGR > 34 . SSW vs. CTRL > 34 . SSW
- IUGR ≤ 34 . SSW vs. IUGR > 34 . SSW
- CTRL ≤ 34 . SSW vs. CTRL > 34 . SSW
- IUGR männlich vs. CTRL männlich
- IUGR weiblich vs. CTRL weiblich
- IUGR männlich vs. IUGR weiblich
- CTRL männlich vs. CTRL weiblich

2.5 Serumlipidanalysen

Die Analyse der Konzentrationen von fetalem Cholesterol und der Phytosterole wurde an der Universitätsklinik Bonn unter Aufsicht von Herrn Professor Lütjohann durchgeführt. Der Probenversand erfolgte auf Trockeneis, wobei eine kontinuierliche Kühlung der Proben garantiert wurde. Nach Ankunft der Proben wurden diese im Labor überprüft und bis zur endgültigen Verarbeitung bei -80°C gelagert. Die Analyse der Proben erfolgte nach festgelegten Standards, welche in vorausgegangenen Arbeiten

veröffentlicht wurden [84, 105, 106]. Es erfolgte die Extraktion und Konzentrationsmessung von fetalem Cholesterol, Campesterol, Stigmasterol, Sitosterol und Brassicasterol. Die Abbildung 3 stellt das Extraktionsverfahren dar. Im Anschluss erfolgte die Bestimmung der fetalen Gesamt-Cholesterol-Konzentrationen mittels GC-FID (Gaschromatographie-Flammenionisations-Detektor). Die Bestimmung von Campesterol, Stigmasterol, Sitosterol und Brassicasterol erfolgte bei bekannten Masse-zu-Ladungs-Verhältnissen (m/z) der Phytosterole mittels GC-MS (Gaschromatographie-Massenspektrometrie) im SIM-Modus (Selektives Ionenmonitoring), wie durch Herrn Professor Lütjohan und andere bereits beschrieben [105, 107]. Abbildung 3 beschreibt den Präanalytischen Prozess.

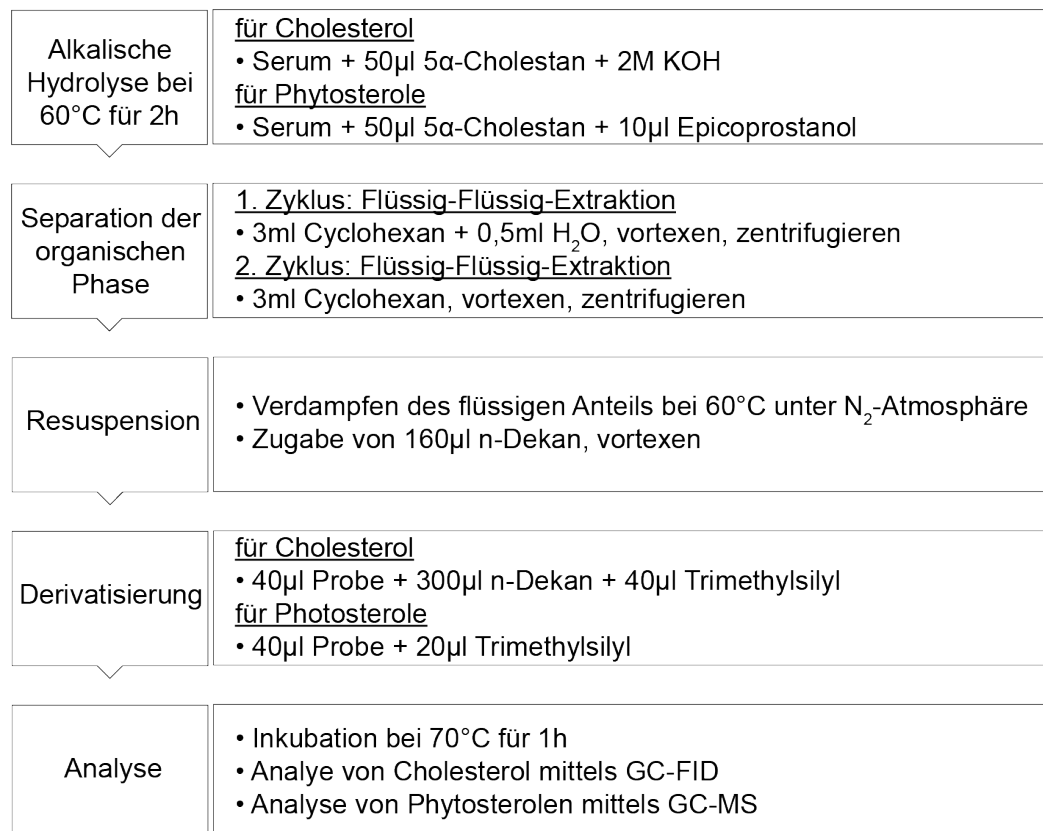


Abbildung 3: Extraktion von Cholesterol und Phytosterolen aus Serumaliquots. KOH: Kaliumhydroxid

2.6 Statistik

Die Auswertung der ermittelten Parameter und klinischen Daten erfolgte mit der Statistiksoftware GraphPad Prism 8 (San Diego, USA). Die klinischen Daten wurden als Mittelwert und 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes präsentiert. Ein p-Wert durch den Student's t-Test mit $p < 0,05$ wurde als signifikant angenommen. Die

laborchemischen Daten wurden unter der Annahme einer nicht-parametrischen Verteilung mittels Mann-Whitney-U-Test sowie des Kruskal-Wallis-Test in Kombination mit dem Dunn's-Test analysiert. Die Korrelationsanalysen erfolgten mit dem Spearman's Rang-Summen Test.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte ebenfalls mit Hilfe von GraphPad Prism 8.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Studiengruppen

Die klinischen Merkmale und Lipidkonzentrationen von Müttern und Neugeborenen der im Folgenden untersuchten CTRL und IUGR-Gruppen wurden in Tabelle 3 zusammengefasst.

Hinsichtlich des maternalen Alters, der Größe und des Gewichtes sowie des maternalen BMI vor der Schwangerschaft konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der CTRL- und der IUGR-Gruppe festgestellt werden.

Ein signifikanter Unterschied zeichnete sich in der Anzahl der maternalen Geburten ab. Die IUGR-Gruppe hatte knapp 35 % weniger Geburten als die CTRL-Gruppe.

Für den maternalen Rauchstatus vor und während der Schwangerschaft konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden. Dabei gab es jedoch die Tendenz, dass in der IUGR-Gruppe im Schnitt mehr Frauen vor der Schwangerschaft (45 %) und während der Schwangerschaft (37,5 %) Nikotin konsumiert hatten als in der CTRL-Gruppe (Rauchstatus vor Schwangerschaft: 40 %, Rauchstatus in der Schwangerschaft: 20 %).

Ein Ausschlusskriterium für die CTRL-Gruppe war ein maternaler Hypertonus, sodass sich hier zwischen der CTRL- und der IUGR-Gruppe ein signifikanter Unterschied ergab. In der CTRL-Gruppe wurde ein durchschnittlicher systolischer Blutdruck von 117,1 mmHg und ein diastolischer Blutdruck von 67,35 mmHg festgestellt. Die Mütter der IUGR-Gruppe zeigten einen durchschnittlichen systolischen Blutdruck von 127,4 mmHg und einen diastolischen Blutdruck von 74,6 mmHg. Die Unterschiede ergaben sich durch einen in der IUGR-Gruppe auftretenden Bluthochdruck definiert als einen wiederholt gemessenen systolischen Blutdruck ≥ 140 mmHg und/oder einen diastolischen Blutdruck ≥ 90 mmHg in der Schwangerschaft bei 22,5 % der Frauen (Tabelle 3).

Tabelle 3: Klinische Merkmale und Lipidkonzentrationen bei Müttern und Neugeborenen. Darstellung von klinischen Merkmalen und Lipidkonzentrationen bei Müttern bzw. Neugeborenen der CTRL und der IUGR-Gruppe. SS: Schwangerschaft

	CTRL			IUGR			p-Wert
	n	MW/%	95 % CI	n	MW/%	95 % CI	
maternales Alter (a)	40	32,53	30,69-34,73	40	29,95	27,82-32,07	0,124
maternale Größe (m)	40	1,66	1,64-1,68	40	1,65	1,64-1,67	0,797
maternales Gewicht vor SS (kg)	40	63,13	59,74-66,51	40	66,5	61,9-71,7	0,361
maternaler BMI vor SS (kg/m ²)	40	22,85	21,69-24,01	40	24,18	22,78-25,57	0,176
maternale Geburtenzahl	40	1,25	0,84-1,66	40	0,8	0,37-1,23	0,013
maternaler Rauchstatus (%)	40	20	7,04-32,96	40	37,5	21,82-53,18	0,137
maternaler Rauchstatus vor SS (%)	40	40	24,13-55,87	40	45	28,89-61,11	0,821
maternaler systolischer Blutdruck (mmHg)	40	117,1	113,9-120,3	40	127,4	121,1-133,8	0,0009
maternaler diastolischer Blutdruck (mmHg)	40	67,35	64,62-70,08	40	74,6	70,64-78,56	0,0034
Hypertonie während SS (%)	40	0	0,0-0,0	40	22,5	8,98-36,03	0,0024
Gestationsalter bei Einschluss (SSW)	40	33,8	32,37-35,23	40	32,95	31,6-34,33	0,3414
Gestationsalter bei Entbindung (SSW)	40	34,21	32,89-35,52	40	33,96	32,68-35,25	0,7832
neonatales Geschlecht (% weiblich)	40	52,5	36,33-68,67	40	52,5	36,33-68,67	>0,999
neonatales Geburtsgewicht (g)	40	2304	2023-2585	40	1531	1326-1735	<0,0001
neonatale Gewichtsperzentile (populationsbasiert)	40	41,78	35,89-47,66	40	3,95	3,05-4,85	<0,0001
neonatale Gewichtsperzentile (angepasst)	37	39,52	31,28-47,77	40	0,85	0,11-1,60	<0,0001
maternales LDL-Cholesterol (mg/dL)	37	158,5	145,4-171,5	40	134,2	118,7-149,7	0,0096
maternales HDL-Cholesterol (mg/dL)	37	75,32	69,3-81,35	40	72,9	67,55-78,25	0,5750
maternales Gesamtcholesterol (mg/dL)	37	274	256,8-291,3	40	246	226,9-265	0,0232
maternale Triglyceride (mg/dL)	40	241,5	212,1-270,9	40	225,2	188-262,4	0,3840
fetales LDL-Cholesterol (mg/dL)	40	29,13	23,87-34,38	40	20,03	15,8-24,25	0,0032
fetales HDL-Cholesterol (mg/dL)	40	31,08	28,64-33,51	40	15,7	13,34-18,06	<0,0001

fetales Gesamt-cholesterol (mg/dL)	40	70,48	63,88-77,07	40	50,08	44,4-55,75	<0,0001
fetale Triglyceride (mg/dL)	40	20,75	16,92-24,58	40	45,4	35,87-54,93	<0,0001

Das Gestationsalter bei Einschluss und Entbindung zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen der CTRL (Gestationsalter bei Einschluss: 33,8 SSW, Gestationsalter bei Entbindung: 34,21) und der IUGR-Gruppe (Gestationsalter bei Einschluss: 32,95 SSW, Gestationsalter bei Entbindung: 33,96). Der prozentuale Anteil an weiblichen Neugeborenen war in beiden untersuchten Gruppen mit 52,5 % identisch.

Signifikante Unterschiede wurden hinsichtlich des Gewichtes der Neugeborenen festgestellt. So lag das durchschnittliche Gewicht in der CTRL-Gruppe bei 2304 g, die mittlere populationsbasierte Gewichtsperzentile bei 41,8 und die angepasste Gewichtsperzentile bei 39,5. Bei der IUGR-Gruppe lag das durchschnittliche Gewicht der Neugeborenen bei 1531g, die mittlere populationsbasierte Gewichtsperzentile bei 3,95 und die angepasste Gewichtsperzentile bei 0,85 und somit 35 % unter dem der CTRL-Gruppe.

Die Analysen der Lipidkonzentrationen ergaben signifikante Unterschiede im Hinblick auf die maternalen Cholesterolverte. Das maternale Gesamtcholesterol (TC) der IUGR-Gruppe war im Vergleich zur CTRL-Gruppe um 10 % erniedrigt. Ebenfalls mit 15 % signifikant erniedrigt war die LDL-Fraktion in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe. Kein Unterschied konnte hingegen in der HDL-Cholesterolfraktion festgestellt werden.

Die Analyse des fetalen Gesamtcholesteroles zeigte in der IUGR-Gruppe ebenfalls eine signifikante Reduktion um 30 % im Vergleich zur CTRL-Gruppe. Auch das fetale LDL-Cholesterol (Reduktion um 30 %) und das HDL-Cholesterol (Reduktion um 50 %) waren in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe signifikant erniedrigt. Auf der anderen Seite konnte eine Erhöhung um 45 % bei den fetalen Triglyceriden in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe festgestellt werden (Tabelle 3).

3.2 Fetale Phytosterole

Die Analyse der Cholesterolkonzentration im venösen Nabelschnurblut ergab eine signifikant um 16 % reduzierte Cholesterolkonzentration in der IUGR-Gruppe (Median: 53,85 mg/dL) im Vergleich zur CTRL-Gruppe (Median: 73,21 mg/dL)

(Abbildung 4A). Alle vier analysierten Phytosterole zeigten im Vergleich zu Cholesterol erheblich niedrigere Konzentrationen im Nabelschnurblut der Neugeborenen. Während die Cholesterolkonzentration in der CTRL-Gruppe im Schnitt bei 73 mg/dL lag, zeigten die Phytosterole Konzentrationen im Bereich von 0,003 mg/dL – 0,04 mg/dL.

Bei der Analyse der Phytosterolkonzentrationen im venösen Nabelschnurblut der CTRL- und IUGR-Gruppe konnte nur für Stigmasterol eine signifikante Reduktion um 22 % in der IUGR-Gruppe (Median: 4,452 µg/dL) im Vergleich zur CTRL-Gruppe (Median: 5,668 µg/dL) festgestellt werden, wohingegen keine Unterschiede für Campesterol, Sitosterol und Brassicasterol gemessen werden konnten (Abbildung 4B-D).

Wurden die einzelnen Phytosterolkonzentrationen ins Verhältnis zum Gesamtcholesterol (TC) gesetzt, ergab sich für den Campesterol/TC-Quotienten (Abbildung 5A) und den Brassicasterol/TC-Quotienten (Abbildung 5D) eine signifikante Erhöhung in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe (Campesterol/TC: 16 %; Brassicasterol/TC-Quotient: 20 %). Es konnten hingegen keine Unterschiede zwischen der IUGR-Gruppe und der CTRL-Gruppe beobachtet werden, wenn der Stigmasterol/TC-Quotient (Abbildung 5B) bzw. der Sitosterol/TC-Quotient (Abbildung 5C) gebildet wurde.

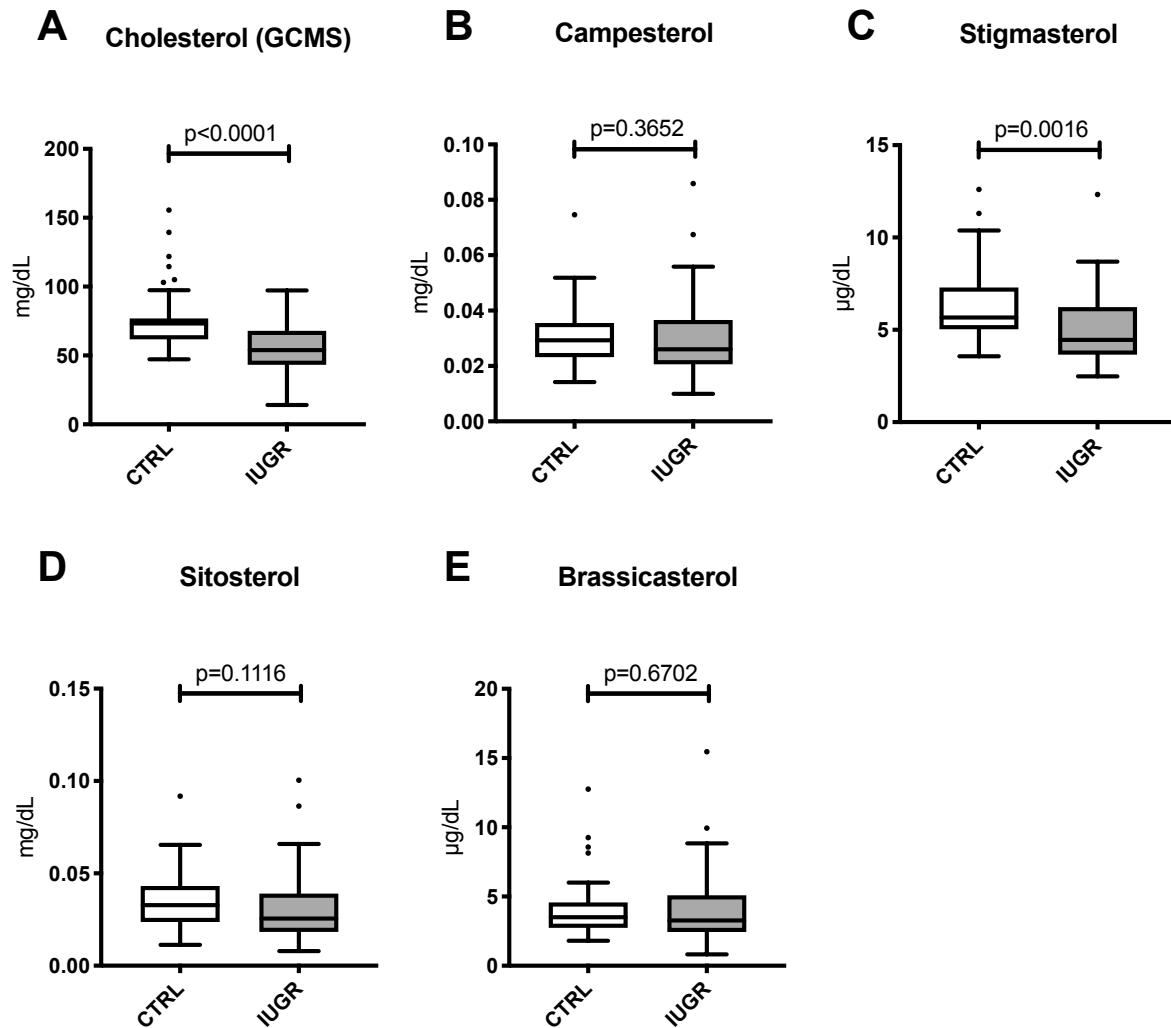


Abbildung 4: Konzentrationen fetaler Phytosterole im Gruppenvergleich. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Konzentrationen von A: Cholesterol, B: Campesterol, C: Stigmasterol, D: Sitosterol und E: Brassicasterol der Kontrollgruppe (CTRL) im Vergleich zur IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktions-Gruppe). Ermittlung des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ) mittels Mann-Whitney-U-Test.

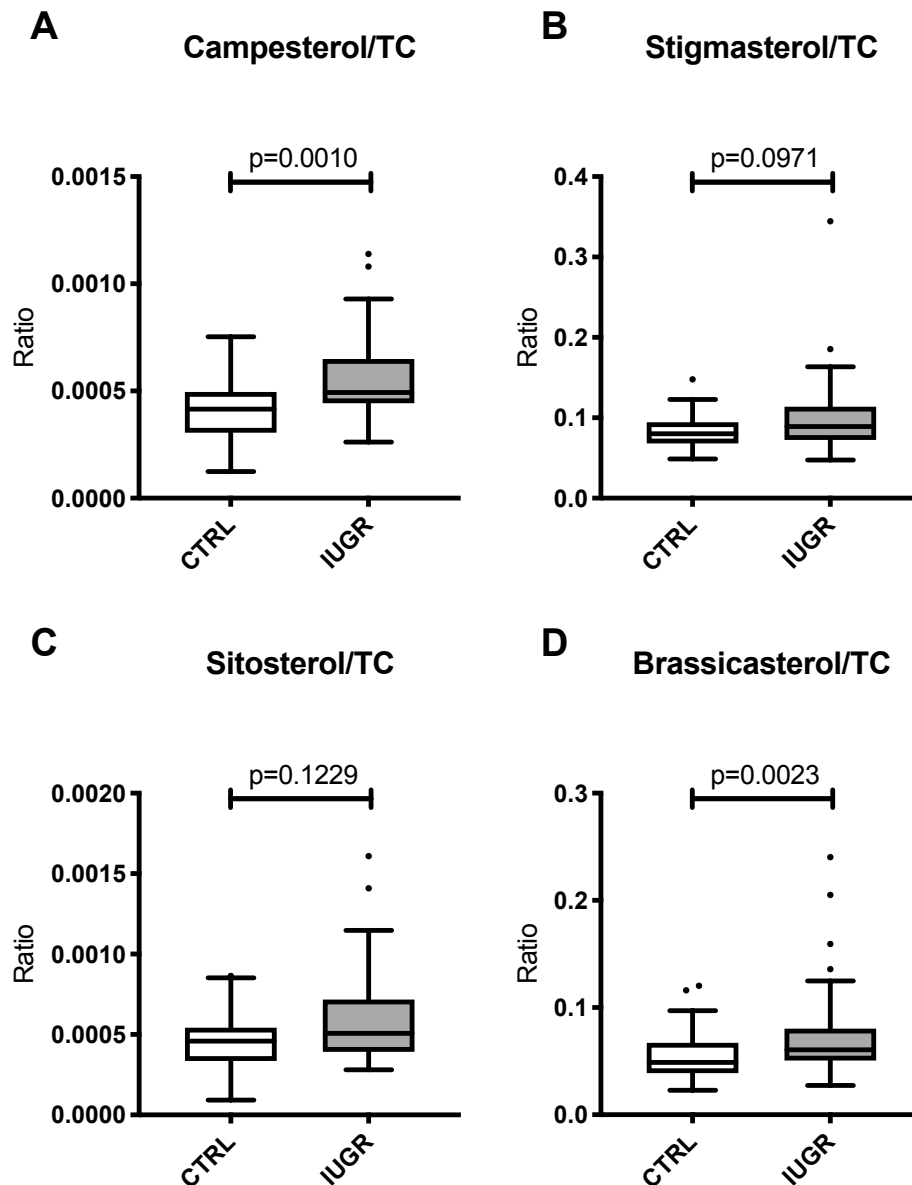


Abbildung 5: Konzentrationen der fetalen Phytosterole im Verhältnis zum Gesamtcholesterol (TC) im Gruppenvergleich. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Quotienten aus A: Campesterol/TC, B: Stigmasterol/TC, C: Sitosterol/TC und D: Brassicasterol/TC der Kontrollgruppe (CTRL) im Vergleich zur IUGR (Intrauterine Wachstumsrestriktions-Gruppe). Ermittlung des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ) mittels Mann-Whitney-U-Test.

3.3 Analyse geschlechtsspezifischer Unterschiede fetaler Phytosterole

Für die Analyse geschlechtsspezifischer Unterschiede fetaler Cholesterol- und Phytosterolkonzentrationen wurden die CTRL und die IUGR-Gruppe in männliche (m) und weibliche (w) Subgruppen aufgeteilt (Abbildung 6).

Sowohl das venöse Nabelschnurblut der männlichen als auch das der weiblichen Neugeborenen zeigte eine signifikante Reduktion des Gesamtcholesterols in den IUGR-Gruppen im Vergleich zu den CTRL-Gruppen (Abbildung 6A). So zeigten die männlichen Neugeborenen in der IUGR-Gruppe eine Reduktion um durchschnittlich 30 % im Vergleich zur CTRL-Gruppe, die weiblichen Neugeborenen eine Reduktion um durchschnittlich 24 %.

Die Analyse der Phytosterole zeigte eine signifikante Reduktion des Stigmasterols im venösen Nabelschnurblut der männlichen (23 %), nicht aber der weiblichen (8 %) Neugeborenen in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe (Abbildung 6C). Für die Phytosterole Campesterol (Abbildung 6B), Sitosterol (Abbildung 6D) und Brassicasterol (Abbildung 6E) konnten keine Unterschiede zwischen den beiden Studiengruppen in Bezug auf das Geschlecht festgestellt werden.

Ein Vergleich der Geschlechter innerhalb der beiden Studiengruppen zeigte weder für das Cholesterol noch für die analysierten Phytosterole einen signifikanten Unterschied.

Wurden die einzelnen Phytosterolkonzentrationen ins Verhältnis zum Gesamtcholesterol (TC) gesetzt, ergab sich für den Campesterol/TC-Quotienten (Abbildung 7A) eine signifikante Erhöhung um durchschnittlich 30 % bei den männlichen Neugeborenen in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe. Bei den weiblichen Neugeborenen war ebenfalls eine Erhöhung zu verzeichnen, jedoch war diese nicht signifikant.

Für den Stigmasterol/TC-Quotienten (Abbildung 7B) und den Sitosterol/TC-Quotienten (Abbildung 7C) ergeben sich weder bei den männlichen noch bei den weiblichen Neugeborenen signifikante Unterschiede zwischen den IUGR- und den CTRL-Gruppen, obwohl auch hier eine leicht erhöhte Ratio nachgewiesen werden konnte.

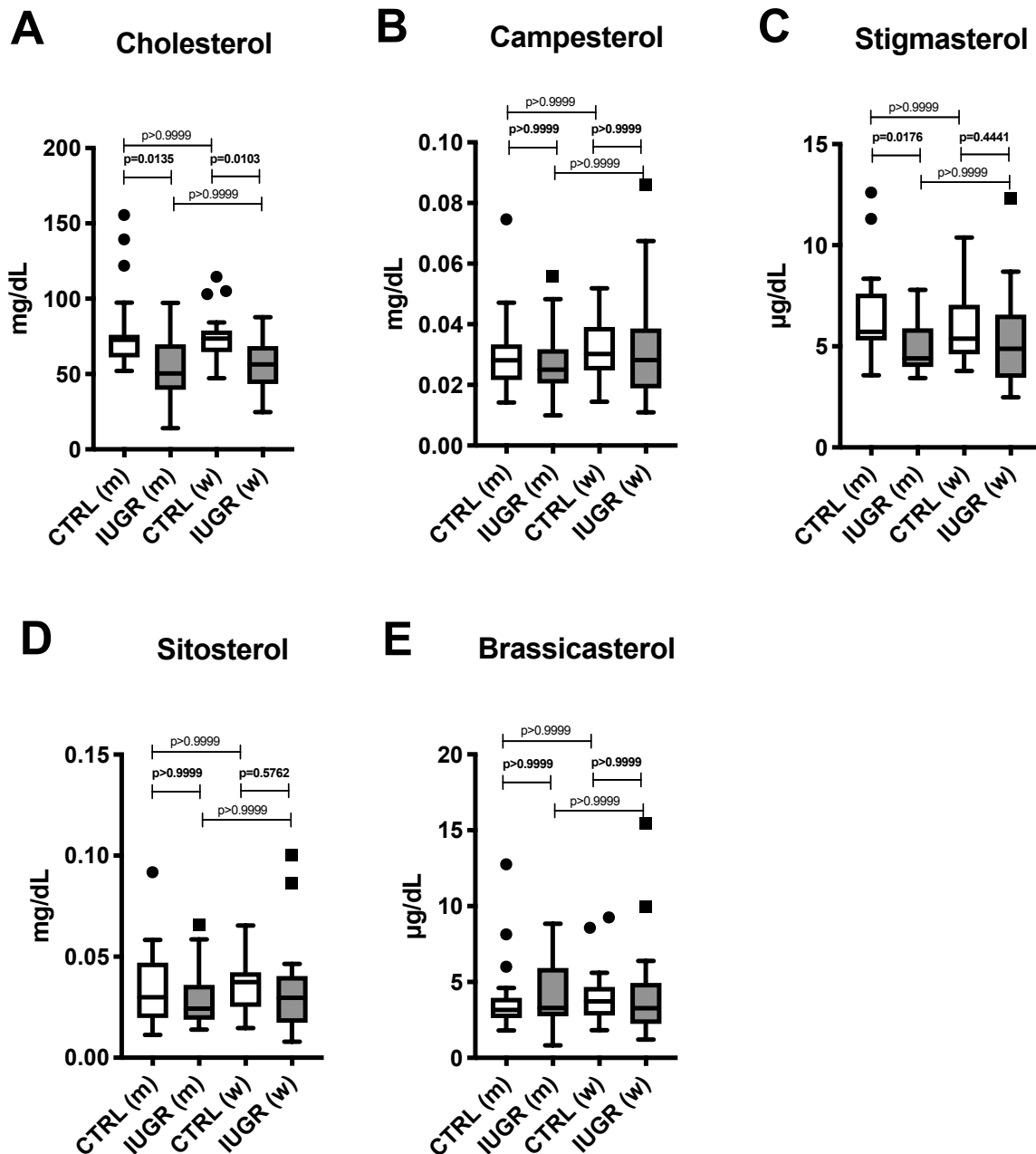


Abbildung 6: Geschlechtsspezifische Analyse fetaler Phytosterole. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Konzentrationen von A: Gesamtcholesterol, B: Campesterol, C: Stigmasterol, D: Sitosterol und E: Brassicasterol der Kontrollgruppe (CTRL) verglichen mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion) aufgeteilt nach männlichen (m) und weiblichen (w) Neugeborenen. Ermittlung des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ) mittels Kruskal-Wallis-Test.

Bei den männlichen Neugeborenen konnte im Vergleich zur CTRL-Gruppe beim Brassicasterol/TC-Quotienten (Abbildung 7D) sowie beim Campesterol/TC-Quotienten in der IUGR-Gruppe eine signifikante Erhöhung um durchschnittlich 29 %

festgestellt werden. Keinen Unterschied gab es hingegen wieder bei den weiblichen Neugeborenen.

Bei keinem der analysierten Phytosterole, die ins Verhältnis zum Gesamtcholesterol gesetzt wurden, ergab sich ein signifikanter Unterschied beim Vergleich der männlichen mit den weiblichen Neugeborenen innerhalb der IUGR-Gruppe bzw. der CTRL-Gruppe.

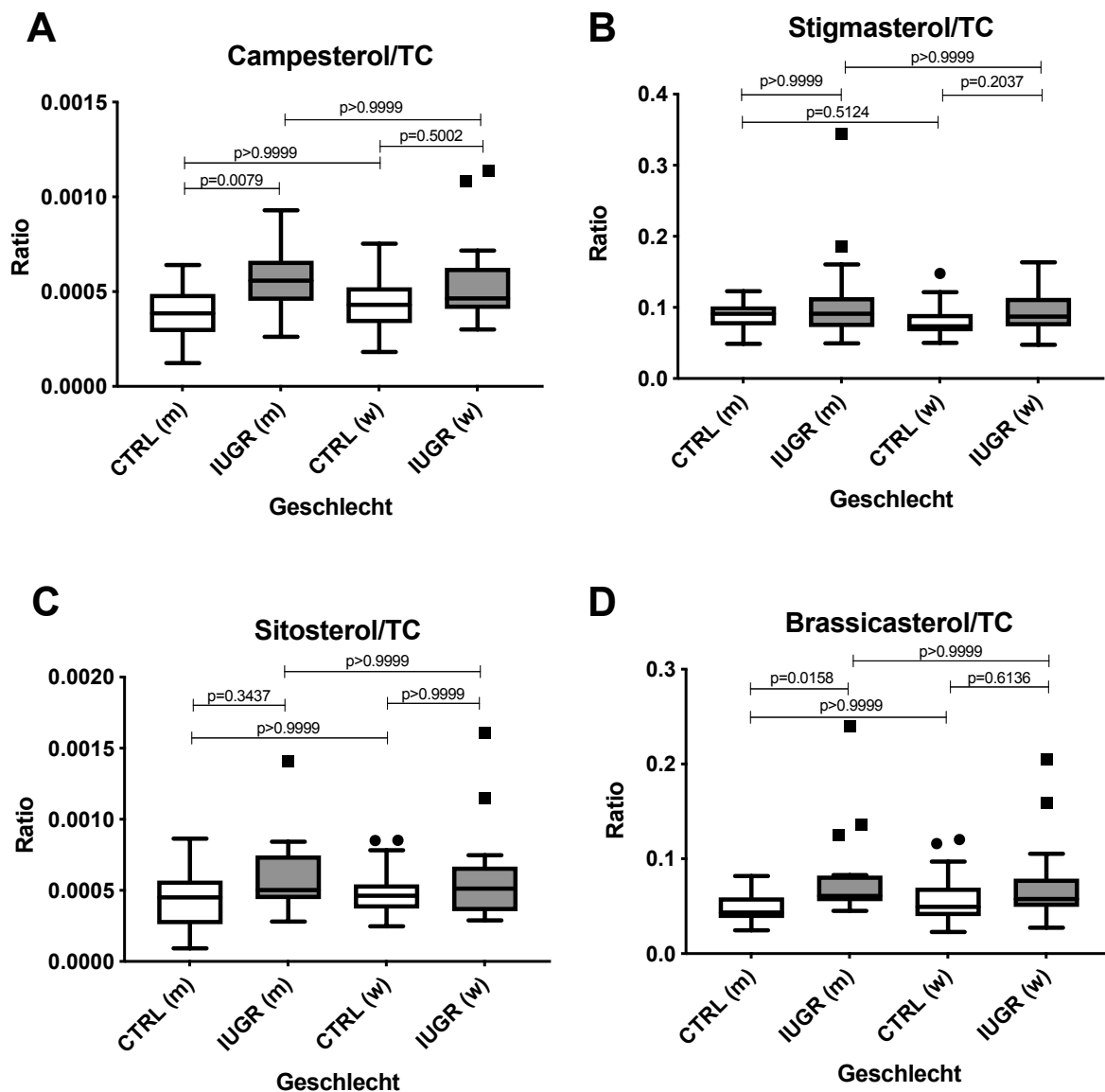


Abbildung 7: Geschlechtsspezifische Analyse fetaler Phytosterole im Verhältnis zum Gesamtcholesterol. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Quotienten aus A: Campesterol/Gesamtcholesterols (TC), B: Stigmasterol/TC, C: Sitosterol/TC und D: Brassicasterol/TC der Kontrollgruppe (CTRL) verglichen mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion) aufgeteilt nach männlichen (m) und weiblichen (w) Neugeborenen. Ermittlung des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ) mittels Kruskal-Wallis-Test.

3.4 Einfluss der Schwangerschaftswoche nach Entbindung auf die Phytosterolkonzentration der Neugeborenen

Um die Schwangerschaftswoche (SSW) bei Geburt als Einflussfaktor auf die Cholesterol- und Phytosterolkonzentration des Neugeborenen zu untersuchen, wurden die CTRL- und IUGR-Gruppen folgendermaßen unterteilt: Entbindung < 34+0 SSW (early onset IUGR) und ab 34+0 SSW (late onset IUGR).

Die Gesamtcholesterolkonzentration war sowohl bei Neugeborenen der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe der early onset Studiengruppe (18 %) als auch der late onset Studiengruppe (26 %) signifikant erniedrigt. Ein stärkerer Unterschied hingegen bestand zwischen der IUGR-Gruppe und der CTRL-Gruppe, wenn die Entbindung nach 34 SSW erfolgte (Abbildung 8A). Ein Vergleich innerhalb der CTRL-Gruppen zeigte, dass später entbundene Kinder eine im Durchschnitt um 11 % niedrigere Cholesterolkonzentration aufwiesen im Vergleich zu den vor 34 SSW geborenen Neugeborenen. Diese Erniedrigung war jedoch nicht signifikant. Ebenso zeigte sich beim Vergleich der IUGR-Gruppen untereinander eine Abnahme der Cholesterolkonzentration von durchschnittlich 20 %, wenn die Kinder nach 34 SSW geboren wurden.

Für die gemessenen Phytosterole Campesterol (Abbildung 8B), Stigmasterol (Abbildung 8C), Sitosterol (Abbildung 8D) und Brassicasterol (Abbildung 8E) ergaben sich hinsichtlich der Schwangerschaftswoche bei Geburt keine signifikanten Unterschiede in der Konzentration beim Vergleich der IUGR-Gruppe mit der CTRL-Gruppe bzw. beim Vergleich der IUGR-Gruppen/CTRL-Gruppen untereinander. Jedoch war beim Stigmasterol eine ähnliche Tendenz wie beim Cholesterol zu erkennen. Die Stigmasterolkonzentration war im Durchschnitt bei den IUGR-Gruppen geringer im Vergleich zur jeweiligen CTRL-Gruppe. Ebenso zeigten die Neugeborenen, die nach 34 SSW geboren wurden, tendenziell eine niedrigere Stigmasterolkonzentration (CTRL vor 34 SSW vs. CTRL nach 34 SSW und IUGR vor 34 SSW vs. IUGR nach 34 SSW).

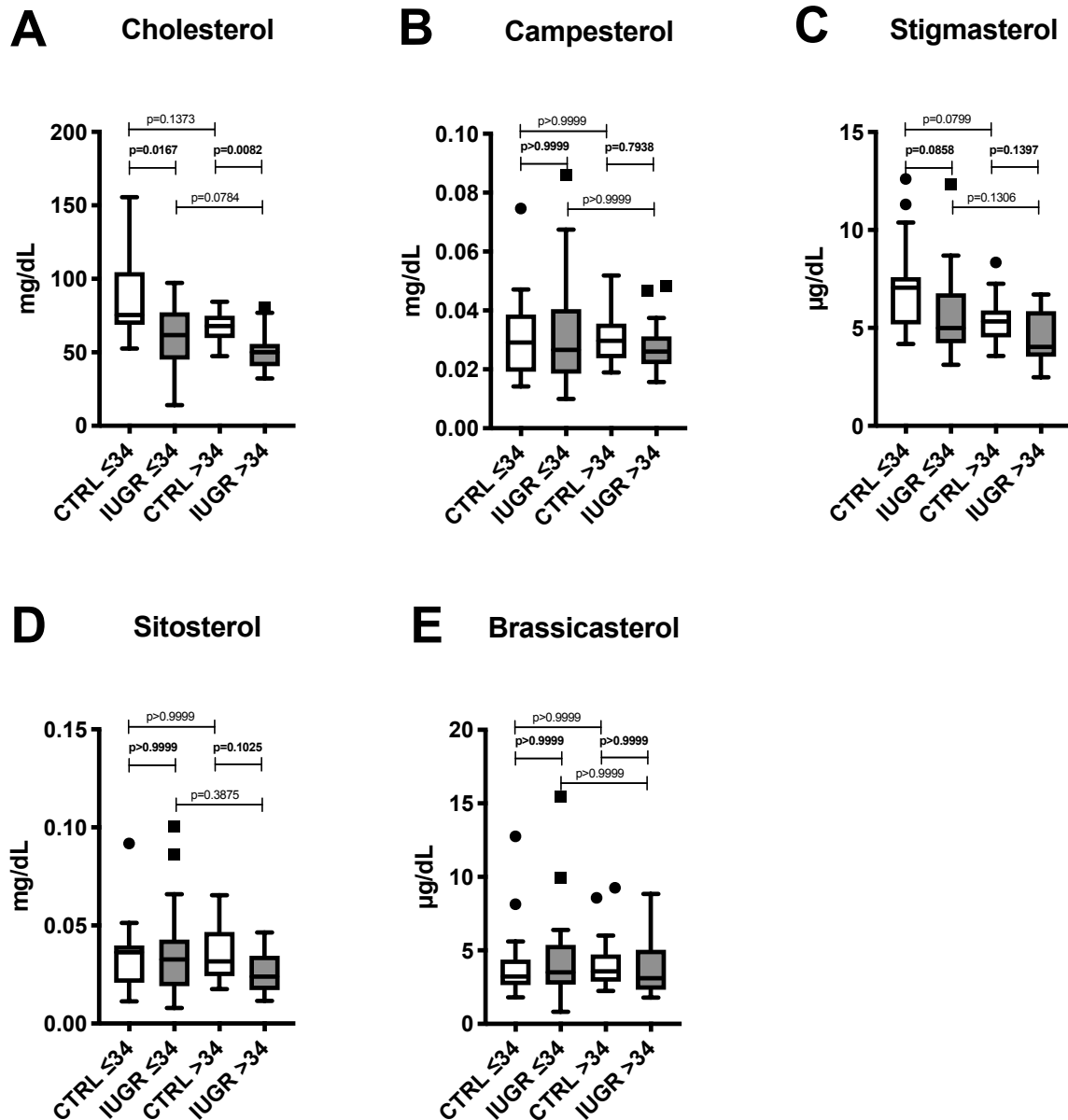


Abbildung 8: Einfluss der Schwangerschaftswoche (SSW) nach Entbindung auf die Phytosterolkonzentrationen der Neugeborenen. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Konzentration von A: Gesamtcholesterol, B: Campesterol, C: Stigmasterol, D: Sitosterol und E: Brassicasterol der Kontroll-Gruppe (CTRL) verglichen mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion) aufgeteilt nach Schwangerschaftswoche bei Entbindung (vor 34 SSW und nach 34 SSW). Ermittlung des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ) mittels Kruskal-Wallis-Test.

Wurden die einzelnen Phytosterolkonzentrationen ins Verhältnis zum Gesamtcholesterol (TC) gesetzt, war der Campesterol/TC-Quotient von Neugeborenen nach 34 SSW signifikant im Durchschnitt um 25 % erhöht im Vergleich zur CTRL-Gruppe von Neugeborenen vor 34 SSW (Abbildung 9A). Neugeborene der

IUGR-Gruppe, die vor 34 SSW geboren wurden, zeigten einen um ca. 18 % signifikant erhöhten Campesterol/TC-Quotienten im Vergleich zur entsprechenden CTRL-Gruppe. Wurden die Kinder nach 34 SSW geboren, konnte kein Unterschied zwischen der IUGR-Gruppe und der CTRL-Gruppe festgestellt werden.

Für den Stigmasterol/TC-Quotienten ergaben sich hinsichtlich der Schwangerschaftswoche nach Entbindung keine Unterschiede, weder beim Vergleich der CTRL-Gruppen bzw. IUGR-Gruppen untereinander noch beim Vergleich der CTRL-Gruppe mit der IUGR-Gruppe bei Neugeborenen, die vor oder während 34 SSW oder danach geboren wurden (Abbildung 9B).

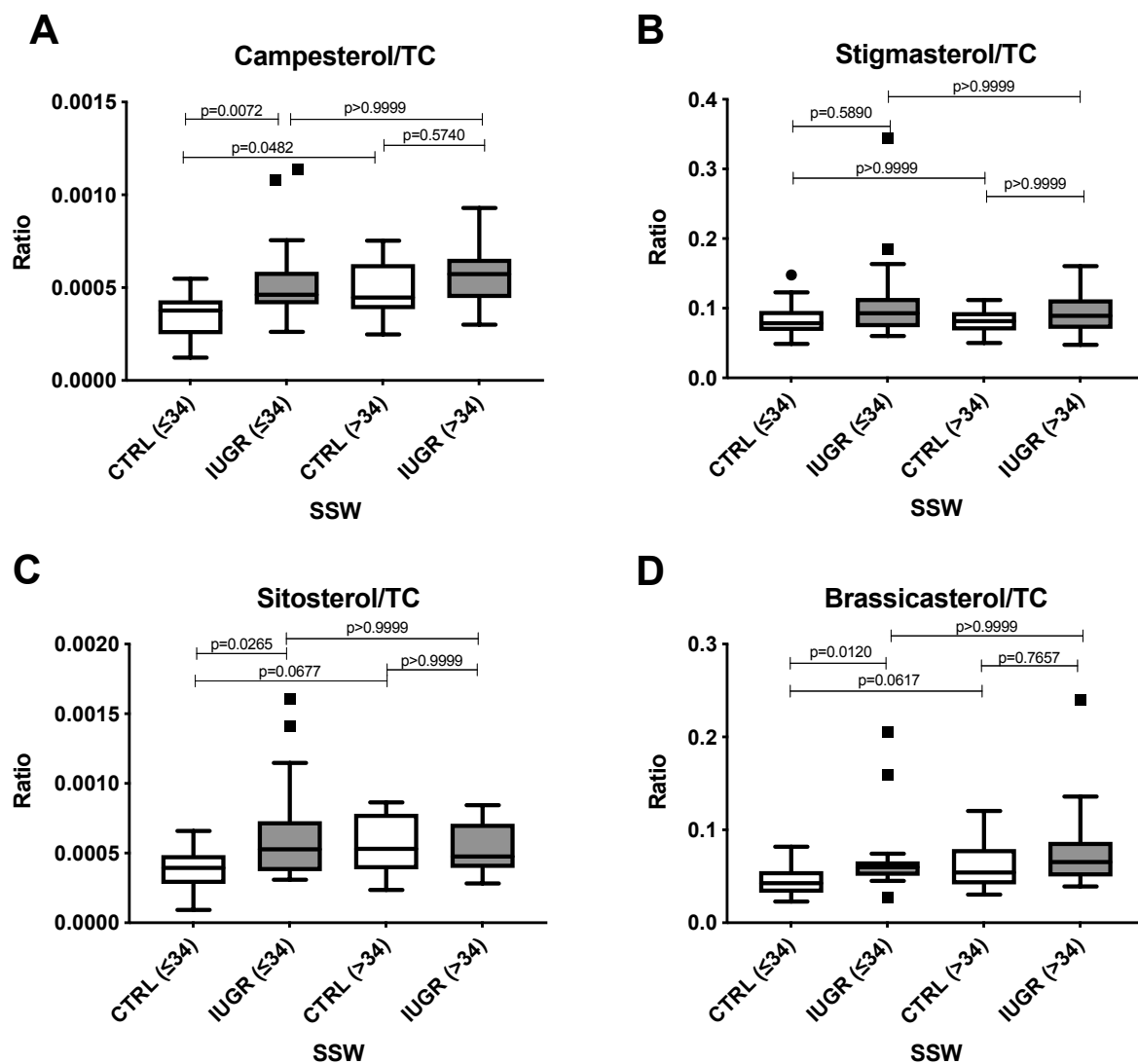


Abbildung 9: Einfluss der Schwangerschaftswoche (SSW) nach Entbindung der Neugeborenen auf die Phytosterolkonzentrationen im Verhältnis zur Gesamtcholesterolkonzentration. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Quotienten aus

A: Campesterol/Gesamtcholesterol (TC), B: Stigmasterol/TC, C: Sitosterol/TC und D: Brassicasterol/TC der Kontrollgruppe (CTRL) verglichen mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion) aufgeteilt Schwangerschaftswoche nach Entbindung der Neugeborenen (vor 34 SSW und nach 34 SSW). Ermittlung des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ) mittels Kruskal-Wallis-Test.

Signifikante Unterschiede hingegen ergaben sich bei der Analyse des Sitosterol/TC-Quotienten (Abbildung 9C) und des Brassicasterol/TC-Quotienten (Abbildung 9D) beim Vergleich der CTRL-Gruppe mit der IUGR-Gruppe von Neugeborenen, die vor 34 SSW geboren wurden. Die IUGR-Gruppen zeigten hier einen erhöhten Sitosterol/TC-Quotienten (im Schnitt 25 %) bzw. Brassicasterol/TC-Quotienten (im Schnitt 29 %). Ein Vergleich der CTRL-Gruppen untereinander zeigte bei beiden analysierten Phytosterolen keinen signifikanten Unterschied, wie es zuvor bei dem Campesterol/TC-Quotienten (Abbildung 9A) der Fall war.

3.5 Einfluss des maternalen Rauchstatus auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen

Zur Untersuchung des Einflusses des maternalen Rauchstatus auf die Cholesterol- und Phytosterolkonzentrationen der Neugeborenen wurde der Einfluss von Rauchen als Störfaktor mittels Residualanalyse herausgerechnet. Dabei konnte eine signifikante Reduktion der Cholesterolkonzentration (Abbildung 10A) und Stigmasterolkonzentration (Abbildung 10C) in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe festgestellt werden. Keine Unterschiede gab es hingegen bei der Campesterolkonzentration (Abbildung 10B), Sitosterolkonzentration (Abbildung 10D) und Brassicasterolkonzentration (Abbildung 10E).

3.6 Einfluss weiterer potenzieller Störfaktoren auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen

Wurden zusätzlich zum maternalen Rauchen weitere potenzielle Störfaktoren wie das Gestationsalter bei Geburt, das fetale Geschlecht, die Parität und der maternale BMI mittels Residualanalyse herausgerechnet, blieb eine signifikante Reduktion der Gesamtcholesterolkonzentration (Abbildung 11A) und Stigmasterolkonzentration (Abbildung 11C) in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe bestehen. Keine Unterschiede gab es hingegen erneut für die Campesterolkonzentration (Abbildung 11B), Sitosterolkonzentration (Abbildung 11D) und Brassicasterolkonzentration (Abbildung 11E).

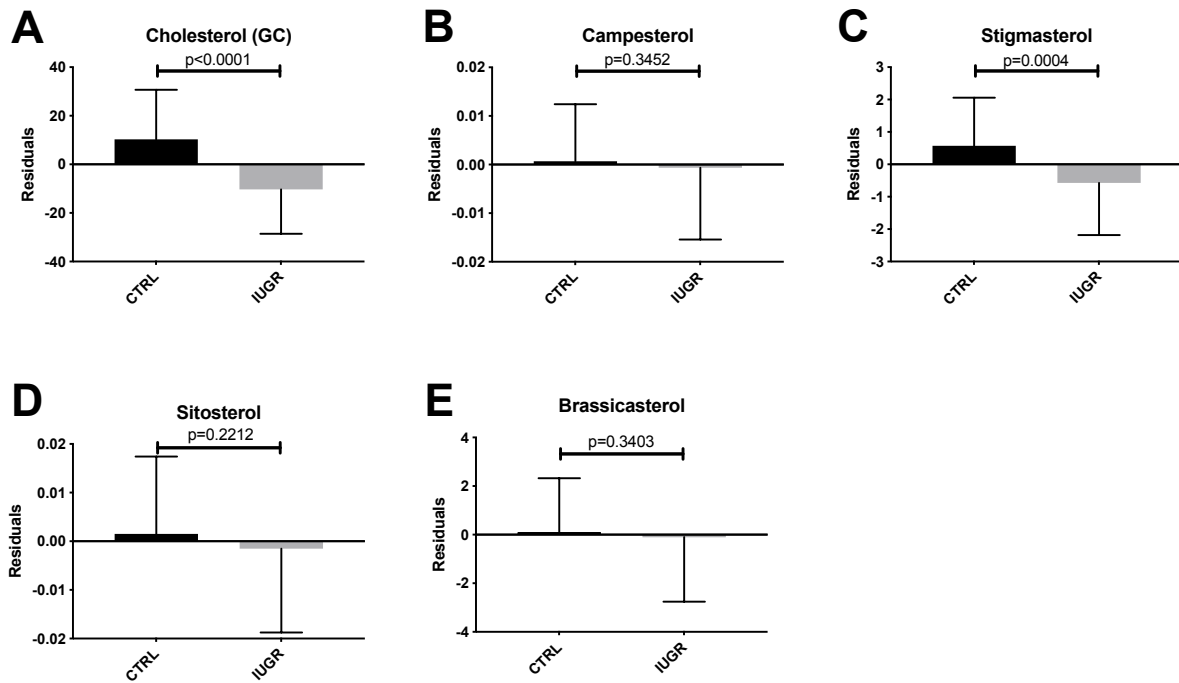


Abbildung 10: Einfluss des maternalen Rauchstatus auf die Phytosterolkonzentrationen von Neugeborenen. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Residualanalyse für den maternalen Rauchstatus von A: Gesamtcholesterol, B: Campesterol, C: Stigmasterol, D: Sitosterol und E: Brassicasterol der Kontroll-Gruppe (CTRL) verglichen mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion). Angabe des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient rho).

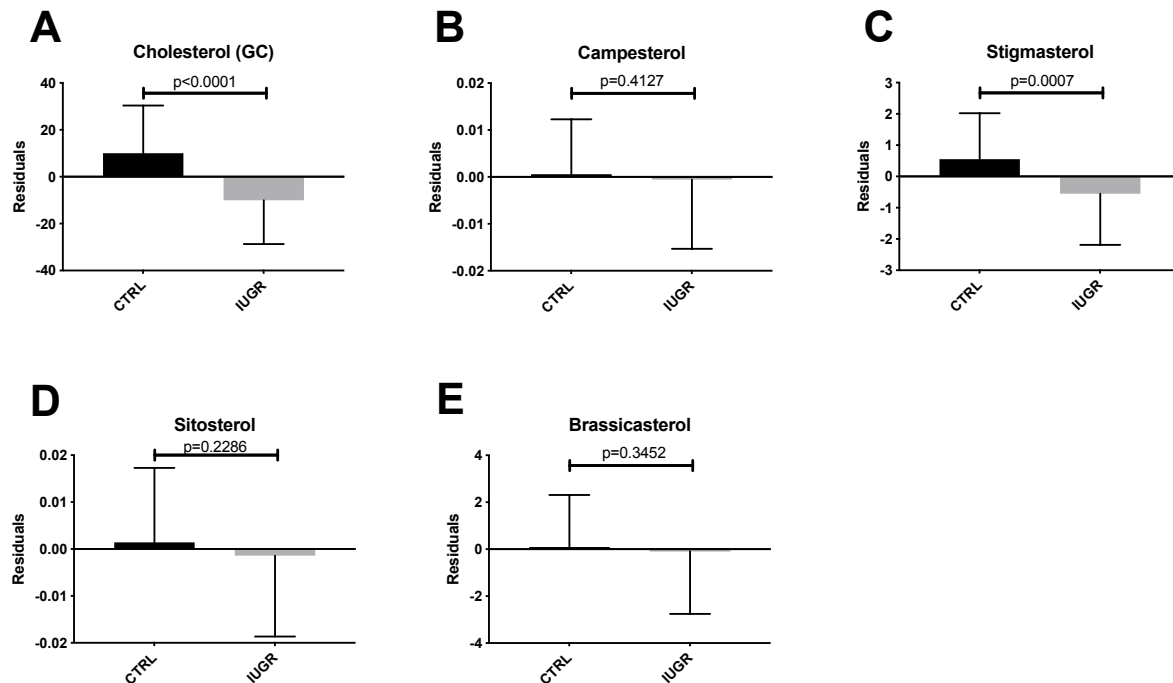


Abbildung 11: Residualanalyse für bekannte Konfunder der Phytosterole von Neugeborenen. Box-Whisker-Plot-Darstellung der Residualanalyse von A: Gesamtcholesterol, B: Campesterol, C: Stigmasterol, D: Sitosterol und E: Brassicasterol der Kontroll-Gruppe (CTRL) verglichen mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion) mit Angabe des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ); es erfolgten multiple Residualanalysen für Rauchen, Gestationsalter bei Geburt, fetales Geschlecht, Parität und maternaler BMI.

3.7 Veränderung des Phytosterolkonzentration im Schwangerschaftsverlauf

Für die Darstellung der Cholesterol- und Phytosterolkonzentration in Abhängigkeit vom Gestationsalter bei Entbindung wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt.

Die Cholesterolkonzentration im venösen Nabelschnurblut von IUGR-Neugeborenen war im Vergleich zur CTRL-Gruppe besonders ab 24 SSW verringert (Durchschnitt: 59 mg/dL) und nahm nur geringfügig zur 42. SSW hin ab (Durchschnitt: 50 mg/dL) (Abbildung 12A). Die Cholesterolkonzentration der Neugeborenen aus der CTRL-Gruppe war besonders vor 34 SSW hoch (Mittelwert: 85 mg/dL) und nahm zur 42. SSW hin ab (Mittelwert: 65 mg/dL), sodass die mittleren Cholesterolkonzentrationen der CTRL- und IUGR-Gruppe um die 42. SSW nur noch geringe Unterschiede aufwiesen.

Für die Phytosterole Campesterol (im Schnitt 0,03 mg/dL) (Abbildung 12B), Sitosterol (im Schnitt 0,035 mg/dL) (Abbildung 12D) und Brassicasterol (im Schnitt 4,0 μ g/dL)

(Abbildung 12E) zeigten sich keine Veränderungen in der Konzentration bei der CTRL-Gruppe im Verlauf der Schwangerschaft. In der IUGR-Gruppe konnte jeweils ein leichter Abfall der Konzentration im Schwangerschaftsverlauf festgestellt werden, wobei die Anfangskonzentration im Vergleich zur CTRL-Gruppe leicht höher ausfiel. Nach 34 SSW waren die Phytosterolkonzentrationen für diese drei Phytosterole etwas geringer im Vergleich zur CTRL-Gruppe.

Stigmasterol (Abbildung 12C) zeigte im Verlauf der Schwangerschaft hingegen eine etwas höhere Konzentration in der CTRL-Gruppe im Vergleich zur IUGR-Gruppe. In beiden Gruppen nahm die Konzentration im weiteren Verlauf ab und erreichte zur 42. SSW hin ein ähnliches Niveau von ca. 4,5 µg/dL.

Wurden die Phytosterolkonzentrationen im Verhältnis zum Gesamtcholesterol (TC) analysiert und die Regressionsanalyse durchgeführt, ergab sich für den Campesterol/TC-Quotienten (Abbildung 13A) mit steigendem Gestationsalter in der IUGR-Gruppe eine höhere Ausgangskonzentration mit geringem Abfall. Hingegen war bei der CTRL-Gruppe eine geringe Ratio in einer frühen Schwangerschaftswoche zu beobachten, während hier die Ratio im Schwangerschaftsverlauf anstieg und so ein ähnliches Niveau zur 42. SSW erreichte, wie die in der IUGR-Gruppe. Eine ähnliche Regressionsanalyse ergab sich für den Sitosterol/TC-Quotienten (Abbildung 13C) und dem Brassicasterol/TC-Quotienten (Abbildung 13D).

Bei der Regressionsanalyse des Stigmasterol/TC-Quotienten, war die Ratio der CTRL-Gruppe über den Schwangerschaftsverlauf nahezu konstant, während die Ratio der IUGR-Gruppe im Verlauf sank und zur 38. SSW hin ein ähnliches Niveau wie die CTRL-Gruppe erreichte (Abbildung 13B).

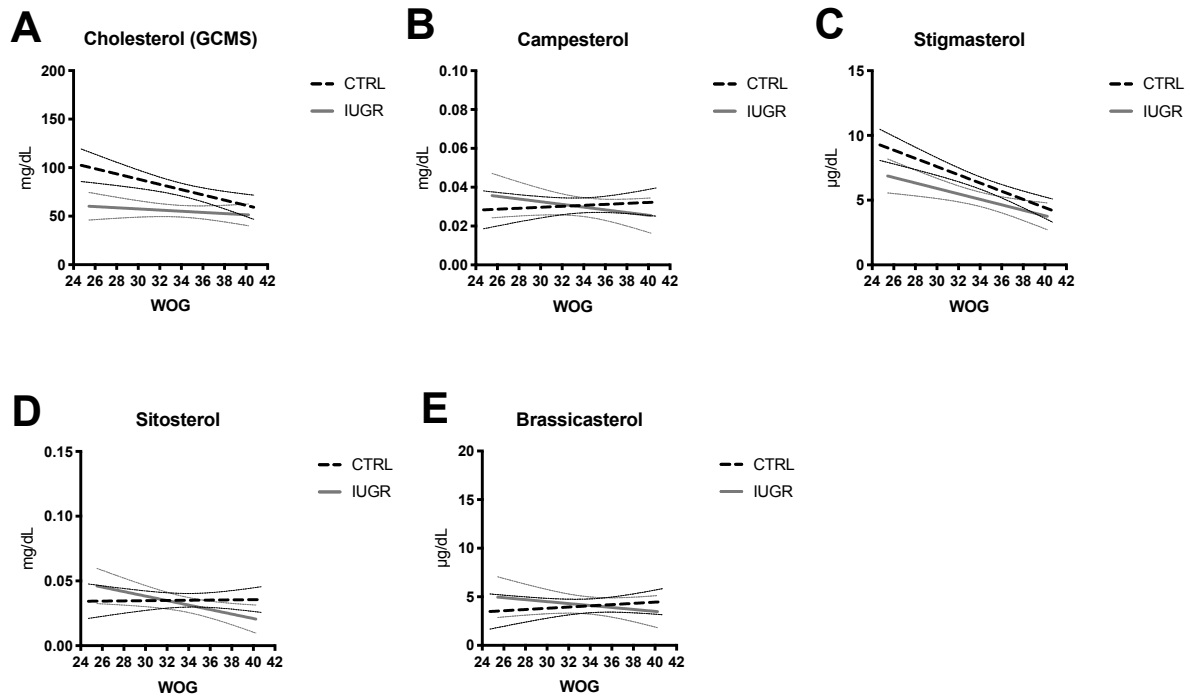


Abbildung 12: Phytosterolkonzentrationen von Neugeborenen in Abhängigkeit vom Gestationsalter. Darstellung der Regressionsanalyse von A: Gesamtcholesterol, B: Campesterol, C: Stigmasterol, D: Sitosterol und E: Brassicasterol im Schwangerschaftsverlauf der Kontrollgruppe (CTRL) im Vergleich mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion) mit Angabe des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ). WOG: Week of gestation bzw. Schwangerschaftswoche

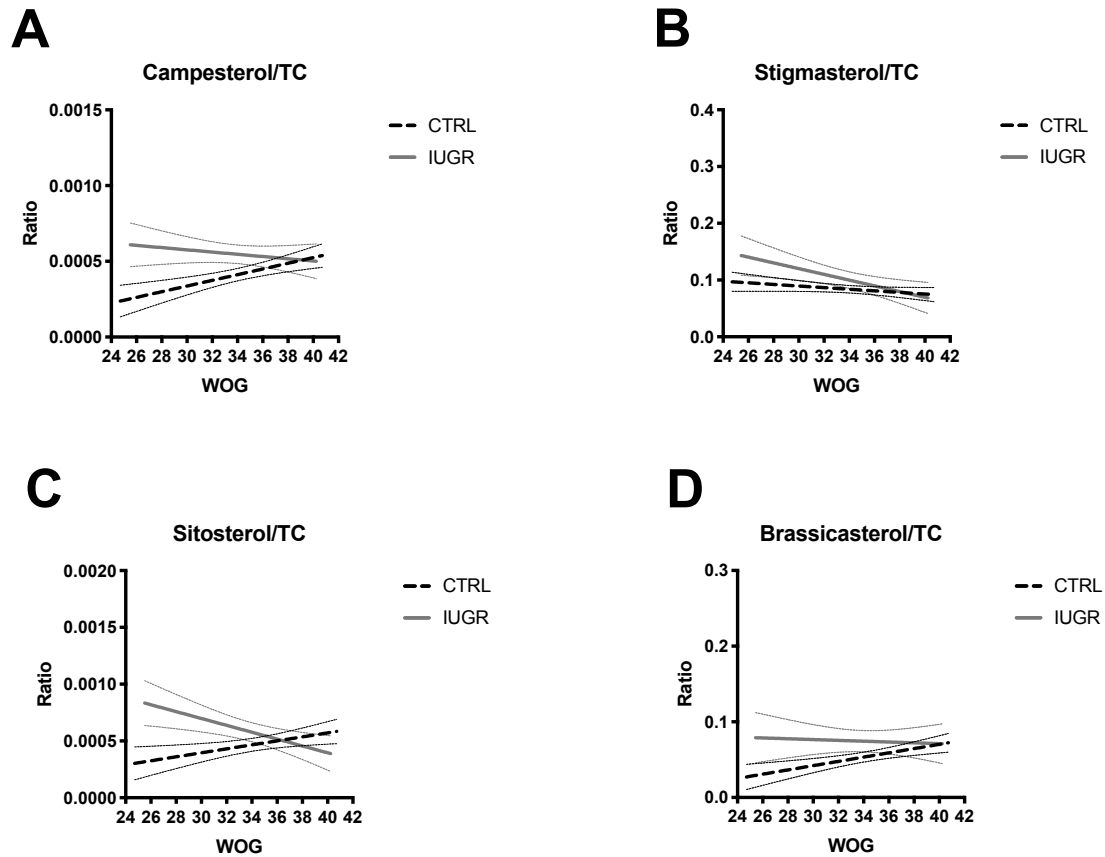


Abbildung 13: Phytosterolkonzentrationen von Neugeborenen im Verhältnis zu Gesamtcholesterol (TC) in Abhängigkeit vom Gestationsalter. Darstellung der Regressionsanalyse von A: Campesterol/TC, B: Stigmasterol/TC, C: Sitosterol/TC und D: Brassicasterol/TC im Schwangerschaftsverlauf der Kontrollgruppe (CTRL) im Vergleich mit der IUGR-Gruppe (Intrauterine Wachstumsrestriktion) mit Angabe des Signifikanzniveaus p (Korrelationskoeffizient ρ). WOG: Week of gestation bzw. Schwangerschaftswoche

4 Diskussion

Dieser Arbeit liegt die Hypothese zu Grunde, dass eine verminderte fetale Cholesterolkonzentration in IUGR-Feten durch eine verminderte maternale Cholesterolverorgung infolge einer Plazentainsuffizienz und gestörter Transportwege durch die Plazenta verursacht wird. Da Phytosterole unabhängig von der Cholesterolsynthese ausschließlich über die Nahrung aufgenommen werden, ist die Konzentration beim Fetus daher direkt abhängig von der Mutter. Eine erniedrigte Phytosterolkonzentration in IUGR-Feten im Vergleich zu adäquat entwickelten Feten würde so auf einen verminderten Cholesteroltransport durch die Plazenta hinweisen.

4.1 Diskussion der Methodik

4.1.1 Auswahl des Patientenkollektivs und Selektionsverzerrung

Ziel dieser prospektiven Studie war es, alle sich zur Entbindung anmeldenden Mütter der Uniklinik Aachen und Kiel einzuschließen. Aus logistischen Gründen konnte eine vollständige Rekrutierung aller entbindenden Frauen nicht gewährleistet werden. Es wurden etwa 22 % der Frauen peripartal nicht erreicht oder aber gaben keine Einwilligung in die Studie. Dies kann einen Selektionsbias erzeugt haben. Der Effekt wird jedoch als eher gering eingestuft. Durch die Vorgaben des Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA), Geburten mit Verdacht auf intrauterine Wachstumsrestriktion in einem Perinatalzentrum zu entbinden, lag der Anteil an IUGR-Geburten in den rekrutierenden Unikliniken zudem mit 20 % deutlich höher als in der Allgemeinbevölkerung. Dies mag einen Rekrutierungsbias verursacht und ein besonderes High-Risk-Kollektiv unter den IUGR in die Studie eingeschlossen haben, entsprach auf der anderen Seite jedoch auch einem real-world Setting und steigerte die Machbarkeit der Studie. Der Einfluss eines Rekrutierungsbias auf die erhobenen Daten wird als mild bis moderat eingeschätzt.

Zum Ausschluss anderer Confounder wurden erweiterte Ausschlusskriterien festgelegt.

Vor dem Hintergrund, dass Mehrlingsgeburten eine eigene Entität mit unterschiedlichen physiologischen Prozessen, Blutfluss in den *Aa. uterinae* sowie dem anatomischen Plazentatyp darstellen, sind diese mit Einlingsgeburten nur schwer vergleichbar und wurden daher von dieser Arbeit ausgeschlossen [16, 108, 109].

Das Vorliegen kongenitaler Malformationen galt, aufgrund einer sich möglicherweise durch andere pathophysiologische Gründe ergebenden IUGR, ebenfalls als Ausschlusskriterium [16]. Auch virale und bakterielle Infektionen können einen Einfluss auf beispielsweise die Lipidwerte haben und zu einer Wachstumsrestriktion führen. Da Infektionen und Entzündungen eine proatherogene Situation bedingen und den HDL-Mechanismus beeinflussen können, wurden Patientinnen mit positivem TORCH-Screening ausgeschlossen [110].

Feten, welche bis 5 Tage vor der Entbindung eine Therapie mit Glukokortikoiden erhalten haben, wurden ebenfalls aufgrund möglicher Beeinflussung der Lipidwerte von der Studie ausgeschlossen. [111, 112]. Ebenso ausgeschlossen wurden, aufgrund der Erkrankungs- und Medikamentenanamnese im Mutterpass, Patientinnen mit schwerer eigener Erkrankung wie Diabetes mellitus Typ 1, 2 und Gestationsdiabetes, primärem Hypertonus, angeborenen Fehlbildungen der Organe (Bsp. Zyanotische Herzfehler) und Drogen- und Alkoholabusus und daraus eventuell resultierenden Einflüssen auf die fetale Versorgung [16]. Diese Ausschlusskriterien führten zu einer homogenen Studiengruppe und reduzierten Störfaktoren für die Zielparameter.

Ähnliche Einflüsse zeigen sich auch im unterschiedlichen Behandlungsschema zwischen IUGR- und den CTRL-Müttern. So werden Mütter mit spontanem Beginn einer Frühgeburt oder einem zu frühen vorzeitigen Blasensprung mit Antibiotika und tokolytischen Mitteln behandelt, während IUGR-Mütter, deren Schwangerschaft aus diesem Grund beendet wird, diese Behandlung nicht erhalten. Der Einfluss auf die Zielparameter wird als gering eingeschätzt.

Besonders hervorzuheben ist, dass unser Kontrollkollektiv nicht mit einem Kollektiv gesunder Neugeborener gleichzusetzen ist. Wir paarten die IUGR-Feten nach Gestationsalter, vor dem Hintergrund, dass das Gestationsalter bei Geburt den höchsten Einfluss auf die fetale Lipidkomposition und Lipid-Serum-Konzentration hat. Da die Frühgeburtlichkeit per se eine Pathologie darstellt, kann ein Einfluss durch die heterogenen, der Frühgeburtlichkeit unterliegenden Prozesse auf die zu erhebenden Parameter nicht ausgeschlossen werden [69, 113-115]. Dieser Einfluss wird als moderat eingeschätzt. Es wird davon ausgegangen, dass der Einfluss des Gestationsalters gerade über den Zeitraum von 24 bis 40 SSW dem Einfluss heterogener pathophysiologischer Faktoren überwiegt. Als prospektive Observanz-Studie wurden Analysen der fetoplazentaren Sonographie nach Klinikvorgaben und

Möglichkeiten, nicht jedoch nach einem standardisierten Studienprotokoll durchgeführt. Dies gilt ebenfalls für die im ambulanten Sektor durch niedergelassene Frauenärztinnen/Frauenärzte im Mutterpass dokumentierten Untersuchungen, deren Daten für die Studie genutzt wurden. Die Einführung eines Monitorings zur Qualitätskontrolle kann in zukünftigen Studien mögliche Fehleranfälligkeiten reduzieren. Der Einfluss auf die Datenqualität und Zielparameter aufgrund von Ungenauigkeiten klinischer Messwerte wird als gering bis moderat eingeschätzt.

In der vorliegenden Studie wurde die Nahrungsaufnahme der Patientinnen nicht dokumentiert, sodass hier der Einfluss der Nahrung auf die Phytosterolkonzentration nicht untersucht werden konnte. Darüber hinaus können Phytosterole die Konzentration von Cholesterol und LDL-Cholesterol ab einer täglichen Aufnahme von über 2 g/Tag um 8 – 10 % senken, unabhängig vom Geschlecht, Alter, ethnischen Hintergrund, Körpergewicht oder Hintergrunddiät [98]. Eine Messung der Phytosterolkonzentration bei den entsprechenden Müttern erfolgte nicht. Hierbei hätten individuelle Faktoren und Ernährungsgewohnheiten berücksichtigt und der transplazentare Phytosterol-Konzentrationsgradient berechnet werden müssen. Dies sollte in zukünftigen Studien erfolgen. Die Stärke der Auswirkung der Ernährungsgewohnheiten auf die Zielparameter wird als moderat eingeschätzt. Auch tageszeitlichen Schwankungen spielen zumindest bei Erwachsenen eine Rolle [121] und eine zirkadiane Rhythmik des hepatischen Cholesterolmetabolismus wurde beschrieben [122]. Dass eine parallele fetale zirkadiane Rhythmik ebenfalls die Messergebnisse beeinflusst, ist denkbar [123].

Zudem haben Lipoproteine eine Halbwertszeit von mehreren Tagen, sodass kurzfristige Einflussfaktoren wie z. B. die tagesaktuelle Nahrungsaufnahme keine Veränderungen der Konzentration erwarten lassen [116]. Es darf daher davon ausgegangen werden, dass die Cholesterolkonzentration im Nabelschnurblut den Ernährungszustand der letzten Tage widerspiegelt.

Definition der IUGR:

Aufgrund eines fehlenden einheitlichen internationalen Konsenses zur Definition der IUGR, wird die Durchführung und der Vergleich von Studien zu diesem Thema deutlich erschwert [12]. Die IUGR wird durch die Amerikanische Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (ACOG) allein als das Unterschreiten des genetischen

Wachstumspotentials aufgrund von pathologischen Prozessen in der fetomaternalen Einheit beschrieben. Das Hauptkriterium stellt hierbei ein pränatal gemessenes und postnatal bestätigtes fetales Gewicht unterhalb der 10. Perzentile bezogen auf das Gestationsalter dar [5, 13, 14] und berücksichtigt so weder pathophysiologische noch konstitutionelle Determinanten des Gewichtes. Die Abgrenzung zwischen IUGR und SGA ist somit nicht immer eindeutig möglich.

Die eigene Arbeitsgruppe orientierte sich hingegen an der Definition der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) mit ihrer AWMF-Leitlinie von 2016 und definierte den Terminus bereits in vorherigen Arbeiten konkreter [69]. Ein fetales Schätzwert $< 10.$ P. und/oder ein nicht perzentilengerechtes Wachstum im Verlauf sowie drei Zusatzkriterien (pathologische Dopplersonographie der *A.umbilicalis*, pathologische Dopplersonographie der *Aa.uterinae* oder ein Oligohydramnion) sind klar festgelegt. Als Perzentilenkurven dienten dieser Arbeit die noch immer geltenden Kurven von Voigt nach sonographischer Vermessung des Fetus nach Hadlock [38, 117, 118]. Zum Ausgleich individueller Unterschiede der Mütter in Bezug auf Körpergröße und Gewicht vor Beginn der Schwangerschaft, ethnische Zugehörigkeit, Parität und fetales Geschlecht wurden außerdem die durch Regressionsanalysen angepassten Perzentilenkurven nach Gardosi verwendet [39]. Durch diese konkretere Definition einer IUGR in Abgrenzung zu einem SGA-Fetus arbeitete unsere Studiengruppe nach internationalem wissenschaftlichem Standard. Zudem wurde so die Population auf die pathologisch relevanten Fälle eingeschränkt und somit die Homogenität der Studienpopulation gestärkt.

4.1.2 Präanalytik

Die maternale Blutentnahme erfolgte im Verlauf des geburtshilflichen Aufenthaltes, unabhängig von einer zuvor erfolgten Nahrungsaufnahme. Eine strikte Standardisierung der Blutabnahme aus der Nabelschnur ist im geburtshilflichen Setting nur bedingt möglich. Verlängerte Stauung vor einer cubitalen Blutentnahme kann zum Beispiel zu einer Verfälschung der Blutfettwerte führen [119]. Technische Aspekte müssen vor diesem Hintergrund kritisch beleuchtet werden. In dem vorliegenden Projekt wurde bis zu einem Zeitpunkt von 15 Minuten post partum venöses Nabelschnurblut durch den anwesenden Geburtshelfer oder die Hebamme gewonnen. Das venöse Blut ist allein aufgrund des größeren Gefäßdurchmesser in der Nabelschnur sicherer abzunehmen. Zudem sind die Konzentrationen der

Blutfettwerte Cholesterol, TG, LDL- und HDL-Cholesterol in venösem Nabelschnurblut laut Studien nicht signifikant unterschiedlich gegenüber arteriellen Blutfettwerten [120]. Durch die Unplanbarkeit von Geburten und deren eventuell auftretenden Komplikationen war eine Blutentnahme durch ein einheitliches, auf wenige Personen beschränktes Team, nicht möglich. Ob eine verzögerte Abnabelung, Ausstreichen der Nabelschnur oder andere geburtshilfliche Maßnahmen die Zielparameter im Nabelschnurblut beeinflussen ist unbekannt. Der Effekt wird jedoch als gering eingeschätzt.

4.1.3 Serumanalytik (Auswirkungen auf die Qualität der Datengeneration)

Die Analyse der maternalen Konzentrationen von Cholesterol, TG, HDL- und LDL-Cholesterol wurde standardisiert durch enzymatisch kolorimetrische Testverfahren im Zuge des Routine-Aufnahmelabors zur Geburt in der jeweiligen Klinik durchgeführt. Das Aliquotieren und anschließende Einfrieren der Blutproben bei -80°C erfolgte innerhalb von maximal 24 Stunden nach einem klar definierten Arbeitsprotokoll. Dies lässt auf eine hohe Qualität der Probenaufbereitung schließen.

Nach Transport in Trockeneis erfolgte die Analyse der fetalen Sterole in der Uniklinik Bonn durch das Team unter Leitung von Herrn Professor Lütjohann. Mittels GC-FID wurden die fetalen Konzentrationen von TC bestimmt. Dies diente dazu, die Cholesterolsynthesemetabolite in ein Verhältnis setzen zu können. Sie wurden mit einer GC-MS (Gaschromatographie mit Massenspektrometrie) im SIM-Modus erhoben. Cholesterolvorläufer lassen sich laut einem Expertenworkshop aus dem Jahre 2013 am sichersten mit GC-FID und GC-MS bestimmen. Für die Analyse der Phytosterole wurde aufgrund einer deutlich niedrigeren Detektionsgrenze und größeren Selektivität für Koprodukte anstelle der GC-FID, die GC-MS-SIM genutzt. Da sich die Massenspektrometrie-Sensibilität verändern und sich dies möglicherweise in einer erhöhten Varianz zeigen kann, wurden die Blutproben in Serie und nicht in mehreren Chargen analysiert [106]. Auch eine Artefaktbildung im Zuge der Probenaufbereitung oder minimale Autooxidation sind unter standardisierten Laborverhältnissen nicht auszuschließen [124]. Aufgrund nicht standardisierter Analyseverfahren für Phytosterole ließen sich die erhobenen Werte allerdings nur schwierig mit Werten anderer Arbeiten vergleichen und sind somit nicht als Normwerte, sondern ausschließlich als Vergleichswerte beider Studiengruppen, anzusehen.

Aufgrund der Nutzung dieser empfohlenen Verfahren kann ein systematischer Fehler mit eventuellem Einfluss auf das Ergebnis weitestgehend ausgeschlossen werden.

4.1.4 Statistik

Der statistischen Auswertung dienten, zur Ermittlung der Stärke des Zusammenhanges der Rangkorrelationskoeffizient und für die erhobenen ordinalskalierten Daten der Mann-Whitney-U-Test. Beide sind gegenüber Ausreißern robust. Ein möglicher Zusammenhang zwischen Gestationsalter und Lipidwert wurde durch die Regressionsanalyse ermittelt. Auch um den alleinigen Einfluss der IUGR auf unsere Zielparameter darzustellen und mögliche Confounder in der Berechnung zu adjustieren.

Um eine höhere Validität zu erreichen, hätte das ausgewählte Patientenkollektiv durchaus größer geplant werden können. Durch die Nutzung von konservativen Testverfahren kann das Risiko eines systematischen Fehlers als gering angesehen werden.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Wie bereits vorangegangene Arbeiten der Studiengruppe zeigten, kommt es bei einer IUGR zu einem signifikant erniedrigten HDL-Cholesterol im fetalen Blut [125]. Ob sich die veränderte Cholesterolumöostase im fetalen Blut bei der IUGR auch in der Phytosterolkonzentration widerspiegelt, ist zentraler Bestandteil dieser Arbeit.

In dieser Arbeit zeigte die Analyse des fetalen Gesamtcholesterols eine signifikante Reduktion um 30 % in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe. Auch das fetale LDL-Cholesterol (Reduktion um 30 %) und das HDL-Cholesterol (Reduktion um 50 %) waren in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe signifikant erniedrigt. Im Gegensatz dazu, konnte eine Erhöhung um 45 % bei den fetalen Triglyceriden in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe festgestellt werden.

Zusammenfassend wurde kein signifikanter Unterschied in der Phytosterolkonzentration bei 40 IUGR-Feten im Vergleich zu den 40 CTRL-Feten nachgewiesen. Dies legt einen unveränderten Cholesterol-Fluss von der Mutter zum Kind nahe, einschließlich einer uneingeschränkten alimentären Phytosterolaufnahme durch die Mutter. Vielmehr waren die Phytosterole im Verhältnis zum Gesamtcholesterol bei Neugeborenen in der IUGR-Gruppe im Vergleich zu CTRL-Gruppe erhöht. Dies lässt darauf rückschließen, dass Cholesterol intrinsisch durch die

IUGR bedingt erniedrigt ist und nicht durch reduzierte maternoplazentare Cholesterolbereitstellung verursacht wird.

Der Einfluss der Schwangerschaftswoche nach Entbindung auf die Phytosterolkonzentration wurde durch eine Unterteilung der Gruppen in eine Entbindung < 34+0 SSW (early onset IUGR) und ab 34+0 SSW (late onset IUGR) unterteilt. Hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Konzentration im Vergleich der IUGR-Gruppe mit der CTRL-Gruppe bzw. im Vergleich der IUGR-Gruppen/CTRL-Gruppen untereinander.

Ebenso hat das Geschlecht laut den Ergebnissen keinen Einfluss auf den Phytosteroltransport von der Mutter zum Fetus. Dementsprechend gibt es keine geschlechtsspezifischen Veränderungen oder Einflüsse, die den Cholesteroltransport zwischen Mutter und Fetus beeinflussen könnten.

Die Hypothese, dass erniedrigte Cholesterolwerte beim Fetus auf eine verminderte Cholesterolbereitstellung durch die Mutter zurückzuführen sind, konnte mit dieser Arbeit nicht bestätigt werden.

4.2.1 Phytosterole bei IUGR-Feten

Die Lipidzusammensetzung im Fetus wird neben der Nahrungszusammensetzung der Mutter auch durch die Plazentafunktion beeinflusst. In den ersten 6 Schwangerschaftsmonaten korrelieren die mütterlich-fetalen Cholesterolkonzentrationen positiv [126]. Der natürliche Anstieg der mütterlichen TG und des Cholesterols während der Schwangerschaft führt zu einem allmählichen Anstieg aller mütterlichen Lipoproteine [63, 121, 127, 128]. Da Lipide entlang eines Konzentrationsgradienten zwischen Mutter und Fetus, vermittelt durch Plazentafettsäureträger, auf den Fetus übertragen werden, wird der hyperlipidämische Zustand der Spätschwangerschaft den Konzentrationsgradienten zwischen Mutter und Fetus über die Plazenta signifikant erhöhen [129]. Eine vergrößerte Oberfläche für den Austausch, ein erhöhter Konzentrationsgradient und ein verringerter Diffusionsabstand verbessern normalerweise den Transfer über die Plazenta. Es konnte bereits gezeigt werden, dass bei Müttern mit einer IUGR-Schwangerschaft die Konzentrationen an LDL-gebundenem Cholesterol und Gesamtcholesterol reduziert sind [130]. Diese Reduktion könnte ein Grund für die um 16 % reduzierte Gesamtcholesterolkonzentration im Nabelschnurblut der IUGR-Feten im Vergleich zur CTRL-Gruppe sein. Die verringerte maternale Cholesterolkonzentration könnte zu

einem verminderten Konzentrationsgradienten führen, sodass weniger Cholesterol über die Plazenta zum Fetus transportiert wird.

IUGR ist mit einer reduzierten plazentaren Expression von Lipoproteinrezeptoren, LDL- und Scavenger Rezeptoren der Klasse B Typ 1 (SR-B1) verbunden. Diese gelten als die Hauptrezeptoren zur Aufnahme maternalen LDL und/oder HDL [131]. Dies könnte zur verminderten Cholesterolkonzentration im Nabelschnurblut der IUGR-Feten führen.

Ein weiterer Grund könnte eine gestörte Abgabe von Fettsäuren sein, die die basale Plasmamembran des Synzytiotrophoblasten in der IUGR-Plazenta passieren. Ein Argument dafür wäre, dass eine erhöhte Expression von Fettsäureprotein 6 (FATP6) und dem Oberflächenprotein CD36 der mikrovillösen Plasmamembran der Plazentamembran sowie eine bevorzugte Speicherung von langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren in TG bei IUGR-Plazenten beobachtet werden konnten [132]. Pathophysiologisch wird gegenwärtig von einer Störung in der frühen Plazentaentwicklung und einer daraus resultierenden Plazentainsuffizienz als Ursache der IUGR ausgegangen [133, 134]. Eine morphologische Plazentaveränderung bei IUGR, die eine verminderte Austauschfläche und eine gleichzeitig erhöhte Diffusionsstrecke zur Folge haben, könnten eine reduzierte transplazentare Lipidversorgung des Fetus bedingen.

Die Konzentrationen der analysierten Phytosterole (Campesterol, Stigmasterol, Sitosterol und Brassicasterol) waren im Vergleich zum Gesamtcholesterol stark verringert. Dies lässt sich mit einer erheblich geringeren maternalen Resorptionsrate im Vergleich zum Cholesterol erklären, sodass weitaus weniger Phytosterole im Blut der Mutter vorliegen und damit transplazental auf den Fetus übertragen werden können [132, 133]. Die Konzentrationen von Pflanzensterolen im Nabelschnurblut von gesunden Neugeborenen unmittelbar nach der Geburt betragen ca. 40 - 50 % des maternalen Levels [102].

Von den vier analysierten Phytosterolen zeigte sich in IUGR-Feten nur für Stigmasterol eine signifikant reduzierte Konzentration um 22 % im Vergleich zur CTRL-Gruppe. Diese Beobachtung würde dafürsprechen, dass Stigmasterol aufgrund einer Plazentainsuffizienz bei Müttern mit IUGR eingeschränkt transplazental transportiert wird. Ein möglicher Zusammenhang könnte hier mit der Beobachtung bestehen, dass eine Zunahme der Molekülgröße (z. B. die Länge der Seitenketten) und die Sättigung

der Doppelbindung die Absorption von Sterolen verringert [79]. Da Stigmasterol von den vier untersuchten Phytosterolen die komplexeste Struktur (Doppelbindung an C- 22 und eine Ethylgruppe am C-24) hat, könnten hier eventuell schon geringe morphologische Änderungen der Plazenta in IUGR-Müttern, eine stark verminderte Transportfähigkeit von Stigmasterol bewirken.

Für Campesterol, Sitosterol und Brassicasterol konnten keine Unterschiede zwischen der IUGR- und der CTRL-Gruppe festgestellt werden, weshalb hier kein verminderter Transport angenommen wurde. Da die überwiegende Anzahl an gemessenen Phytosterolen nicht auf einen verminderten Transport von der Mutter auf den Fetus hinweisen, kann eine gestörte Plazentafunktion und eine damit verbundene verminderte Cholesterolkonzentration in IUGR-Feten nicht angenommen werden.

Des Weiteren wurde die Phytosterol/Cholesterol Ratio der vier untersuchten Phytosterole gebildet. Für den Campesterol/Cholesterol-, Stigmasterol/Cholesterol- und Brassicasterol/Cholesterol-Quotienten wurde eine signifikant erhöhte Ratio in der IUGR-Gruppe im Vergleich zur CTRL-Gruppe festgestellt. Für den Sitosterol/TC-Quotienten hingegen wurde zwar eine Erhöhung der Ratio in der IUGR-Gruppe festgestellt, diese war aber nicht signifikant. Die erhöhten Phytosterol/Cholesterol-Ratios bei IUGR-Kindern wiesen ebenfalls auf einen uneingeschränkten transplazentaren Phytosteroltransport hin. Darüber hinaus deutet dies auf einen wesentlichen maternalen Beitrag zum fetalen Cholesteroolpool unabhängig von der Plazentainsuffizienz hin.

Eine andere Erklärung für die erhöhten Phytosterol/Cholesterol-Ratios wäre eine geringere hepatobiliäre Eliminationsrate der Phytosterole. Die Leber ist dabei das Hauptorgan zur Regulation der Körpercholesterollhomöostase und in IUGR-Feten verändert. So konnte bereits nachgewiesen werden, dass eine verringerte Sauerstoffaufnahme und ein verringerter Glukosetransfer in IUGR-Feten den Shunt durch den *Ductus venosus* unter Umgehung der Leber erhöhen, um die Nährstoffversorgung von Herz und Gehirn aufrechtzuerhalten [26, 135]. Dieser sogenannte „Brain-sparing-effect“ hat ein reduziertes Lebervolumen [136-138], einen Rückgang der Glykogenspeicher in der Leber, eine fetale Hypoglykämie und Auswirkungen auf die Aufrechterhaltung des fetalen oxidativen Stoffwechsels zur Folge [139]. Die Folge dieser Auswirkungen auf die Leber ist eine verringerte fetale Acetyl-CoA-Synthese, was wiederum zu einer Verminderten de novo

Cholesterolsynthese des Fetus führt. Eine reduzierte Leberfunktion könnte durch die Analyse von Cholesterolzwischenstufen (z. B. Lanosterol, Lathosterol, Dihydro-Lanosterol) im Nabelschnurblut von IUGR-Feten vs. CTRL-Feten bestätigt werden. Dies ist Teil einer weiteren Arbeit im Zusammenhang mit der vorliegenden Studie.

4.2.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede fetaler Phytosterole

Das Geschlecht eines Kindes kann neben dem Gestationsalter und der Ethnie (schwarzafrikanisch vs. kaukasisch) das kindliche Serumprofil beeinflussen [58, 140, 141]. So konnte eine signifikante Reduktion an TG in weiblichen Neugeborenen im Vergleich zu männlichen Neugeborenen festgestellt werden. Hinsichtlich des Gesamtcholesterols, HDL-Cholesterols und LDL-Cholesterols wurden jedoch keine Unterschiede beobachtet [141]. Auch in der vorliegenden Arbeit sind keine Unterschiede in den Gesamtcholesterolkonzentrationen zwischen gesunden männlichen und weiblichen Feten festgestellt worden. Ebenso konnte kein Unterschied hinsichtlich der Gesamtcholesterolkonzentration zwischen männlichen und weiblichen IUGR-Feten festgestellt werden. Allerdings bestätigt sich auch hier eine Reduktion der Gesamtcholesterolkonzentration zwischen gesunden und IUGR-Feten beiden Geschlechtes.

Die Analysen der Phytosterole Campesterol, Stigmasterol, Sitosterol und Brassicasterol zeigten ebenfalls keine Unterschiede zwischen gesunden männlichen und weiblichen Feten als auch zwischen IUGR-Feten männlichen und weiblichen Geschlechtes. Das Geschlecht hat demzufolge keinen Einfluss auf den Phytosteroltransport von der Mutter zum Fetus. Dementsprechend gibt es keine geschlechtsspezifischen Veränderungen oder Einflüsse, die den Cholesteroltransport zwischen Mutter und Fetus beeinflussen können.

Dies wird auch durch die Analyse der Ratios der Phytosterole/Gesamtcholesterol bestätigt. Auch wenn sich die Ratios zwischen den IUGR-Gruppen und den CTRL- Gruppen nicht für alle analysierten Phytosterole signifikant unterscheiden, ist die Tendenz erhöhter Ratios in den IUGR-Gruppen zu erkennen.

4.2.3 Einfluss der Schwangerschaftswoche nach Entbindung auf die fetale Phytosterolkonzentration

Es wurde bereits gezeigt, dass während der Schwangerschaft allmählich alle mütterlichen Lipoproteine ansteigen [63, 127, 128], wobei eine Hypertriglyceridämie

während der Spätschwangerschaft charakteristisch ist. Der Anstieg von Phospholipiden und Cholesterol ist jedoch geringer.

Durch die vorliegende Studie konnte nachgewiesen werden, dass die Gesamtcholesterolkonzentration von gesunden und IUGR-Feten vor der 34. SSW tendenziell (aber nicht signifikant) höher war als im Vergleich zu später geborenen Feten. Ähnliches konnte für Stigmasterol festgestellt werden. Campesterol, Sitosterol und Brassicasterol zeigten kaum Konzentrationsveränderungen.

Während die IUGR-Feten erneut eine signifikante Reduktion der Cholesterolkonzentration im Vergleich zur CTRL-Gruppe zeigten, unabhängig davon, ob sie vor/während oder nach der 34. SSW geboren wurden, war dies für die gemessenen Phytosterole nicht der Fall. Dies deutet daraufhin, dass der Transport der Phytosterole nicht eingeschränkt war und sich im Laufe der Schwangerschaft mögliche zunehmende morphologische Plazentaveränderungen nicht auf deren Transport auswirkten. Dementsprechend handelte es sich bei der Reduktion der Cholesterolkonzentration bei IUGR-Feten wahrscheinlich vielmehr um eine verminderte fetale de novo Synthese.

Bei der Analyse der Ratios der Phytosterole/Gesamtcholesterol konnte beobachtet werden, dass es nur signifikante Unterschiede zwischen der IUGR-Gruppe und der CTRL-Gruppe gab, wenn die Kinder vor/während der 34. SSW geboren wurden. Dies könnte ein Hinweis sein, dass die Plazentainsuffizienz zum Ende der Schwangerschaft doch den Phytosteroltransport beeinflusst und damit eine verminderte fetale Cholesterinkonzentration durch eine verminderte maternale Cholesterinversorgung infolge einer Plazentainsuffizienz und gestörter Transportwege durch die Plazenta verursacht wird.

Um eine genauere Abhängigkeit der Cholesterol- und Phytosterolkonzentrationen vom Gestationsalter bei Entbindung zu beleuchten, wurde eine Regressionsanalyse im Schwangerschaftsverlauf durchgeführt. Hier zeigte sich eine Reduktion der Cholesterol- und Stigmasterolkonzentration mit zunehmenden Gestationsalter bei gesunden Feten, während bei den IUGR-Feten kaum eine Veränderung der Gesamtcholesterolkonzentration nachgewiesen werden konnte. Für Cholesterol konnte bereits gezeigt werden, dass die Konzentration mit zunehmenden Gestationsalter abnimmt [130, 142, 143]. Eine verringerte Cholesterolkonzentration im Fetus mit zunehmenden Gestationsalter der Mutter kann durch die gesteigerte

Aufnahme von Cholesterol durch das Lipoprotein-C in der Zirkulation und der anschließenden Aufnahme in Geweben zur z. B. Membranbildung [144] oder einer gesteigerten hepatischen LDL-Rezeptoraktivität erklärt werden [145].

In gesunden Feten konnten für die Phytosterole Campesterol, Sitosterol und Brassicasterol kaum Veränderungen bzgl. der Konzentrationen mit zunehmendem Gestationsalter festgestellt werden. Jedoch verringerte sich die Konzentration dieser Phytosterole und des Stigmasterols im Laufe der Schwangerschaft bei IURG-Feten. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass der plazentale Transport von Phytosterolen durch zunehmende morphologische Veränderungen der Plazenta mit zunehmender SSW zum gewissen Teil beeinträchtigt wird, da es bei den gesunden Feten keine Konzentrationsveränderungen und dementsprechend keine Beeinträchtigungen im Transport gab.

Die konstanten Phytosterolkonzentrationen von Campesterol, Sitosterol und Brassicasterol in gesunden Feten deuten darauf hin, dass der Fetus hauptsächlich das maternale Cholesterol für seinen Cholesterolbedarf nutzt.

Bei der Analyse der Phytosterol/Cholesterolquotienten ist für alle der vier untersuchten Phytosterole zu beobachten gewesen, dass bei frühem Gestationsalter der Mutter eine hohe Ratio bei IUGR-Kindern auf einen uneingeschränkten transplazentaren Phytosteroltransport hinweist. Diese Ratio nahm zur 42. SSW hin ab, wobei es zum Ende der Schwangerschaft keine Unterschiede zwischen den Phytosterol/TC-Ratios in IUGR-Feten im Vergleich zu den CTRL-Feten gab. Dies deutet darauf hin, dass im Verlauf der Schwangerschaft eine Beeinträchtigung des Transportes der Phytosterole und damit auch des Cholesterols aufgrund von morphologischen Veränderungen der Plazenta stattfindet.

4.2.4 Einfluss des maternalen Rauchstatus auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen

Rauchen während der Schwangerschaft konnte bereits mit einem reduzierten Geburtsgewicht in Verbindung gebracht werden [146-148]. Das mittlere Geburtsgewicht von Säuglingen, deren Mütter während der Schwangerschaft geraucht haben, lag 111 - 236 g unter dem von Säuglingen von Nichtraucherinnen [149]. Weiter konnte gezeigt werden, dass die Inzidenz von IUGR von 5,7 % bei Nichtraucherinnen auf 15,8 % bei Müttern, die mehr als 10 Zigaretten pro Tag rauchten, anstieg. Mittels Paarbildung und durch Residualanalyse wurde für die vorliegende Studie

ausschließlich der Einfluss des Nikotinkonsumes auf die Cholesterol- und Phytosterolkonzentration berechnet. Es zeigte sich, dass die Cholesterolkonzentration in den IURG-Feten weiterhin signifikant im Vergleich zur CTRL-Gruppe reduziert war. Gleiches galt für das Stigmasterol, wobei für die Phytosterole Campesterol, Sitosterol und Brassicasterol keine signifikanten Unterschiede erkennbar waren. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass das Rauchen allein nicht Ursache für eine Reduktion der Cholesterolkonzentration im Nabelschnurblut der IUGR-Feten sein kann. Jedoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass es einen Einfluss gibt.

Nikotin und Kohlenmonoxid sind die beiden Komponenten des Zigarettenrauches, welche schädliche Auswirkungen auf die Entwicklung des Fetus haben können, da diese die Plazentaschranke durchqueren. Nikotin kann den Fetus auf verschiedene Weisen beeinflussen: (a) Vasokonstriktion des uteroplazentaren Gefäßsystems, die zu einer uteroplazentaren Unterperfusion und einer Verringerung des Nährstoff- und Sauerstoffflusses zum Fetus führt [150]; (b) Unterdrückung des Appetites der Mutter, was wiederum zu einer schlechten Ernährung und Energieaufnahme sowie zu einer verringerten Energieversorgung des Fetus führt und (c) Veränderungen im Zellwachstum und in der Aktivität des zentralen als auch peripheren Nervensystems des Fetus [151]. Kohlenmonoxid kann an Hämoglobin unter Bildung von Carboxyhämoglobin binden, was zu einem Sauerstoffmangel im fetalen Gewebe und zur hypoxisch bedingten Ischämie führt. Studien an Tiermodellen zeigten Hinweise auf histopathologische Veränderungen der fetalen Lunge, der Nieren und der Plazenta als Reaktion auf den Zigarettenkonsum [152, 153]. Für die Leber konnten jedoch keine morphologischen Veränderungen beobachtet werden. Es konnte aber nachgewiesen werden, dass z. B. die Menge nachweisbarer mRNA-Transkripte, die für Steroidsynthese-/Stoffwechsel-/Konjugationsenzyme und Steroidrezeptoren kodieren, in der fetalen Leber reduziert sind, wenn die Mutter während der Schwangerschaft geraucht hat [154]. So könnten auch Enzyme für die de novo Synthese von Cholesterol in der fetalen Leber verändert sein, und somit zu einer Verringerung der Cholesterolkonzentration in IUGR-Feten beitragen. Dies bleibt in weiteren Studien zu prüfen.

In einer Studie von 2018 konnte in einem Tiermodell bewiesen werden, dass nach pränataler Nikotinexposition eine reduzierte Expression des Scavenger Rezeptors Klasse B Typ 1 (SR-B1) und des ATP-Binding cassette transporter A1/G1

(ABCA1/ABCG1) in der Plazenta vorlag [155]. Dies könnte wiederum eine Erklärung für einen verminderten plazentaren Cholesteroltransport und eine verminderte Cholesterolkonzentration im Nabelschnurblut der IUGR-Feten sein.

Rauchen während der Schwangerschaft ist also nicht der Faktor, der hauptsächlich für eine Reduktion der Cholesterolkonzentration bei IUGR-Feten im Vergleich zu gesunden verantwortlich ist. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass Effekte des Rauchens durch Veränderung der Genexpression von Transportern in der Plazenta oder Enzymen zur de novo Synthese von Cholesterol durch den Fetus selbst zusätzlich zur Reduktion der Cholesterolkonzentration bei IUGR-Feten beitragen.

4.2.5 Der Einfluss maternalen Rauchens, Gestationsalter bei Geburt, fetales Geschlecht, Parität, maternaler BMI auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen

Zusätzlich zum Rauchen wurden weitere potenzielle Störfaktoren wie das Gestationsalter bei Geburt, das fetale Geschlecht, die Parität und der maternale BMI mittels Residualanalyse herausgerechnet, um deren Einfluss auf die Phytosterolkonzentration von Neugeborenen genauer zu analysieren. Auch hier konnte eine signifikante Reduktion der Cholesterolkonzentration und der Stigmasterolkonzentration bei IUGR-Feten im Vergleich zu gesunden Feten beobachtet werden. Die Phytosterole Campesterol, Sitosterol und Brassicasterol zeigten ebenfalls eine Reduktion in der IUGR-Gruppe, diese war jedoch nicht signifikant. Dies deutet darauf hin, dass die untersuchten Störfaktoren nicht hauptsächlich für eine verminderte Cholesterolkonzentration in IUGR-Feten verantwortlich sind, aber durchaus einen Einfluss haben könnten. Verschiedene Studien zeigen, dass der BMI, das fetale Geschlecht, Parität und Gestationsalter bei Geburt unabhängige Risikofaktoren für IUGR sind [156-158].

Durch den Ausschluss von Confoundern und Gruppenpaarung sind die Einflüsse klinischer Störfaktoren und einer Selektionsbias als gering einzustufen.

4.2.6 Limitationen und Stärken der Studie

Zusammenfassend bestehen die deutlichsten Limitationen dieser Studie in der multifaktoriellen Entstehung der IUGR sowie in der heterogenen Pathophysiologie in Bezug auf die Frühgeburt in der CTRL-Gruppe. Zusätzliche maternoplazentare Parameter wie zum Beispiel die maternale Nahrungsaufnahme und -zusammensetzung wurden nicht berücksichtigt. Ebenso wurde kein Augenmerk auf

die Phytosterolkonzentration der aufgenommenen Nahrung an sich gelegt. Einfluss unterschiedlicher Handhabung bei der Blutabnahmetechnik und daraus resultierende laborchemische Schwankungen sind nicht auszuschließen und können einen Einfluss auf die Ergebnisse haben.

Da die Dokumentation im Mutterpass abhängig von der Gewissenhaftigkeit Dritter war, und keine Interpolation in Bezug auf diese Fehleranfälligkeit bestand (kein einheitlich definierter Zeitpunkt in der Schwangerschaft als Startpunkt für initiale fetoplazentare Sonographie, Anamnese wie Alkohol, Drogen, Grunderkrankungen usw.), sind auch hier Fehlerquellen möglich.

Eine besondere Stärke dieser Studie ist die strenge Definition der IUGR durch Zusatzkriterien und die daraus mögliche Abgrenzung der IUGR-Feten zu SGA-Feten. Zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie ging diese Definition weit über den national und international gültigen Standard der IUGR-Definition hinaus. Berücksichtigt wurden zum Beispiel pathophysiologische und konstitutionelle Determinanten des Gewichtes. Die Auswahl der Kriterien durch die Arbeitsgruppe unter Leitung von Herrn Professor Pecks erfolgte hierbei auf Basis vorangegangener Studien.

Eine weitere große Stärke liegt in der Auswahl der Zielparameter: Phytosterole bieten sich zur Messung des maternofetalen Transfers deswegen besonders an, da diese ausschließlich mit der Nahrung durch die Mutter aufgenommen werden. Die Konzentration im fetalen Blut ist somit direkt abhängig von der Mutter und ein repräsentativer Parameter im Cholesterinstoffwechsel des Feten.

4.3 Ausblick

Die metabolischen Veränderungen bei IUGR-Feten zählen zusammen mit einem geringen Geburtsgewicht zu den Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen im späteren Leben.

In der vorliegenden Arbeit konnte in IUGR-Feten eine geringere HDL-Konzentration im Vergleich zu den CTRL-Feten festgestellt werden. Diese Beobachtung deckt sich mit anderen Studien [65, 69]. Eine geringe HDL-Cholesterolkonzentration ist ein wichtiger unabhängiger Risikofaktor für atherosklerotische Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei Erwachsenen. HDL und das Apolipoprotein A1 (Apo-A1) sind dabei für den Rücktransport von Cholesterol zur Leber verantwortlich. Unter anderem der Steroltransporter ABCA1 überträgt das Cholesterol auf HDL und Apo-A1, sodass diese

überschüssiges Cholesterol aus z. B. Endothelzellen und Makrophagen aufnehmen und somit diese Zellen vor einem Cholesterolüberschuss schützen können [159].

Hohe Campesterol/Cholesterol- und Sitosterol/Cholesterol-Ratios gelten zudem beim Adulten als unabhängige Prädiktoren für Herz-Kreislauf-erkrankungen [160]. Phytosterole können dabei kontroverse Effekte haben. Es ist bekannt, dass Stigmasterol die Expression von ABC-Transportern (ABCA1 und ABCG1) steigert und die Bindung von Cholesterol an das Apolipoprotein A1 und HDL induzieren kann [161]. Auch schwächt Stigmasterol durch die Aggregation von LDL induzierte Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen (Tumor necrosis factor (TNF)- α , Interleukin (IL)-6 und -1b) ab, während Sitosterol diesen Effekt wieder umkehrt.

Diese Arbeit bietet daher eine Grundlage für Folgestudien bezüglich der Pathogenese einer IUGR, deren metabolischen Folgen im Verlauf des Lebens und der Rolle von Phytosterolen in Bezug auf die Entwicklung von Herz-Kreislauf-erkrankungen bei IUGR im späteren Erwachsenenleben.

5 Zusammenfassung

Die Cholesterolkonzentration bei IUGR-Feten ist im Vergleich zu adäquat entwickelten Feten erniedrigt. Ob diese pathologische Cholesteroldeprivation das Ergebnis einer reduzierten fetalen Syntheserate oder eines eingeschränkten maternoplazentaren Transportes ist, ist die zentrale Frage dieser Arbeit.

Hierzu wurde die Konzentration von Phytosterolen, die direkt abhängig von der maternalen Aufnahme sind und nicht vom Fetus selbst synthetisiert werden können, im Nabelschnurblut analysiert. Die Proben stammen aus einer im Rahmen dieser Studie aufgebauten Biobank und umfassen venöse Nabelschnurblutproben von 40 Feten einer CTRL-Gruppe, welche mit Proben von 40 Feten einer IUGR-Gruppe in Hinblick auf kindliche und mütterliche Charakteristika gepaart wurden.

Dabei dienten Campesterol, Sitosterol, Stigmasterol und Brassicasterol als Repräsentanten der Phytosterole.

Die erhobenen Daten wurden mittels Mann-Whitney-U-Test, Kruskal-Wallis-Test, Spearman-Korrelationskoeffizient und Regressionsanalysen ausgewertet. Um Störfaktoren wie das fetale Geschlecht, die Schwangerschaftswoche bei Entbindung, die Parität, den maternalen Body-Mass-Index und Rauchstatus auszuschließen, erfolgten Residualanalysen.

Die Ergebnisse im Gruppenvergleich zeigten, dass die Phytosterolkonzentrationen im Verhältnis zur Gesamtcholesterolkonzentration mit steigender Schwangerschaftswoche zunehmen. In der IUGR-Gruppe waren die Verhältnisse von Phytosterolen zu Cholesterol höher als in der CTRL-Gruppe. Dieser Unterschied war bei den Feten, welche vor der 34. SSW geboren wurden, besonders deutlich.

Diese Ergebnisse deuten einen im späteren Schwangerschaftsverlauf zunehmenden mütterlichen Beitrag zum fetalen Cholesterolpool durch plazentaren Phytosteroltransport an. Niedrige fetale Cholesterolkonzentrationen in der späten Schwangerschaft sind nach unseren Daten wahrscheinlich eher durch eine verminderte fetale de-novo-Synthese von Cholesterol oder einen zunehmenden fetalen Metabolismus des Cholesterols zurückzuführen. Im Gegensatz zu den erwarteten Ergebnissen bei Plazentainsuffizienz sind die Verhältnisse von Phytosterolkonzentrationen zu Gesamtcholesterolspiegeln in IUGR-Feten im Vergleich zu CTRL-Feten erhöht.

Zusammenfassend scheint der Cholesteralmangel bei IUGR-Feten also eher das Ergebnis von einer verminderten fetalen de-novo-Synthese zu sein und nicht von einer verminderten maternalen Bereitstellung, da in dieser Arbeit ein anhaltender Transport von Phytosterolen auch bei IUGR-Feten nachgewiesen werden konnte.

Weitere Forschung sollte darauf abzielen, regulierende Strategien und Therapieverfahren, insbesondere in Hinblick auf kardiovaskuläre Folgeerkrankungen, zu entwickeln.

6 Literaturverzeichnis

1. Agrawal A, Scherrer JF, Grant JD, Sartor CE, Pergadia ML, Duncan AE, et al. The effects of maternal smoking during pregnancy on offspring outcomes. *Prev Med.* 2010;50(1-2):13-8. Epub 2009/12/23. doi: 10.1016/j.ypmed.2009.12.009. PubMed PMID: 20026103; PubMed Central PMCID: PMCPMC2813884.
2. Suzuki K, Shinohara R, Sato M, Otawa S, Yamagata Z. Association Between Maternal Smoking During Pregnancy and Birth Weight: An Appropriately Adjusted Model From the Japan Environment and Children's Study. *J Epidemiol.* 2016;26(7):371-7. Epub 2016/02/24. doi: 10.2188/jea.JE20150185. PubMed PMID: 26902166; PubMed Central PMCID: PMCPMC4919482.
3. Williams JF, Smith VC, Committee On Substance A. Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Pediatrics.* 2015;136(5):e1395-406. Epub 2015/10/21. doi: 10.1542/peds.2015-3113. PubMed PMID: 26482673.
4. Berg. Intrauterine Wachstumsrestriktion, in Geburtshilfe und Perinatalmedizin: Pränataldiagnostik- Erkrankungen- Entbindung: Georg Thieme Verlag; 2010.
5. American College of O, Gynecologists' Committee on Practice B-O, the Society f-F. ACOG Practice Bulletin No. 204: Fetal Growth Restriction. *Obstet Gynecol.* 2019;133(2):e97-e109. Epub 2019/01/27. doi: 10.1097/AOG.0000000000003070. PubMed PMID: 30681542.
6. Wollmann HA. Intrauterine growth restriction: definition and etiology. *Horm Res.* 1998;49(# Suppl 2):1-6. Epub 1998/08/26. PubMed PMID: 9716819.
7. Mandruzzato G, Meir YJ, Natale R, Maso G. Antepartal assessment of IUGR fetuses. *J Perinat Med.* 2001;29(3):222-9. Epub 2001/07/13. doi: 10.1515/JPM.2001.031. PubMed PMID: 11447926.
8. Wallace IF, McCarton CM. Neurodevelopmental outcomes of the premature, small-for-gestational-age infant through age 6. *Clin Obstet Gynecol.* 1997;40(4):843-52. Epub 1998/01/16. doi: 10.1097/00003081-199712000-00018. PubMed PMID: 9429798.
9. Peleg D, Kennedy CM, Hunter SK. Intrauterine growth restriction: identification and management. *Am Fam Physician.* 1998;58(2):453-60, 66-7. Epub 1998/08/26. PubMed PMID: 9713399.
10. Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2000;356(9237):1260-5. Epub 2000/11/10. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02800-2. PubMed PMID: 11072961.
11. Sheridan C. Intrauterine growth restriction--diagnosis and management. *Aust Fam Physician.* 2005;34(9):717-23. Epub 2005/09/27. PubMed PMID: 16184202.
12. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K, et al. Definition and management of fetal growth restriction: a survey of contemporary attitudes.

- Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2014;174:41-5. Epub 2013/12/24. doi: 10.1016/j.ejogrb.2013.11.022. PubMed PMID: 24360357.
13. Haram K, Gjelland K. [Foetal growth retardation]. Tidsskr Nor Laegeforen. 2007;127(20):2665-9. Epub 2007/10/24. PubMed PMID: 17952149.
14. Falo AP. Intrauterine growth retardation (IUGR): prenatal diagnosis by imaging. Pediatr Endocrinol Rev. 2009;6 Suppl 3:326-31. Epub 2009/05/16. PubMed PMID: 19404230.
15. Steiner HS, Karl-Theo m. Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie: Springer-Verlag berlin Heidelberg; 2008.
16. Pollack RN, Divon MY. Intrauterine growth retardation: definition, classification, and etiology. Clin Obstet Gynecol. 1992;35(1):99-107. Epub 1992/03/01. doi: 10.1097/00003081-199203000-00015. PubMed PMID: 1544253.
17. Goldenberg RL, Cliver SP. Small for gestational age and intrauterine growth restriction: definitions and standards. Clin Obstet Gynecol. 1997;40(4):704-14. Epub 1998/01/16. doi: 10.1097/00003081-199712000-00004. PubMed PMID: 9429784.
18. Alberry M, Soothill P. Management of fetal growth restriction. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2007;92(1):F62-7. Epub 2006/12/23. doi: 10.1136/adc.2005.082297. PubMed PMID: 17185432; PubMed Central PMCID: PMCPMC2675309.
19. Lees C, Marlow N, Arabin B, Bilardo CM, Brezinka C, Derks JB, et al. Perinatal morbidity and mortality in early-onset fetal growth restriction: cohort outcomes of the trial of randomized umbilical and fetal flow in Europe (TRUFFLE). Ultrasound Obstet Gynecol. 2013;42(4):400-8. Epub 2013/10/01. doi: 10.1002/uog.13190. PubMed PMID: 24078432.
20. Dashe JS, McIntire DD, Lucas MJ, Leveno KJ. Effects of symmetric and asymmetric fetal growth on pregnancy outcomes. Obstet Gynecol. 2000;96(3):321-7. Epub 2000/08/29. doi: 10.1016/s0029-7844(00)00943-1. PubMed PMID: 10960619.
21. Cox P, Marton T. Pathological assessment of intrauterine growth restriction. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2009;23(6):751-64. Epub 2009/10/27. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2009.06.006. PubMed PMID: 19854107.
22. Kehl S, Dotsch J, Hecher K, Schlembach D, Schmitz D, Stepan H, Gembruch U. Intrauterine Growth Restriction. Guideline of the German Society of Gynecology and Obstetrics (S2k-Level, AWMF Registry No. 015/080, October 2016). Geburtshilfe Frauenheilkd. 2017;77(11):1157-73. Epub 2018/01/30. doi: 10.1055/s-0043-118908. PubMed PMID: 29375144; PubMed Central PMCID: PMCPMC5784232.
23. Alkalay AL, Graham JM, Jr., Pomerance JJ. Evaluation of neonates born with intrauterine growth retardation: review and practice guidelines. J Perinatol. 1998;18(2):142-51. Epub 1998/05/30. PubMed PMID: 9605307.

24. McIntire DD, Bloom SL, Casey BM, Leveno KJ. Birth weight in relation to morbidity and mortality among newborn infants. *N Engl J Med*. 1999;340(16):1234-8. Epub 1999/04/22. doi: 10.1056/NEJM199904223401603. PubMed PMID: 10210706.
25. Baschat AA, Gembruch U, Reiss I, Gortner L, Weiner CP, Harman CR. Absent umbilical artery end-diastolic velocity in growth-restricted fetuses: a risk factor for neonatal thrombocytopenia. *Obstet Gynecol*. 2000;96(2):162-6. Epub 2000/07/26. doi: 10.1016/s0029-7844(00)00904-2. PubMed PMID: 10908756.
26. Baschat AA, Harman CR, Gembruch U. Haematological consequences of placental insufficiency. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004;89(1):F94. Epub 2004/01/09. PubMed PMID: 14711871; PubMed Central PMCID: PMC1721655.
27. Baschat AA, Cosmi E, Bilardo CM, Wolf H, Berg C, Rigano S, et al. Predictors of neonatal outcome in early-onset placental dysfunction. *Obstet Gynecol*. 2007;109(2 Pt 1):253-61. Epub 2007/02/03. doi: 10.1097/01.AOG.0000253215.79121.75. PubMed PMID: 17267821.
28. Baschat AA, Kush M, Berg C, Gembruch U, Nicolaides KH, Harman CR, Turan OM. Hematologic profile of neonates with growth restriction is associated with rate and degree of prenatal Doppler deterioration. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41(1):66-72. Epub 2012/10/16. doi: 10.1002/uog.12322. PubMed PMID: 23065842.
29. Barker DJ. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*. 2006;49(2):270-83. Epub 2006/05/25. doi: 10.1097/00003081-200606000-00009. PubMed PMID: 16721106.
30. Pallotto EK, Kilbride HW. Perinatal outcome and later implications of intrauterine growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*. 2006;49(2):257-69. Epub 2006/05/25. doi: 10.1097/00003081-200606000-00008. PubMed PMID: 16721105.
31. Froen JF, Gardosi JO, Thurmann A, Francis A, Stray-Pedersen B. Restricted fetal growth in sudden intrauterine unexplained death. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004;83(9):801-7. Epub 2004/08/19. doi: 10.1111/j.0001-6349.2004.00602.x. PubMed PMID: 15315590.
32. Gardosi J, Madurasinghe V, Williams M, Malik A, Francis A. Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. *BMJ*. 2013;346:f108. Epub 2013/01/26. doi: 10.1136/bmj.f108. PubMed PMID: 23349424; PubMed Central PMCID: PMC3554866.
33. Chauhan SP, Beydoun H, Chang E, Sandlin AT, Dahlke JD, Igwe E, et al. Prenatal detection of fetal growth restriction in newborns classified as small for gestational age: correlates and risk of neonatal morbidity. *Am J Perinatol*. 2014;31(3):187-94. Epub 2013/04/18. doi: 10.1055/s-0033-1343771. PubMed PMID: 23592315.

34. Miranda J, Rodriguez-Lopez M, Triunfo S, Sairanen M, Kouru H, Parra-Saavedra M, et al. Prediction of fetal growth restriction using estimated fetal weight vs a combined screening model in the third trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;50(5):603-11. Epub 2016/12/23. doi: 10.1002/uog.17393. PubMed PMID: 28004439.
35. Mongelli M, Wilcox M, Gardosi J. Estimating the date of confinement: ultrasonographic biometry versus certain menstrual dates. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174(1 Pt 1):278-81. Epub 1996/01/01. doi: 10.1016/s0002-9378(96)70408-8. PubMed PMID: 8572021.
36. Bais JM, Eskes M, Pel M, Bonsel GJ, Bleker OP. Effectiveness of detection of intrauterine growth retardation by abdominal palpation as screening test in a low risk population: an observational study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;116(2):164-9. Epub 2004/09/11. doi: 10.1016/j.ejogrb.2004.01.037. PubMed PMID: 15358457.
37. Hadlock FP, Harrist RB, Shah YP, Sharman RS, Park SK. Sonographic fetal growth standards. Are current data applicable to a racially mixed population? *J Ultrasound Med.* 1990;9(3):157-60. Epub 1990/03/01. doi: 10.7863/jum.1990.9.3.157. PubMed PMID: 2407862.
38. Voigt M, Schneider KT, Jahrig K. [Analysis of a 1992 birth sample in Germany. 1: New percentile values of the body weight of newborn infants]. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1996;56(10):550-8. Epub 1996/10/01. doi: 10.1055/s-2007-1023283. PubMed PMID: 9036070.
39. Gardosi J, Chang A, Kalyan B, Sahota D, Symonds EM. Customised antenatal growth charts. *Lancet.* 1992;339(8788):283-7. Epub 1992/02/01. doi: 10.1016/0140-6736(92)91342-6. PubMed PMID: 1346292.
40. Strauss A. *Ultraschallpraxis in Geburtshilfe und Gynäkologie*: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2017.
41. Evertson LR, Gauthier RJ, Schiffrin BS, Paul RH. Antepartum fetal heart rate testing. I. Evolution of the nonstress test. *Am J Obstet Gynecol.* 1979;133(1):29-33. Epub 1979/01/01. doi: 10.1016/0002-9378(79)90406-x. PubMed PMID: 760532.
42. Mongelli M, Ek S, Tambyrajia R. Screening for fetal growth restriction: a mathematical model of the effect of time interval and ultrasound error. *Obstet Gynecol.* 1998;92(6):908-12. Epub 1998/12/05. doi: 10.1016/s0029-7844(98)00349-4. PubMed PMID: 9840547.
43. Morrow RJ, Adamson SL, Bull SB, Ritchie JW. Effect of placental embolization on the umbilical arterial velocity waveform in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(4):1055-60. Epub 1989/10/01. doi: 10.1016/0002-9378(89)90783-7. PubMed PMID: 2679101.
44. Baschat AA. Fetal growth restriction - from observation to intervention. *J Perinat Med.* 2010;38(3):239-46. Epub 2010/03/09. doi: 10.1515/jpm.2010.041. PubMed PMID: 20205623.

45. Dubiel M, Gudmundsson S, Gunnarsson G, Marsal K. Middle cerebral artery velocimetry as a predictor of hypoxemia in fetuses with increased resistance to blood flow in the umbilical artery. *Early Hum Dev.* 1997;47(2):177-84. Epub 1997/01/20. doi: 10.1016/s0378-3782(96)01777-x. PubMed PMID: 9039967.
46. Hecher K, Bilardo CM, Stigter RH, Ville Y, Hackeloer BJ, Kok HJ, et al. Monitoring of fetuses with intrauterine growth restriction: a longitudinal study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(6):564-70. Epub 2002/02/15. doi: 10.1046/j.0960-7692.2001.00590.x. PubMed PMID: 11844190.
47. Tanis JC, Boelen MR, Schmitz DM, Casarella L, van der Laan ME, Bos AF, Bilardo CM. Correlation between Doppler flow patterns in growth-restricted fetuses and neonatal circulation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48(2):210-6. Epub 2015/09/12. doi: 10.1002/uog.15744. PubMed PMID: 26358663.
48. Morales-Rosello J, Khalil A. Fetal cerebral redistribution: a marker of compromise regardless of fetal size. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(4):385-8. Epub 2015/08/01. doi: 10.1002/uog.15664. PubMed PMID: 26224656.
49. Yagel S, Kivilevitch Z, Cohen SM, Valsky DV, Messing B, Shen O, Achiron R. The fetal venous system, Part II: ultrasound evaluation of the fetus with congenital venous system malformation or developing circulatory compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;36(1):93-111. Epub 2010/03/06. doi: 10.1002/uog.7622. PubMed PMID: 20205158.
50. Platt MJ, Cans C, Johnson A, Surman G, Topp M, Torrioli MG, Krageloh-Mann I. Trends in cerebral palsy among infants of very low birthweight (<1500 g) or born prematurely (<32 weeks) in 16 European centres: a database study. *Lancet.* 2007;369(9555):43-50. Epub 2007/01/09. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60030-0. PubMed PMID: 17208641.
51. Peebles D, Kenyon, Anna. Magnesium sulphate to prevent cerebral palsy following preterm birth 2011; No. 29(No. 29):[7 p.].
52. Marret S, Marchand-Martin L, Picaud JC, Hascoet JM, Arnaud C, Roze JC, et al. Brain injury in very preterm children and neurosensory and cognitive disabilities during childhood: the EPIPAGE cohort study. *PLoS One.* 2013;8(5):e62683. Epub 2013/05/10. doi: 10.1371/journal.pone.0062683. PubMed PMID: 23658763; PubMed Central PMCID: PMC3642195.
53. Voskamp BJ, Kazemier BM, Ravelli AC, Schaaf J, Mol BW, Pajkrt E. Recurrence of small-for-gestational-age pregnancy: analysis of first and subsequent singleton pregnancies in The Netherlands. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208(5):374 e1-6. Epub 2013/02/20. doi: 10.1016/j.ajog.2013.01.045. PubMed PMID: 23419319.
54. Bujold E, Roberge S, Lacasse Y, Bureau M, Audibert F, Marcoux S, et al. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a

- meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2010;116(2 Pt 1):402-14. Epub 2010/07/29. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181e9322a. PubMed PMID: 20664402.
55. Gulmezoglu AM, Hofmeyr GJ. Bed rest in hospital for suspected impaired fetal growth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD000034. Epub 2000/05/05. doi: 10.1002/14651858.CD000034. PubMed PMID: 10796093; PubMed Central PMCID: PMCPMC7061356.
56. Duffett L, Rodger M. LMWH to prevent placenta-mediated pregnancy complications: an update. *Br J Haematol.* 2015;168(5):619-38. Epub 2014/11/18. doi: 10.1111/bjh.13209. PubMed PMID: 25399526.
57. Lumley J, Chamberlain C, Dowswell T, Oliver S, Oakley L, Watson L. Interventions for promoting smoking cessation during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;(3):CD001055. Epub 2009/07/10. doi: 10.1002/14651858.CD001055.pub3. PubMed PMID: 19588322; PubMed Central PMCID: PMCPMC4090746.
58. Rodie VA, Caslake MJ, Stewart F, Sattar N, Ramsay JE, Greer IA, Freeman DJ. Fetal cord plasma lipoprotein status in uncomplicated human pregnancies and in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Atherosclerosis.* 2004;176(1):181-7. Epub 2004/08/13. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2004.04.026. PubMed PMID: 15306192.
59. Sudhop T, Lutjohann D, von Bergmann K. Sterol transporters: targets of natural sterols and new lipid lowering drugs. *Pharmacol Ther.* 2005;105(3):333-41. Epub 2005/03/02. doi: 10.1016/j.pharmthera.2004.10.011. PubMed PMID: 15737409.
60. Herrera E, Amusquivar E, Lopez-Soldado I, Ortega H. Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. *Horm Res.* 2006;65 Suppl 3:59-64. Epub 2006/04/14. doi: 10.1159/000091507. PubMed PMID: 16612115.
61. Palinski W. Maternal-fetal cholesterol transport in the placenta: good, bad, and target for modulation. *Circ Res.* 2009;104(5):569-71. Epub 2009/03/17. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.194191. PubMed PMID: 19286612.
62. Woollett LA. Maternal cholesterol in fetal development: transport of cholesterol from the maternal to the fetal circulation. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(6):1155-61. Epub 2005/12/08. doi: 10.1093/ajcn/82.6.1155. PubMed PMID: 16332646.
63. Herrera E. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. *Endocrine.* 2002;19(1):43-55. Epub 2003/02/14. doi: 10.1385/ENDO:19:1:43. PubMed PMID: 12583601.
64. Hill DJ, Milner RD. Insulin as a growth factor. *Pediatr Res.* 1985;19(9):879-86. Epub 1985/09/01. doi: 10.1203/00006450-198509000-00001. PubMed PMID: 2413420.

65. Spencer JA, Chang TC, Crook D, Proudler A, Felton CV, Robson SC, Hauesler M. Third trimester fetal growth and measures of carbohydrate and lipid metabolism in umbilical venous blood at term. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1997;76(1):F21-5. Epub 1997/01/01. doi: 10.1136/fn.76.1.f21. PubMed PMID: 9059181; PubMed Central PMCID: PMCPMC1720609.
66. Merzouk H, Meghelli-Bouchenak M, el-Korso N, Belleville J, Prost J. Low birth weight at term impairs cord serum lipoprotein compositions and concentrations. *Eur J Pediatr.* 1998;157(4):321-6. Epub 1998/05/14. doi: 10.1007/s004310050820. PubMed PMID: 9578970.
67. Roberts A, Nava S, Bocconi L, Salmona S, Nicolini U. Liver function tests and glucose and lipid metabolism in growth-restricted fetuses. *Obstet Gynecol.* 1999;94(2):290-4. Epub 1999/08/04. doi: 10.1016/s0029-7844(99)00235-5. PubMed PMID: 10432145.
68. Bon C, Raudrant D, Poloce F, Champion F, Golfier F, Pichot J, Revol A. [Biochemical profile of fetal blood sampled by cordocentesis in 35 pregnancies complicated by growth retardation]. *Pathol Biol (Paris).* 2007;55(2):111-20. Epub 2006/07/04. doi: 10.1016/j.patbio.2006.04.009. PubMed PMID: 16815643.
69. Pecks U, Brieger M, Schiessl B, Bauerschlag DO, Piroth D, Bruno B, et al. Maternal and fetal cord blood lipids in intrauterine growth restriction. *J Perinat Med.* 2012;40(3):287-96. Epub 2012/04/17. doi: 10.1515/jpm.2011.135. PubMed PMID: 22505508.
70. Nagano N, Okada T, Fukamachi R, Yoshikawa K, Munakata S, Usukura Y, et al. Insulin-like growth factor-1 and lipoprotein profile in cord blood of preterm small for gestational age infants. *J Dev Orig Health Dis.* 2013;4(6):507-12. Epub 2014/06/14. doi: 10.1017/S2040174413000408. PubMed PMID: 24924229.
71. Pecks U, Rath W, Maass N, Berger B, Lueg I, Farrokh A, et al. Fetal gender and gestational age differentially affect PCSK9 levels in intrauterine growth restriction. *Lipids Health Dis.* 2016;15(1):193. Epub 2016/11/16. doi: 10.1186/s12944-016-0365-6. PubMed PMID: 27842594; PubMed Central PMCID: PMCPMC5109703.
72. Wyne KL, Woollett LA. Transport of maternal LDL and HDL to the fetal membranes and placenta of the Golden Syrian hamster is mediated by receptor-dependent and receptor-independent processes. *J Lipid Res.* 1998;39(3):518-30. Epub 1998/04/21. PubMed PMID: 9548585.
73. Furuhashi M, Seo H, Mizutani S, Narita O, Tomoda Y, Matsui N. Expression of low density lipoprotein receptor gene in human placenta during pregnancy. *Mol Endocrinol.* 1989;3(8):1252-6. Epub 1989/08/01. doi: 10.1210/mend-3-8-1252. PubMed PMID: 2571080.
74. Wittmaack FM, Gafvels ME, Bronner M, Matsuo H, McCrae KR, Tomaszewski JE, et al. Localization and regulation of the human very low density lipoprotein/apolipoprotein-E

- receptor: trophoblast expression predicts a role for the receptor in placental lipid transport. *Endocrinology*. 1995;136(1):340-8. Epub 1995/01/01. doi: 10.1210/endo.136.1.7828550. PubMed PMID: 7828550.
75. Wadsack C, Hammer A, Levak-Frank S, Desoye G, Kozarsky KF, Hirschmugl B, et al. Selective cholesteryl ester uptake from high density lipoprotein by human first trimester and term villous trophoblast cells. *Placenta*. 2003;24(2-3):131-43. Epub 2003/02/05. doi: 10.1053/plac.2002.0912. PubMed PMID: 12566239.
76. Madsen EM, Lindegaard ML, Andersen CB, Damm P, Nielsen LB. Human placenta secretes apolipoprotein B-100-containing lipoproteins. *J Biol Chem*. 2004;279(53):55271-6. Epub 2004/10/27. doi: 10.1074/jbc.M411404200. PubMed PMID: 15504742.
77. Dube E, Ethier-Chiasson M, Lafond J. Modulation of cholesterol transport by insulin-treated gestational diabetes mellitus in human full-term placenta. *Biol Reprod*. 2013;88(1):16. Epub 2012/12/12. doi: 10.1095/biolreprod.112.105619. PubMed PMID: 23221398.
78. Moreau RA, Whitaker BD, Hicks KB. Phytosterols, phytosteranols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Prog Lipid Res*. 2002;41(6):457-500. Epub 2002/08/10. doi: 10.1016/s0163-7827(02)00006-1. PubMed PMID: 12169300.
79. Clouse SD. Brassinosteroids. Plant counterparts to animal steroid hormones? *Vitam Horm*. 2002;65:195-223. Epub 2002/12/17. doi: 10.1016/s0083-6729(02)65065-4. PubMed PMID: 12481548.
80. Bajguz A, Tretyn A. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*. 2003;62(7):1027-46. Epub 2003/02/20. doi: 10.1016/s0031-9422(02)00656-8. PubMed PMID: 12591256.
81. Bean GA. Phytosterols. *Adv Lipid Res*. 1973;11:193-218. Epub 1973/01/01. PubMed PMID: 4581569.
82. Weihrauch JL, Gardner JM. Sterol content of foods of plant origin. *J Am Diet Assoc*. 1978;73(1):39-47. Epub 1978/07/01. PubMed PMID: 659760.
83. Kritchevsky D. Phytosterols. *Adv Exp Med Biol*. 1997;427:235-43. Epub 1997/01/01. doi: 10.1007/978-1-4615-5967-2_24. PubMed PMID: 9361848.
84. Lutjohann D. Sterol autoxidation: from phytosterols to oxyphytosterols. *Br J Nutr*. 2004;91(1):3-4. Epub 2004/01/30. doi: 10.1079/bjn20031048. PubMed PMID: 14748933.
85. Piironen V, Lindsay, DG, Miettinen, TA, Toivo, J, Lampi, AM. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J Sci Food Agric*. 2000;80:939-66.
86. Piironen V, Toivo, J, Lampi, AM. Plant Sterols in Cereals and Cereal Products. *Cereal Chemistry*. 2002;79(1):148-54.

87. von Bergmann K, Sudhop T, Lutjohann D. Cholesterol and plant sterol absorption: recent insights. *Am J Cardiol.* 2005;96(1A):10D-4D. Epub 2005/07/05. doi: 10.1016/j.amjcard.2005.03.014. PubMed PMID: 15992510.
88. Sudhop T, Sahin Y, Lindenthal B, Hahn C, Luers C, Berthold HK, von Bergmann K. Comparison of the hepatic clearances of campesterol, sitosterol, and cholesterol in healthy subjects suggests that efflux transporters controlling intestinal sterol absorption also regulate biliary secretion. *Gut.* 2002;51(6):860-3. Epub 2002/11/13. doi: 10.1136/gut.51.6.860. PubMed PMID: 12427790; PubMed Central PMCID: PMCPMC1773453.
89. Davis HR, Jr., Zhu LJ, Hoos LM, Tetzloff G, Maguire M, Liu J, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *J Biol Chem.* 2004;279(32):33586-92. Epub 2004/06/03. doi: 10.1074/jbc.M405817200. PubMed PMID: 15173162.
90. Gylling H, Simonen P. Phytosterols, Phytostanols, and Lipoprotein Metabolism. *Nutrients.* 2015;7(9):7965-77. Epub 2015/09/24. doi: 10.3390/nu7095374. PubMed PMID: 26393644; PubMed Central PMCID: PMCPMC4586569.
91. Nguyen TM, Sawyer JK, Kelley KL, Davis MA, Kent CR, Rudel LL. ACAT2 and ABCG5/G8 are both required for efficient cholesterol absorption in mice: evidence from thoracic lymph duct cannulation. *J Lipid Res.* 2012;53(8):1598-609. Epub 2012/06/07. doi: 10.1194/jlr.M026823. PubMed PMID: 22669916; PubMed Central PMCID: PMCPMC3540850.
92. Field FJ, Born E, Mathur SN. LXR/RXR ligand activation enhances basolateral efflux of beta-sitosterol in CaCo-2 cells. *J Lipid Res.* 2004;45(5):905-13. Epub 2004/03/03. doi: 10.1194/jlr.M300473-JLR200. PubMed PMID: 14993242.
93. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science.* 2000;290(5497):1771-5. Epub 2000/12/02. doi: 10.1126/science.290.5497.1771. PubMed PMID: 11099417.
94. Yu L, von Bergmann K, Lutjohann D, Hobbs HH, Cohen JC. Selective sterol accumulation in ABCG5/ABCG8-deficient mice. *J Lipid Res.* 2004;45(2):301-7. Epub 2003/12/06. doi: 10.1194/jlr.M300377-JLR200. PubMed PMID: 14657202.
95. Boberg KM, Einarsson K, Björkhem I. Apparent lack of conversion of sitosterol into C24-bile acids in humans. *J Lipid Res.* 1990;31(6):1083-8. Epub 1990/06/01. PubMed PMID: 2373958.
96. Björkhem I, Boberg KM, Leitersdorf E. Inborn errors in bile acid biosynthesis and storage of sterols other than cholesterol. Shriver C, Beaudet AL, editor: Ed McGraw-Hill, New York; 2001.

97. Racette SB, Lin X, Lefevre M, Spearie CA, Most MM, Ma L, Ostlund RE, Jr. Dose effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism: a controlled feeding study. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(1):32-8. Epub 2009/11/06. doi: 10.3945/ajcn.2009.28070. PubMed PMID: 19889819; PubMed Central PMCID: PMCPMC2793103.
98. Gylling H, Plat J, Turley S, Ginsberg HN, Ellegard L, Jessup W, et al. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 2014;232(2):346-60. Epub 2014/01/29. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.11.043. PubMed PMID: 24468148.
99. Hassan AS, Rampone AJ. Effect of beta-sitosterol (5 alpha-stigmastan-3 beta-ol) on cholesterol absorption from micellar solutions in jejunal loops in situ. *Steroids.* 1980;36(6):731-41. Epub 1980/12/01. doi: 10.1016/0039-128x(80)90056-2. PubMed PMID: 7210062.
100. Armstrong MJ, Carey MC. Thermodynamic and molecular determinants of sterol solubilities in bile salt micelles. *J Lipid Res.* 1987;28(10):1144-55. Epub 1987/10/01. PubMed PMID: 3681139.
101. Nissinen M, Gylling H, Vuoristo M, Miettinen TA. Micellar distribution of cholesterol and phytosterols after duodenal plant stanol ester infusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;282(6):G1009-15. Epub 2002/05/23. doi: 10.1152/ajpgi.00446.2001. PubMed PMID: 12016126.
102. Vuorio AF, Miettinen TA, Turtola H, Oksanen H, Gylling H. Cholesterol metabolism in normal and heterozygous familial hypercholesterolemic newborns. *J Lab Clin Med.* 2002;140(1):35-42. Epub 2002/06/25. doi: 10.1067/mlc.2002.125214. PubMed PMID: 12080326.
103. Baardman ME, Erwich JJ, Berger RM, Hofstra RM, Kerstjens-Frederikse WS, Lutjohann D, Plosch T. The origin of fetal sterols in second-trimester amniotic fluid: endogenous synthesis or maternal-fetal transport? *Am J Obstet Gynecol.* 2012;207(3):202 e19-25. Epub 2012/06/26. doi: 10.1016/j.ajog.2012.06.003. PubMed PMID: 22728028.
104. Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements--a prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;151(3):333-7. Epub 1985/02/01. doi: 10.1016/0002-9378(85)90298-4. PubMed PMID: 3881966.
105. Lutjohann D, Brzezinka A, Barth E, Abramowski D, Staufenbiel M, von Bergmann K, et al. Profile of cholesterol-related sterols in aged amyloid precursor protein transgenic mouse brain. *J Lipid Res.* 2002;43(7):1078-85. Epub 2002/07/02. doi: 10.1194/jlr.m200071-jlr200. PubMed PMID: 12091492.

106. Mackay DS, Jones PJ, Myrie SB, Plat J, Lutjohann D. Methodological considerations for the harmonization of non-cholesterol sterol bio-analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014;957:116-22. Epub 2014/03/29. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.02.052. PubMed PMID: 24674990.
107. Taubert A, Silva LMR, Velasquez ZD, Larrazabal C, Lutjohann D, Hermosilla C. Modulation of cholesterol-related sterols during *Eimeria bovis* macromeront formation and impact of selected oxysterols on parasite development. *Mol Biochem Parasitol.* 2018;223:1-12. Epub 2018/06/18. doi: 10.1016/j.molbiopara.2018.06.002. PubMed PMID: 29909067.
108. Dudenhausen JW, Maier RF. Perinatal problems in multiple births. *Dtsch Arztebl Int.* 2010;107(38):663-8. Epub 20100924. doi: 10.3238/arztebl.2010.0663. PubMed PMID: 20953254; PubMed Central PMCID: PMC2954517.
109. Johnson L, Llewellyn CH, van Jaarsveld CH, Cole TJ, Wardle J. Genetic and environmental influences on infant growth: prospective analysis of the Gemini twin birth cohort. *PLoS One.* 2011;6(5):e19918. Epub 20110527. doi: 10.1371/journal.pone.0019918. PubMed PMID: 21637764; PubMed Central PMCID: PMC3103521.
110. Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res.* 2004;45(7):1169-96. Epub 20040421. doi: 10.1194/jlr.R300019-JLR200. PubMed PMID: 15102878.
111. Maxwell SR, Moots RJ, Kendall MJ. Corticosteroids: do they damage the cardiovascular system? *Postgrad Med J.* 1994;70(830):863-70. doi: 10.1136/pgmj.70.830.863. PubMed PMID: 7870631; PubMed Central PMCID: PMC2398024.
112. Choi HK, Seeger JD. Glucocorticoid use and serum lipid levels in US adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis Rheum.* 2005;53(4):528-35. doi: 10.1002/art.21329. PubMed PMID: 16082633.
113. Vermeulen GM, Bruinse HW, de Vries LS. Perinatal risk factors for adverse neurodevelopmental outcome after spontaneous preterm birth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;99(2):207-12. doi: 10.1016/s0301-2115(01)00383-9. PubMed PMID: 11788173.
114. Petrou S, Mehta Z, Hockley C, Cook-Mozaffari P, Henderson J, Goldacre M. The impact of preterm birth on hospital inpatient admissions and costs during the first 5 years of life. *Pediatrics.* 2003;112(6 Pt 1):1290-7. doi: 10.1542/peds.112.6.1290. PubMed PMID: 14654599.
115. Davey MA, Watson L, Rayner JA, Rowlands S. Risk scoring systems for predicting preterm birth with the aim of reducing associated adverse outcomes. *Cochrane Database*

Syst Rev. 2011;(11):CD004902. Epub 20111109. doi: 10.1002/14651858.CD004902.pub4. PubMed PMID: 22071815.

116. Langer T, Strober W, Levy RI. The metabolism of low density lipoprotein in familial type II hyperlipoproteinemia. *J Clin Invest.* 1972;51(6):1528-36. doi: 10.1172/JCI106949. PubMed PMID: 4336943; PubMed Central PMCID: PMCPMC292290.

117. Hadlock FP, Deter RL, Harrist RB, Park SK. Estimating fetal age: computer-assisted analysis of multiple fetal growth parameters. *Radiology.* 1984;152(2):497-501. Epub 1984/08/01. doi: 10.1148/radiology.152.2.6739822. PubMed PMID: 6739822.

118. Zellner K, Jaeger U, Kromeyer-Hauschild K. Height, weight and BMI of schoolchildren in Jena, Germany--are the secular changes levelling off? *Econ Hum Biol.* 2004;2(2):281-94. doi: 10.1016/j.ehb.2004.04.006. PubMed PMID: 15464007.

119. Hansen WE, Seitz I, Ortner A. [Effect of body posture and venous congestion on blood fat picture]. *Dtsch Med Wochenschr.* 1990;115(11):408-11. doi: 10.1055/s-2008-1065022. PubMed PMID: 2311517.

120. Perkins SL, Livesey JF, Belcher J. Reference intervals for 21 clinical chemistry analytes in arterial and venous umbilical cord blood. *Clin Chem.* 1993;39(6):1041-4. PubMed PMID: 8504535.

121. Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasuncion MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. *J Lipid Res.* 1996;37(2):299-308. PubMed PMID: 9026528.

122. Back P, Hamprecht B, Lynen F. Regulation of cholesterol biosynthesis in rat liver: diurnal changes of activity and influence of bile acids. *Arch Biochem Biophys.* 1969;133(1):11-21. doi: 10.1016/0003-9861(69)90482-2. PubMed PMID: 5810824.

123. Seron-Ferre M, Torres-Farfan C, Forcelledo ML, Valenzuela GJ. The development of circadian rhythms in the fetus and neonate. *Semin Perinatol.* 2001;25(6):363-70. doi: 10.1053/sper.2001.29037. PubMed PMID: 11778907.

124. Schott HF, Lutjohann D. Validation of an isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry method for combined analysis of oxysterols and oxyphytosterols in serum samples. *Steroids.* 2015;99(Pt B):139-50. Epub 20150217. doi: 10.1016/j.steroids.2015.02.006. PubMed PMID: 25701095.

125. Pecks U, Caspers R, Schiessl B, Bauerschlag D, Piroth D, Maass N, Rath W. The evaluation of the oxidative state of low-density lipoproteins in intrauterine growth restriction and preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2012;31(1):156-65. Epub 20110120. doi: 10.3109/10641955.2010.544805. PubMed PMID: 21250891.

126. Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G, Palinski W. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal

hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*.

1997;100(11):2680-90. doi: 10.1172/JCI119813. PubMed PMID: 9389731; PubMed Central PMCID: PMCPMC508471.

127. Sattar N, Greer IA, Loudon J, Lindsay G, McConnell M, Shepherd J, Packard CJ. Lipoprotein subfraction changes in normal pregnancy: threshold effect of plasma triglyceride on appearance of small, dense low density lipoprotein. *J Clin Endocrinol Metab*.

1997;82(8):2483-91. doi: 10.1210/jcem.82.8.4126. PubMed PMID: 9253322.

128. Herrera E. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. *Eur J Clin Nutr*. 2000;54 Suppl 1:S47-51. doi: 10.1038/sj.ejcn.1600984. PubMed PMID: 10805038.

129. Haggarty P. Placental regulation of fatty acid delivery and its effect on fetal growth--a review. *Placenta*. 2002;23 Suppl A:S28-38. doi: 10.1053/plac.2002.0791. PubMed PMID: 11978057.

130. Pecks U, Mohaupt MG, Hutten MC, Maass N, Rath W, Escher G. Cholesterol acceptor capacity is preserved by different mechanisms in preterm and term fetuses. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1841(2):251-8. doi: 10.1016/j.bbalip.2013.11.008. PubMed PMID: 24291326.

131. Wadsack C, Tabano S, Maier A, Hiden U, Alvino G, Cozzi V, et al. Intrauterine growth restriction is associated with alterations in placental lipoprotein receptors and maternal lipoprotein composition. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;292(2):E476-84. Epub 20060926. doi: 10.1152/ajpendo.00547.2005. PubMed PMID: 17003234.

132. Chassen SS, Ferchaud-Roucher V, Gupta MB, Jansson T, Powell TL. Alterations in placental long chain polyunsaturated fatty acid metabolism in human intrauterine growth restriction. *Clin Sci (Lond)*. 2018;132(5):595-607. Epub 20180315. doi: 10.1042/CS20171340. PubMed PMID: 29463583.

133. Chaddha V, Viero S, Huppertz B, Kingdom J. Developmental biology of the placenta and the origins of placental insufficiency. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2004;9(5):357-69. Epub 2005/02/05. doi: 10.1016/j.siny.2004.03.006. PubMed PMID: 15691771.

134. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension*. 2008;51(4):970-5. Epub 20080207. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.107607. PubMed PMID: 18259009.

135. Kiserud T, Kessler J, Ebbing C, Rasmussen S. Ductus venosus shunting in growth-restricted fetuses and the effect of umbilical circulatory compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006;28(2):143-9. doi: 10.1002/uog.2784. PubMed PMID: 16770753.

136. Campbell S, Thoms A. Ultrasound measurement of the fetal head to abdomen circumference ratio in the assessment of growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1977;84(3):165-74. doi: 10.1111/j.1471-0528.1977.tb12550.x. PubMed PMID: 843490.
137. Flood K, Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, et al. The role of brain sparing in the prediction of adverse outcomes in intrauterine growth restriction: results of the multicenter PORTO Study. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(3):288 e1-5. Epub 20140506. doi: 10.1016/j.ajog.2014.05.008. PubMed PMID: 24813969.
138. Molina Giraldo S, Alfonso Ayala DA, Arreaza Graterol M, Perez Olivo JL, Solano Montero AF. Three-dimensional Doppler ultrasonography for the assessment of fetal liver vascularization in fetuses with intrauterine growth restriction. *Int J Gynaecol Obstet.* 2019;144(3):260-4. Epub 20181205. doi: 10.1002/ijgo.12715. PubMed PMID: 30447077.
139. Lane RH, Kelley DE, Gruetzmacher EM, Devaskar SU. Uteroplacental insufficiency alters hepatic fatty acid-metabolizing enzymes in juvenile and adult rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001;280(1):R183-90. doi: 10.1152/ajpregu.2001.280.1.R183. PubMed PMID: 11124150.
140. Lane DM, McConathy WJ. Factors affecting the lipid and apolipoprotein levels of cord sera. *Pediatr Res.* 1983;17(2):83-91. doi: 10.1203/00006450-198302000-00001. PubMed PMID: 6828336.
141. Loughrey CM, Rimm E, Heiss G, Rifai N. Race and gender differences in cord blood lipoproteins. *Atherosclerosis.* 2000;148(1):57-65. doi: 10.1016/s0021-9150(99)00238-5. PubMed PMID: 10580171.
142. Nagano N, Okada T, Yonezawa R, Yoshikawa K, Fujita H, Usukura Y, et al. Early postnatal changes of lipoprotein subclass profile in late preterm infants. *Clin Chim Acta.* 2012;413(1-2):109-12. Epub 20110922. doi: 10.1016/j.cca.2011.09.010. PubMed PMID: 21963460.
143. Shoji H, Murano Y, Mori M, Matsunaga N, Ohkawa N, Suganuma H, et al. Lipid profile and atherogenic indices soon after birth in Japanese preterm infants. *Acta Paediatr.* 2014;103(1):22-6. Epub 20131109. doi: 10.1111/apa.12436. PubMed PMID: 24117869.
144. Cavender CP, Turley SD, Dietschy JM. Sterol metabolism in fetal, newborn, and suckled lambs and their response to cholesterol after weaning. *Am J Physiol.* 1995;269(2 Pt 1):E331-40. doi: 10.1152/ajpendo.1995.269.2.E331. PubMed PMID: 7653550.
145. Cai HJ, Xie CL, Chen Q, Chen XY, Chen YH. The relationship between hepatic low-density lipoprotein receptor activity and serum cholesterol level in the human fetus. *Hepatology.* 1991;13(5):852-7. PubMed PMID: 2029989.
146. Sexton M, Hebel JR. A clinical trial of change in maternal smoking and its effect on birth weight. *JAMA.* 1984;251(7):911-5. PubMed PMID: 6363731.

147. England LJ, Kendrick JS, Wilson HG, Merritt RK, Gargiullo PM, Zahniser SC. Effects of smoking reduction during pregnancy on the birth weight of term infants. *Am J Epidemiol.* 2001;154(8):694-701. doi: 10.1093/aje/154.8.694. PubMed PMID: 11590081.
148. Ong KK, Preece MA, Emmett PM, Ahmed ML, Dunger DB, Team AS. Size at birth and early childhood growth in relation to maternal smoking, parity and infant breast-feeding: longitudinal birth cohort study and analysis. *Pediatr Res.* 2002;52(6):863-7. doi: 10.1203/00006450-200212000-00009. PubMed PMID: 12438662.
149. Hammoud AO, Bujold E, Sorokin Y, Schild C, Krapp M, Baumann P. Smoking in pregnancy revisited: findings from a large population-based study. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(6):1856-62; discussion 62-3. doi: 10.1016/j.ajog.2004.12.057. PubMed PMID: 15970831.
150. Quigley ME, Sheehan KL, Wilkes MM, Yen SS. Effects of maternal smoking on circulating catecholamine levels and fetal heart rates. *Am J Obstet Gynecol.* 1979;133(6):685-90. doi: 10.1016/0002-9378(79)90019-x. PubMed PMID: 426024.
151. Slotkin TA. Fetal nicotine or cocaine exposure: which one is worse? *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;285(3):931-45. PubMed PMID: 9618392.
152. Czekaj P, Palasz A, Lebda-Wyborny T, Nowaczyk-Dura G, Karczewska W, Florek E, Kaminski M. Morphological changes in lungs, placenta, liver and kidneys of pregnant rats exposed to cigarette smoke. *Int Arch Occup Environ Health.* 2002;75 Suppl:S27-35. Epub 20020706. doi: 10.1007/s00420-002-0343-3. PubMed PMID: 12397408.
153. Anblagan D, Jones NW, Costigan C, Parker AJ, Allcock K, Aleong R, et al. Maternal smoking during pregnancy and fetal organ growth: a magnetic resonance imaging study. *PLoS One.* 2013;8(7):e67223. Epub 20130703. doi: 10.1371/journal.pone.0067223. PubMed PMID: 23843995; PubMed Central PMCID: PMC3700970.
154. O'Shaughnessy PJ, Monteiro A, Bhattacharya S, Fraser MJ, Fowler PA. Steroidogenic enzyme expression in the human fetal liver and potential role in the endocrinology of pregnancy. *Mol Hum Reprod.* 2013;19(3):177-87. Epub 20121129. doi: 10.1093/molehr/gas059. PubMed PMID: 23197595.
155. Zhang G, Zhou J, Huang W, Yu L, Zhang Y, Wang H. Placental mechanism of prenatal nicotine exposure-reduced blood cholesterol levels in female fetal rats. *Toxicol Lett.* 2018;296:31-8. Epub 20180720. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.07.022. PubMed PMID: 30036686.
156. Hegele RA, Ban MR, Busch CP, Ramsewak S, Ramdath DD. Lipoprotein-genotype associations in Trinidadian neonates. *Clin Biochem.* 1999;32(6):429-37. doi: 10.1016/s0009-9120(99)00035-1. PubMed PMID: 10667478.

157. Koklu E, Kurtoglu S, Akcakus M, Koklu S, Buyukkayhan D, Gumus H, Yikilmaz A. Increased aortic intima-media thickness is related to lipid profile in newborns with intrauterine growth restriction. *Horm Res.* 2006;65(6):269-75. Epub 20060405. doi: 10.1159/000092536. PubMed PMID: 16601348.
158. Shah PS, Knowledge Synthesis Group on Determinants of LBWPTb. Parity and low birth weight and preterm birth: a systematic review and meta-analyses. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2010;89(7):862-75. doi: 10.3109/00016349.2010.486827. PubMed PMID: 20583931.
159. Mukhamedova N, Escher G, D'Souza W, Tchoua U, Grant A, Krozowski Z, et al. Enhancing apolipoprotein A-I-dependent cholesterol efflux elevates cholesterol export from macrophages in vivo. *J Lipid Res.* 2008;49(11):2312-22. Epub 20080712. doi: 10.1194/jlr.M800095-JLR200. PubMed PMID: 18622028; PubMed Central PMCID: PMC5475370.
160. Rajaratnam RA, Gylling H, Miettinen TA. Independent association of serum squalene and noncholesterol sterols with coronary artery disease in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(5):1185-91. doi: 10.1016/s0735-1097(00)00527-1. PubMed PMID: 10758959.
161. Sabeva NS, McPhaul CM, Li X, Cory TJ, Feola DJ, Graf GA. Phytosterols differentially influence ABC transporter expression, cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells. *J Nutr Biochem.* 2011;22(8):777-83. Epub 20101215. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.07.002. PubMed PMID: 21111593; PubMed Central PMCID: PMC3075387.

7 Anhang

7.1 Publikationen und wissenschaftliche Konferenzen

Auszüge dieser Arbeit waren Bestandteil folgender Publikationen und Kongressbeiträge.

7.1.1 Publikationen

Pecks U, Bornemann V, **Klein A**, Segger L, Maass N, Alkatout I, Eckmann-Scholz C, Ellessawy M, Lütjohann D. Estimating fetal cholesterol synthesis rates by cord blood analysis in intrauterine growth restriction and normally grown fetuses. *Lipids Health Dis.* 2019 Oct 25;18(1):185. doi: 10.1186/s12944-019-1117-1.

Pecks U, Bornemann V, Segger L, **Klein A**, Maass N, Lütjohann D. OP 51 Fetal cholesterol deprivation in IUGR is caused by lower fetal synthesis rates. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health* 2017;9:32. doi:10.1016/j.preghy.2017.07.072.

7.1.2 Wissenschaftliche Konferenzen

09.2017 Posterpräsentation auf dem ISSHP European Congress (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy)

Titel: Plant sterol concentrations suggest unaffected maternoplacental cholesterol supply to the fetus in IUGR (**Klein A**, Maass N, Eckmann-Scholz C, Lütjohann D, Pecks U)

7.2 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt zunächst meinem Doktorvater, Herrn Professor Pecks, für dieses spannende Dissertationsthema und die Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Maass danke ich für die Möglichkeit, meine Dissertation an der Frauenklinik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel verfassen zu dürfen.

Besonderen Dank möchte ich an Frau Laura Segger, Frau Verena Bornemann und Frau Claudia Baum aussprechen. Die stetige gegenseitige Unterstützung bei der Datenerhebung und der wertvolle Austausch im Rahmen der Datenanalyse haben mich stets motiviert. Ebenso danke ich Frau Catharina Verkooyen und Frau Dr. Sabrina Farrokh für die Aufbereitung der Blutproben sowie den Teams der Frauenkliniken des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel und der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen für die Unterstützung bei dieser Dissertation.

Den Probandinnen der Studie danke ich für die Teilnahme und die Bereitstellung Ihrer Daten.

Meiner Schwester, Frau Dr. rer. nat. Marika Enders, möchte ich ganz besonders danken. Du bist mein Antrieb, mein größter Kritiker und meine Stütze gewesen.

Meinem Mann, Herrn Oliver Ertel, danke ich für den Glauben an mich und die uneingeschränkte Unterstützung bei meinem Weg Ärztin zu werden und dieses große Ziel nun mit dieser Arbeit abzurunden.