

Universitätsspital Zürich  
Departement für Frauenheilkunde  
Vorsteher: Prof. Dr. med. R. Zimmermann

Klinik für Geburtshilfe  
Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. R. Zimmermann

Arbeit unter Leitung von Dr. med. L. Schäffer und Prof. Dr. med. E. Beinder

# **EINFLUSS DER LUNGENREIFUNGSINDUKTION AUF DIE KARDIALE AUTONOME REGULATION BEI NEUGEBORENEN**

## **INGUINAL-DISSERTATION**

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät  
der Universität Zürich

vorgelegt von

Sina Schmidt

von Niederlenz AG

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Zusammenfassung .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Einleitung .....</b>	<b>5</b>
<b>3. Probanden und Methodik.....</b>	<b>7</b>
<b>3.1 Studienkollektiv .....</b>	<b>7</b>
3.1.1 Probanden.....	7
3.1.2 Ausschlusskriterien .....	8
<b>3.2 Datenaquisition.....</b>	<b>8</b>
3.2.1 24h-Holter-EKG (HRV-Messungen).....	8
3.2.2 $\alpha$ -Amylase-Messung im Speichel.....	10
3.2.3 Statistische Analysen .....	12
<b>4. Resultate .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1 HRV – Messungen .....</b>	<b>13</b>
4.1.1 Demographische Daten .....	13
4.1.2 Time Domain Parameter .....	14
4.1.3 Frequency Domain Parameter .....	14
<b>4.2 <math>\alpha</math>-Amylase – Messungen.....</b>	<b>16</b>
4.2.1 Demographische Daten .....	16
4.2.2 $\alpha$ -Amylase – Werte.....	17
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>18</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>26</b>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>27</b>
<b>Danksagung .....</b>	<b>31</b>
<b>Lebenslauf.....</b>	<b>32</b>

# 1. Zusammenfassung

**Hintergrund.** Die Lungenreifungsinduktion (LRI) mit Betamethason bei drohender Frühgeburt vor der abgeschlossenen 34. Schwangerschaftswoche (SSW) ist ein etabliertes Verfahren, welches zu einer signifikanten Reduktion der kindlichen Mortalität und Morbidität führt. Tierexperimentelle Studien liefern jedoch Hinweise dafür, dass neben den erwünschten Effekten möglicherweise ungünstige Langzeiteffekte bestehen könnten. So scheinen unter anderem das fetale sympathoadrenerge System und insbesondere die kardiale autonome Regulation gegenüber antenatalen Steroiden vulnerabel zu sein. Eine dauerhafte Veränderung der sympathovagalen Balance könnte dabei ein Risikofaktor für die Entstehung von Erkrankungen im späteren Leben sein.

**Methodik.** Wir analysierten die Aktivität des kardialen autonomen Systems bei termin- oder knapp termingeborenen, gesunden Neugeborenen, die vor der 34. SSW eine einmalige Lungenreifungsinduktion erhalten hatten, zu diesem Zeitpunkt eine Frühgeburt aber verhindert werden konnte (mittleres Intervall zwischen LRI und Geburt mehr als 7 Wochen). Hierzu wurden Parameter der Herzfrequenzvariabilität (heart rate variability (HRV)) mittels 24h-Holter-EKG bei 23 Neugeborenen erhoben und diese mit den Werten von 23 Kontrollkindern verglichen. Zur Ergänzung dieser elektrophysiologischen Analysen erfolgte eine Messung der  $\alpha$ -Amylase im Speichel in Ruhe sowie nach einem Stressstimulus. Diese Werte wurden mit 40 Kontrollkindern verglichen. Die  $\alpha$ -Amylase gilt als Surrogat für sympathoadrenerge Aktivität. Als Ausschlusskriterien galten mütterlicher Noxenabusus, Intensivpflichtigkeit der Kinder, Fehlbildungen sowie Geburtsgewicht unterhalb der 10. und oberhalb der 90. Gewichtsperzentile.

**Resultate.** Es lagen zwei miteinander vergleichbare Untersuchungskollektive vor. Parameter für die Gesamt-HRV (SDNN als Standardabweichung der NN-Intervalle:  $p=0.258$ ; Triangular Index:  $p=0.179$ ) und Marker der sympathovagalen Balance (low frequency (LF)/ high frequency (HF):  $p=0.553$ ) unterschieden sich nicht signifikant in beiden untersuchten Studiengruppen. Ebenso waren die sympathisch beeinflussten Parameter (SDANN (SD des durchschnittlichen NN-Intervalls berechnet aus jeweils kurzen Sequenzen):  $p=0.184$  und SDNNi (Mittelwert der SD aller NN-Intervalle):  $p=0.784$ ) wie die Marker für parasympathische Aktivität (R-MSSD (Quadratwurzel des Mittelwertes der Summe aller potenzierten Differenzen von aufeinander folgenden NN-Intervallen):  $p=1.0$ , pNN50 (Anzahl der aufeinander folgenden Intervalle, deren Differenz grösser ist als 50 ms):  $p=0.852$  und HF (high-frequency Range):  $p=0.921$ ) nicht signifikant unterschiedlich.  $\alpha$ -Amylasewerte unter

Ruhebedingungen waren in beiden Gruppen vergleichbar ( $p=0.304$ ). Während es in Reaktion auf einen Stressreiz bei den Kontrollkindern zu einem diskreten, knapp signifikanten Anstieg der  $\alpha$ -Amylase-Ausschüttung kam ( $p=0.045$ ), konnte bei den Studienkindern kein signifikanter Anstieg festgestellt werden.

**Interpretation.** Die kardiale sympathovagale Balance scheint nach einmaliger LRI bei gesunden Neugeborenen erhalten zu sein. Mögliche Langzeiteffekte einer antenatalen Steroidgabe (LRI) scheinen nicht primär durch intrauterin induzierte persistierende Veränderungen der sympathovagalen Balance verursacht zu sein

## 2. Einleitung

Die Lungenreifungsinduktion (LRI) mit Betamethason zwischen der 24. und 34. SSW bei drohender Frühgeburtlichkeit ist ein etabliertes Verfahren, welches zu einer reduzierten neonatalen Mortalität und Morbidität führt. Dies geschieht vor allem durch eine Verminderung des Risikos für die Entwicklung eines Atemnotsyndroms (Respiratory Distress Syndroms, RDS), zerebrovaskulärer Hämorrhagien oder einer nekrotisierenden Enterokolitis (NEK) wie auch einer geringeren Notwendigkeit von atemunterstützenden oder anderen intensivmedizinischen Massnahmen [1].

Glucokortikoide spielen eine wichtige Rolle bei der Reifung von sich entwickelnden Organsystemen und es konnte gezeigt werden, dass exogen zugeführte Glucokortikoide im experimentellen Modell ebenfalls Reifungsprozesse hervorrufen konnten [2-5]. Tatsächlich sind verschiedene Organsysteme, welche bei der Entwicklung einer arteriellen Hypertonie oder des metabolischen Syndroms beteiligt sind, während ihrer intrauterinen Entwicklung sensibel gegenüber einer Exposition mit Glucokortikoiden und so besteht die Möglichkeit, dass deren Balance durch Exposition während ihrer Entwicklung dauerhaft gestört werden könnte [6, 7]. Daher wird angenommen, dass glucokortikoid-induzierte Störungen der Homeostase von Regulationssystemen des Organismus eine entscheidende Rolle für den intrauterinen Ursprung von Erkrankungen im Erwachsenenalter spielen könnten [8]. Tatsächlich wurde in verschiedenen Tiermodellen ein reduziertes Geburtsgewicht, erhöhte Blutdruckwerte und Glucosetoleranzstörungen bei erwachsenen Tieren nach pränatalen Stressfaktoren oder nach wiederholten intrauterinen Kortikoidgaben beobachtet [8].

Die Stellwerte der kardiovaskulären Regulationssysteme (Blutdruck, Herzfrequenz) unterliegen zu einem wichtigen Teil der Kontrolle durch das sympathische Nervensystem. Es besteht die Annahme, dass eine veränderte sympathische Aktivität eine wichtige Rolle bei der Entwicklung und Persistenz von kardiovaskulären Krankheiten, insbesondere der arteriellen Hypertonie, spielt, auch wenn der genaue pathophysiologische Mechanismus noch nicht verstanden ist [9, 10].

Verschiedene Studien zeigen eine Empfindlichkeit des kardialen autonomen Regulationssystems gegenüber antenatalen Steroiden. So analysierten Mulder et al. [11] in einer prospektiven Studie über 5 Tage täglich während einer Stunde die FHR (fetal heart rate) bei Feten von 63 Schwangeren, welche zwischen der 26. und 34. SSW eine Lungenreifungsinduktion mit Betamethason erhalten hatten. Es konnte eine transiente

Verminderung der FHR am 1. postinterventionellen Tag nachgewiesen werden, die FHR-Variabilität hingegen war nicht verändert. Es wird postuliert, dass dieser Einfluss des Betamethason via Veränderungen der Glucokortikoidrezeptoren im Hirnstamm oder anderen Hirnarealen vermittelt wird. In einer sehr ähnlich aufgebauten Studie von Dawes et al. [12] hingegen wurden hoch signifikante kurzfristige Anstiege der fetalen Herzfrequenzvariabilität (HRV) nach Dexamethasongabe bei gesunden Feten gesehen. Ebenso lässt sich bei frühgeborenen Kindern von Betamethason-behandelten Müttern eine ausgeprägtere, signifikante Erhöhung der Herzfrequenz auf Stressreize im Vergleich zu Kindern einer nicht behandelten Kontrollgruppe nachweisen. Dies wurde in einer Studie von Davis et al. [13] beim Vergleich von jeweils 9 mit bzw. ohne Betamethason behandelten und zwischen der 33. und 34. SSW geborenen Kindern aufgezeigt. Da in dieser Studie die Messung der Herzfrequenz in Beziehung zu einem Stressreiz (Guthrie-Test zwischen dem 3. und 6. postpartalen Tag) gesetzt wurde, kann das Resultat ein Hinweis dafür sein, dass Betamethason-behandelte Kinder weniger stressresistent sind als Kinder ohne vorangehende Lungenreifungsinduktion mit Glucokortikoiden. Mutmasslich zugrunde liegende Mechanismen der veränderten Kardioregulation finden sich auf Ebene der neurohumoralen Innervation im Sinne veränderter Neurotransmitterlevel und -turnover, wie dies bei neugeborenen Ratten nach Dexamethasonapplikation an die Muttertiere gezeigt werden konnte [4], auf Ebene der zentralen Regulation des sympathischen Nervensystems und intrazellulär im Kardiomyozyten [4, 14].

In Langzeitstudien bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen, die pränatal eine Lungereifungsinduktion mit Betamethason erhalten hatten, wurde das Augenmerk mehrheitlich auf Blutdruckwerte als untersuchter Parameter gerichtet [15, 16], wobei keine einheitlichen Resultate gefunden wurden. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass eine Veränderung des Blutdruckes und kardiovaskuläre Ereignisse möglicherweise erst im weiter fortgeschrittenen Leben auftreten könnten, wenn eine allfällige, durch pränatale Steroide ausgelöste Dysbalance des sympathoadrenergen Systems nicht mehr durch andere, kompensatorisch regulierende, Systeme kompensiert werden kann. Daher bieten Analysemethoden, welche einen prädiktiven Wert besitzen, eine Möglichkeit frühzeitig Veränderungen der kardiovaskulären Regulation zu erkennen bevor es zur eigentlichen Manifestation der Erkrankungen kommt.

Eine solche Analysemethode ist die Messung der Herzfrequenzvariabilität (HRV) welche als etablierter, nicht invasiver Parameter für die Beurteilung der kardialen autonomen Regulation gilt. Die HRV wird durch eine komplexe Interaktion zwischen parasympathischen und sympathischen Nervenfunktionen des autonomen Nervensystems reguliert [17-19]. Als

sensitiver Parameter mit prädiktiver Qualität könnte sie die frühzeitige Erkennung eines potentiell erhöhten kardiovaskulären Risikoprofils erlauben.

Ein weiterer Marker für die Beurteilung der Aktivität des kardialen autonomen Systems ist die  $\alpha$ -Amylase, welche nicht invasiv im Speichel gemessen werden kann [20-22].  $\alpha$ -Amylase wird im Tiermodell bei erhöhter adrenerger Aktivität vermehrt ausgeschüttet und korreliert zudem mit verschiedenen Parametern der HRV [23, 24]. Sie wurde zur Ergänzung der elektrophysiologischen Messwerte hinzugezogen um insbesondere allfällige Veränderungen unter Belastungsbedingungen nachweisen zu können.

### **Fragestellung**

Ziel unserer Studie war es, die kardiale autonome Regulation von gesunden Neugeborenen >34 SSW zu analysieren, die wegen drohender Frühgeburtlichkeit vor der 34. SSW eine einmalige Lungenreifungsinduktion mit Betamethason erhalten hatten, aber erst in Terminnähe geboren wurden.

Wenn eine intrauterine Exposition mit Glucokortikoiden eine bleibende Wirkung auf die Entwicklung der kardialen autonomen Regulation haben sollte, würde man eine Veränderung von Parametern der sympathoadrenergen Regulation erwarten. Hierzu wurden HRV-Messungen am 4. postpartalen Tag durchgeführt und mit Analysen der  $\alpha$ -Amylase im Speichel nach einem Stressreiz ergänzt.

## **3. Probanden und Methodik**

Die Studie wurde an der Frauenklinik des Universitätsspitals Zürich durchgeführt und war durch die eidgenössische Ethikkommission genehmigt worden. Probanden wurden erst nach eingehender mündlicher Aufklärung und schriftlicher Zustimmung durch einen Elternteil in die Studie aufgenommen.

### **3.1 Studienkollektiv**

#### **3.1.1 Probanden**

Es wurden Probanden in zwei verschiedenen Gruppen aufgenommen:

1. In die Kontrollgruppe wurden gesunde Neugeborene eingeschlossen, die nach der 34. Schwangerschaftswoche (nach 238 Tagen) geboren wurden und die ein Geburtsgewicht zwischen der 10. und 90. Perzentilenkurve hatten.

2. In die Studiengruppe wurden Neugeborene mit denselben Kriterien eingeschlossen, deren Mütter zwischen der 24. und 34. SSW Betamethason zur Durchführung einer Lungenreifungsinduktion wegen der Gefahr für eine Frühgeburtlichkeit (2x12 mg im Abstand von 24 Stunden) erhalten hatten.

Da Mütter nicht immer für beide Analysen, 24h-Holter-EKG und Speichelproben für die  $\alpha$ -Amylase-Messungen, einverstanden waren wurden zwei unterschiedliche Kollektive hierfür gebildet.

### **3.1.2 Ausschlusskriterien**

Als Ausschlusskriterien wurden kindliche Fehlbildungen und notwendige postpartale Intensivmassnahmen definiert. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Neugeborene von Müttern mit Diabetes, mit HIV- oder Hepatitis C-Infektion oder bei mütterlichem Drogen- und Substanzabusus (inkl. Alkohol, Nikotin).

## **3.2 Datenaquisition**

### **3.2.1 24h-Holter-EKG (HRV-Messungen)**

Es wurden 46 24h-Holter-EKG-Messungen durchgeführt, jeweils 23 für die Studien- und 23 für die Kontrollgruppe. Die 23 Holter-EKG der Kontrollgruppe stammen aus dem Studienkollektiv einer bereits vorgängig publizierten Arbeit [25]. Dabei wurde ein 3-Kanal-Holter-EKG (Lifecard, Delmar Reynolds Medical, Hertford, UK) am 4. postnatalen Tag für 24 Stunden angelegt. Extrasystolen, Nebengeräusche und Artefakte wurden manuell von der HRV-Analyse ausgeschlossen. Um die HRV-Berechnung durchzuführen, wurde die HRV Analysis Software (Version 9.3.0) von Nevrokard ([www.nevrokard.eu](http://www.nevrokard.eu)) verwendet.

Gemäss den Empfehlungen der Task Force of the European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology [19] und spezieller Literatur zu HRV Analysen bei Neugeborenen [25-27] wurden sowohl Time Domain Parameter als auch Frequency Domain Parameter ausgewertet. Im folgenden Abschnitt sollen beide kurz erläutert und deren Bedeutung dargestellt werden.



### **Time Domain Parameter:**

- NN: Intervall von QRS zu QRS-Komplex (als Normal-zu-Normal), entspricht Herzfrequenz
- SDNN (statistischer Wert; sofern nicht anders vermerkt, alle folgenden ebenfalls): Standardabweichung (SD) der NN-Intervalle
- SDANN: SD des durchschnittlichen NN-Intervalls berechnet aus jeweils kurzen Sequenzen (normalerweise 5 Minuten) der ganzen Aufnahme
- SDNNi: Mittelwert der SD aller NN-Intervalle der 5-minütigen Segmente über 24 Stunden
- R-MSSD: Quadratwurzel des Mittelwertes der Summe aller potenzierten Differenzen von aufeinander folgenden NN-Intervallen
- NN50: Anzahl der aufeinander folgenden Intervalle, deren Differenz grösser ist als 50 ms (ebenso für NN27, NN20)
- pNN50 (in %): der Anteil der NN50 von allen NN-Intervallen (ebenso für pNN27, pNN20)
- HRV Triangular Index (geometrischer Wert): Anzahl aller NN-Intervalle dividiert durch die Höhe des Histogramms aller NN-Intervalle gemessen auf einer diskreten Skala mit „bins“ von 7.8125 ms (1/128 s)

Als Parameter für die Gesamt-HRV werden SDNN und HRV Triangular Index verwendet, SDANN als Parameter für die langzeitigen und R-MSSD die kurzzeitigen Komponenten der HRV. Vorwiegend parasympathisch beeinflusst sind R-MSSD, NN50 und pNN50, vorwiegend durch den Sympathikus sind SDANN und SDNNi beeinflusst.

### **Frequency Domain Parameter:**

Eine Power Spectral Analyse wurde mittels Fast Fourier Transformation (Hamming window) in 4 Frequenzbereichen durchgeführt. Metha et al [27] benutzen in ihrer Übersicht über normale HRV-Werte bei Neugeborenen die in [19] empfohlenen Daten für Erwachsene. Wie Fortrat [26] in seinem Kommentar ausführt, mögen diese Frequenzbanden für Neugeborene nicht angemessen sein. Deshalb haben wir als high-frequency Range (HF) 0.24-1.04 Hertz, als low-frequency (LF) 0.04-24 Hz, als very low-frequency (VLF) 0.003-0.04 Hz und als ultra low-frequency (ULF) 0.000-0.003 Hz definiert. Dabei repräsentiert die HF die Parasympathikus-Aktivität, die LF sowohl sympathische als auch parasympathische Aktivität.

Die Total Power ( $\text{ms}^2$ ) und die LF/HF Ratio werden als Marker des sympathisch-parasympathischen Gleichgewichtes verwendet. Die physiologische Bedeutung von VLF und ULF ist noch nicht endgültig geklärt.

### **Korrelation zwischen Time und Frequency Domain**

Es besteht eine enge Beziehung zwischen verschiedenen Parametern der Time- und der Frequency Domain. Dies gründet sowohl auf statistischen wie auch physiologischen Ursachen. So korrelieren der SDNN und der HRV Triangular Index eng mit der Total Power, der SDANN mit der ULF und die R-MSSD, NN50 count und pNN50 mit der HF, wie dies in [19] genau ausgeführt wird.

### **3.2.2 $\alpha$ -Amylase-Messung im Speichel**

Um die sympathische Aktivität des autonomen Nervensystems und deren Reaktivität auf einen Stressreiz zu prüfen, wurde die  $\alpha$ -Amylase im Speichel als neurohumoraler Marker zur Ergänzung der elektrophysiologischen HRV herangezogen.

Die  $\alpha$ -Amylase wurde im Speichel von 40 Neugeborenen als Kontrollgruppe (ebenfalls aus bereits publiziertem Kollektiv von [25]) und von 23 Neugeborenen als Studiengruppe gemessen. Wie oben ausgeführt handelt es sich dabei nicht um dasselbe Kollektiv wie bei den Holter-EKG-Messungen.

Chatterton et al. [20] zeigten, dass die  $\alpha$ -Amylase im Speichel mit Werten der Plasmakatecholamine (insbesondere von Noradrenalin) bei der Antwort auf verschiedene Stressoren korreliert. Nater et al [24] zeigten, dass eine positive Korrelation zwischen der  $\alpha$ -Amylase und der LF/HF-Ratio als Parameter der kardialen Sympathikusaktivität als Reaktion auf einen Stressreiz besteht. Ebenso wiesen Bosch et al [23] eine negative Korrelation zwischen der  $\alpha$ -Amylase und dem R-MSSD als Determinante für parasympathische Komponente nach. Demnach ist die  $\alpha$ -Amylase im Speichel ein Surrogat für die sympathische Aktivität des kardialen autonomen Nervensystems. Ihr Vorteil liegt dabei in der nicht invasiven Gewinnung.

### **Untersuchungsbedingungen**

Die Speichelgewinnung erfolgte jeweils vormittags zwischen 72 und 96 Stunden postpartal. Zu diesem Zeitpunkt wird bei jedem Neugeborenen routinemässig der Guthrie-Test (Heel Prick-Test) zur Detektion von verschiedenen Stoffwechselkrankheiten durchgeführt. Durch den signifikanten Anstieg des Cortisolspiegels konnte gezeigt werden, dass der zur

Blutgewinnung durchgeführte Fersenstich bei Neugeborenen einen adäquaten Stressreiz darstellt [28, 29]. Um eine Verunreinigung des Speichels durch Muttermilch zu vermeiden, wurde stets ein 60-minütiger Abstand zwischen der Entnahme und dem letzten Stillen eingehalten.

### Probenentnahme

Bei jedem Neugeborenen wurden 3 Speichelproben entnommen. Die erste 10 Minuten vor dem Stressreiz (Guthrietest), die 2. und 3. jeweils 5 und 20 Minuten danach, siehe Fig. 1. Die Entnahmezeiten basierten auf von Nater et al [24, 30] gefundenen Werten, die einen Maximalanstieg der  $\alpha$ -Amylase 5 bis 10 Minuten nach einem Stressreiz aufzeigten. Die 10 Minuten vor dem Stressreiz durchgeführte Messung erfolgte in Ruhe und diente als Ausgangs- und Bezugswert für die Proben 2 und 3. Zwischen den Proben wurde darauf geachtet, dass der Säugling nicht zusätzlich stimuliert oder abgelenkt (zum Beispiel durch Wickeln oder Wägen) wurde, damit der Fersenstich als einziger Stressor gesichert werden konnte.

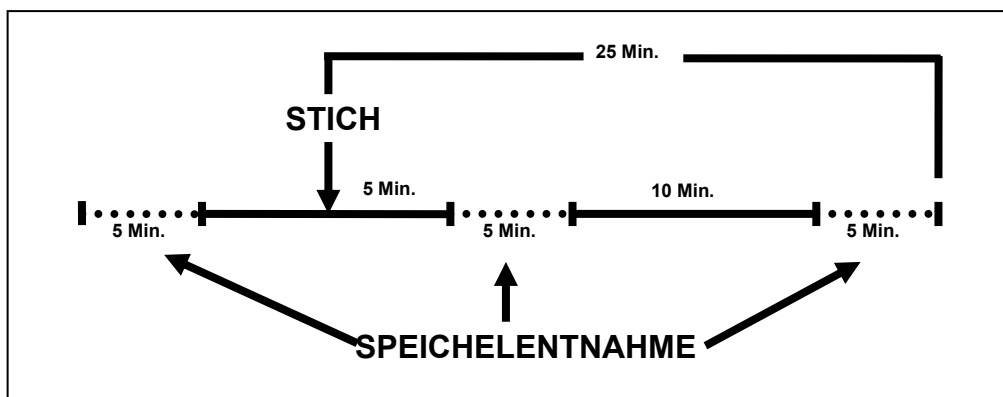


Fig. 1: Schematischer Zeitablauf einer Probeentnahme

Da Neugeborene sehr wenig Speichel produzieren, wurde ein in der Mitte verdicktes Wattestäbchen verwendet, um grössere Mengen aufsaugen zu können. Pro Probe wurden 2 Wattestäbchen für jeweils 2.5 Minuten im Mund belassen. Die Probanden saugten dabei meist am Wattestäbchen (siehe Fig. 2), was den Speichelfluss zusätzlich anregte. Um die für eine aussagekräftige Analyse benötigte Mindestmenge von 100  $\mu$ l Speichel zu erhalten, wurden die Backentaschen ausgestrichen und unter der Zunge angesammelter Speichel aufgesaugt. Die gewonnenen Speichelproben wurden in Salivettenröhrchen (Salivette, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) platziert und bis zur Laboranalyse bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

Fig. 2: Fotografie einer Probeentnahme



### Probenanalyse

Zur Bestimmung der  $\alpha$ -Amylase im Speichel wurde die Amylase 4,6-ethylidene-*p*-nitrophenyl-  $\alpha$ -D-Maltoheptaoside Methode von Roche Diagnostik (Mannheim, Deutschland) verwendet. Die 1 zu 9 verdünnten Speichelproben wurden mit dem Integra System 800 analysiert.

### 3.2.3 Statistische Analysen

Statistische Auswertungen wurden mittels STATA 10 Statistics/ Data Analysis Software (Stata Corporation, College Station, TX) durchgeführt. Die Grundcharakteristika und demographischen Daten der beiden Studiengruppen wurden mittels Mann-Whitney- oder Chi-Quadrat-Test miteinander verglichen. HRV-Parameter weisen keine Normalverteilungskurve aufweisen, wie dies durch eine Analyse mit dem Shapiro-Francia W-Test aufgezeigt wurde. Für die Analysen der HRV wurde daher der Mann-Whitney-Test angewendet. Da  $\alpha$ -Amylase-Werte interindividuell eine starke Streuung aufweisen, wurden sie logarithmisch transformiert und Ruhewerte mittels Mann-Whitney-Test verglichen. Die Differenz der  $\alpha$ -Amylase-Ruhewerte mit den Werten 5 Minuten nach Stresstimulus wurde mit dem Wilcoxon-signed-rank-Rang-Test analysiert. Um die hohe interindividuelle Variabilität zu berücksichtigen, wurde eine ANOVA (two way analysis of variance for repeated measurements) Analyse durchgeführt. Schliesslich wurde eine schrittweise multiple Regression durchgeführt um den möglichen Einfluss von Gestationsalter bei LRI, Geburtsgewicht und Gestationsalter bei Geburt auf  $\alpha$ -Amylase-Veränderungen zu beurteilen. Ein  $p < 0.05$  wurde als statistisch signifikant definiert.

## 4. Resultate

### 4.1 HRV – Messungen

#### 4.1.1 Demographische Daten

Das mediane Geburtsgewicht zwischen den beiden Gruppen war vergleichbar mit 3040 g in der Studiengruppe und 3260 g in der Kontrollgruppe. Dies entspricht vergleichbaren Gewichtspersentilen von 50.0 beziehungsweise 54.8. Die Kinder der Studiengruppe wurden im medianen Alter von 260 Gestationstagen (= 37+1 SSW) geboren, die Kontrollgruppe mit 275 Tagen (= 39+2 SSW). Dieser Unterschied war knapp nicht signifikant ( $p=0.0504$ ). Kindlicher Kopfumfang sowie 5 min APGAR zeigten vergleichbare Werte ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Populationen (Kopfumfang:  $p=0.740$ , 5 min APGAR: 0.757). Ebenso waren die demographischen Daten der Mütter (Alter, Parität, BMI der Mutter vor der Schwangerschaft und am Termin) vergleichbar. Eine Aufstellung der Daten erfolgt in **Tabelle 1**.

Das durchschnittliche Gestationsalter zum Zeitpunkt der Lungenreifungsinduktion lag bei 219 (178 – 241) Gestationstagen entsprechend 31+2 SSW. Das mediane Intervall zwischen LRI und Geburt betrug 51 (25 – 108) Tagen.

**Tabelle 1: Demographische Daten der Kontroll- und Studiengruppe der HRV-Messungen**

	Kontrollgruppe (n=23)	LRI-Gruppe (n=23)	p
Gestationsalter [d]	275 (239 – 293)	260 (245 – 289)	0.0504
Geburtsgewicht [g]	3260 (2150 – 3830)	3040 (2170 – 3750)	0.2104
Gewichtszentile	54.8 (15.4 – 82.6)	50.0 (15.2 – 88.9)	0.7334
männlich/ weiblich	3 / 20	12 / 11	0.011
Kopfumfang	34 (31 – 37.5)	34.5 (31 – 36.5)	0.7402
5 Minuten APGAR	9 (8 – 10)	9 (8 – 10)	0.7571
Alter der Mutter [y]	30 (16 – 41)	30 (21 – 41)	0.8342
Parität	1 (1 – 3)	1 (1 – 4)	0.6088
Mütterlicher BMI vor SS	21.1 (18.9 – 31.2)	19.7 (17.7 – 36.9)	0.1142
Mütterlicher BMI bei Geburt	26.0 (22.2 – 32.8)	24.9 (21.8 – 39.6)	0.5774
Gestationsalter bei LRI [d]		219 (178 – 241)	

#### 4.1.2 Time Domain Parameter

Die Time Domain Parameter SDNN und HRV Triangular Index repräsentieren die Gesamt-HRV. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich dieser Werte zwischen der Studiengruppe und der Kontrollgruppe ( $p=0.258$  bzw.  $p=0.179$ ). Ebenso zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den vorwiegend durch die sympathische Aktivität beeinflussten Parameter SDANN und SDNNi ( $p=0.184$  respektive  $p=0.784$ ). Beim Vergleich der vorwiegend parasympathisch beeinflussten Parameter R-MSSD ( $p=1.0$ ) und pNN50, pNN27 und pNN20 ( $p=0.852$ ,  $p=0.684$  und  $p=0.818$ ) zeigten sich ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede.

#### 4.1.3 Frequency Domain Parameter

Die Analysen der Frequency Domain Parameter wiesen ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich der beiden Gruppen auf. Weder die vorwiegend

parasympathisch beeinflusste HF ( $p=0.921$ ) noch die LF, als Marker sowohl für sympathische als auch parasympathische Aktivität ( $p=1.0$ ), noch die Total Power und LF/HF als Indikatoren des sympathisch-parasympathischen Gleichgewichtes waren signifikant unterschiedlich ( $p=0.138$  bzw.  $p=0.553$ ).

**Tabelle 2: Time- and Frequency Domain HRV-Parameter in Kontroll- und Studiengruppe**

	Median		Min		Max		p
	Kontrolle	Studie	Kontrolle	Studie	Kontrolle	Studie	
Herzfrequenz (NN, (bpm))	126	132	112	112	152	137	0.4218
Mean NN (ms)	478.2	455.9	395.5	438.5	538.2	534.4	0.3976
Triangular Index	20	17	8	10	34	28	0.1792
p-NN50 (%)	2.46	2.13	0.14	0.26	11.56	12.76	0.8519
p-NN27 (%)	10.97	10.43	1.71	2.54	29.92	29.05	0.6844
p-NN20 (%)	20.6	18.6	4.61	7.09	42.4	38.5	0.8176
SDNN (ms)	69.92	65.82	31.88	39.83	108.4	96.97	0.2579
SDNNi (ms)	42.58	42.62	18.79	27.1	61.38	69.55	0.7836
R-MSSD (ms)	19.4	18.04	10.54	11.74	36.27	41.31	1.0000
SDANN (ms)	52.0	51.25	24.11	21.96	85.18	70.96	0.1838
HF ( $ms^2$ )	0.56	0.6	0.16	0.15	2.36	5.01	0.9212
LF ( $ms^2$ )	2.16	2.18	0.59	0.83	5.73	14.51	1.0000
VL ( $ms^2$ )	4.86	4.11	0.98	1.84	10.11	20.31	0.1912
UL ( $ms^2$ )	7.55	6.34	1.26	1.46	26.13	18.97	0.1137
Total Power ( $ms^2$ )	15.75	11.72	2.99	5.86	42.8	58.8	0.1381
LF / HF	3.67	4.08	1.69	1.99	9.05	8.75	0.5530

## 4.2 $\alpha$ -Amylase-Messungen

### 4.2.1 Demographische Daten

Das mediane Geburtsgewicht zwischen den beiden Gruppen war mit 2950 g in der Studiengruppe und 3288 g in der Kontrollgruppe vergleichbar ( $p=0.269$ ). Dies entspricht Gewichtspersentilen von 39 beziehungsweise 52 ( $p=0.617$ ). Die Kinder der Studiengruppe wurden im Durchschnitt im Alter von 266 Gestationstagen geboren, die Kontrollgruppe im Mittel mit 273 Tagen ( $p=0.201$ ). Kindlicher Kopfumfang sowie 5 min APGAR zeigten ähnliche Werte ohne statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Kopfumfang:  $p=0.583$ , 5 min APGAR: 0.517). Der Vergleich der demographischen Daten ist in **Tabelle 3** illustriert.

Betamethason wurde im Mittel bei einem Gestationsalter von 206 Tagen (181 – 235) entsprechend 29+3 Schwangerschaftswochen appliziert. Das mittlere Intervall zwischen der Lungenreifungsinduktion und der Geburt lag bei 59.6 (+/- 23.1) Tagen.

**Tabelle 3: Demographische Daten der Kontroll- und Studiengruppe der  $\alpha$ -Amylase-Messungen**

	Kontrolle (n=40)	Studie (n=40)	p (n=40)
Gestationsalter [d]	273 (240-294)	266 (242-284)	0.201
Geburtsgewicht [g]	3288 (2100-3780)	2950 (2220-3930)	0.269
Gewichtspersentile	52 (17.6-91.6)	39 (11.9-87.3)	0.617
männlich/ weiblich	18 / 22	13 / 10	0.907
Kopfumfang	34.5 (32.5-36)	34 (32-37)	0.583
5 Minuten APGAR	9 (8-10)	9 (8-9)	0.517
Alter der Mutter [y]	30 (18-39)	29 (23-37)	0.496
Parität	2 (1-4)	1 (1-3)	0.040
Mütterlicher BMI vor SS	23 (16-38.6)	21.3 (18.3-36.9)	0.100
Mütterlicher BMI bei Geburt	27.7 (23.7-41.9)	26.2 (21.8-39)	0.153
Gestationsalter bei LRI [d]		204 (173-235)	



#### 4.2.2 $\alpha$ -Amylase – Werte

Die medianen Ruhewerte für die  $\alpha$ -Amylase waren in der Studiengruppe etwas höher als in der Kontrollgruppe jedoch ohne statistische Signifikanz zu erreichen ( $p=0.304$ , siehe Fig. 3). Im Vergleich der Ruheamylasewerte mit dem Wert 5 Minuten nach Stressreizung zeigte sich ein leichter Anstieg der Werte in der Kontrollgruppe, der mit einem  $p=0.045$  knapp statistische Signifikanz erreicht. In der Studiengruppe wurde kein signifikanter Anstieg der Amylasefreisetzung nach Stressstimulus beobachtet ( $p=0.408$ ). Dies konnte durch eine ANOVA Analyse bestätigt werden, welche aufzeigte, dass eine signifikante Änderung der  $\alpha$ -Amylase in der Kontrollgruppe ( $p=0.0266$ ) jedoch nicht in der Studiengruppe ( $p=0.183$ ) 5 Minuten nach dem Stressreiz vorliegt.

Zum Ausschluss eines signifikanten Einflusses des Gestationsalters zum Zeitpunkt der LRI, des Geburtsgewichtes oder des Gestationsalters bei Geburt auf die Veränderung der Amylasefreisetzung wurde eine multiple schrittweise Regression durchgeführt. Keiner dieser potentiellen Einflussfaktoren zeigte eine Signifikanz ( $p=0.82$ ,  $p=0.079$  bzw.  $p=0.46$ ).

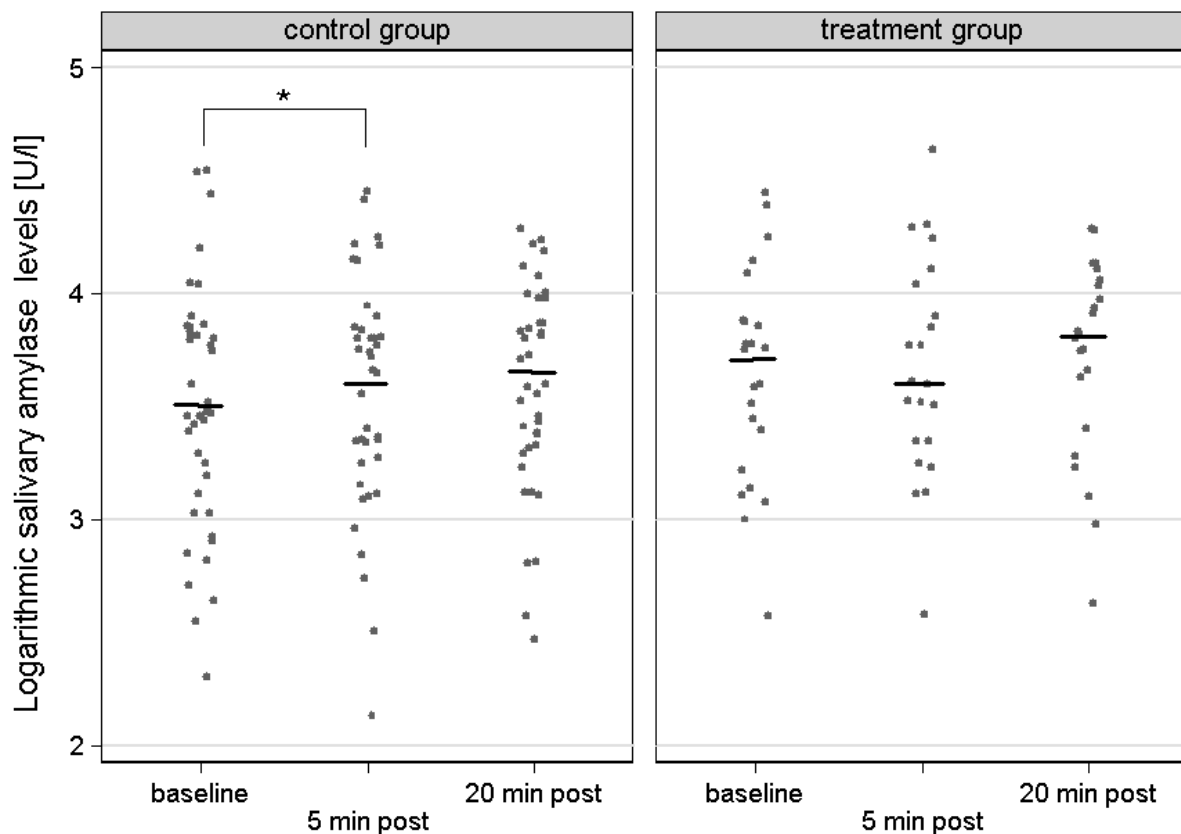


Fig. 3: Individuelle log-transformierte Messwerte der  $\alpha$ -Amylase im Speichel und ihre Mediane in der Kontroll-Gruppe (control  $n=40$ ) und Studiengruppe (treatment  $n=23$ ) in Ruhe und 5 und 20 Minuten nach dem Stressstimulus. — Medianer Wert; \*  $p=0.045$

## 5. Diskussion

Unsere Studie zeigt, dass die kardiale autonome Regulation des Neugeborenen, gemessen an der HRV und der  $\alpha$ -Amylase, nach einer einmaligen Lungenreifungsinduktion mit Betamethason nicht dauerhaft verändert ist.

Es gibt Hinweise aus tierexperimentellen Arbeiten, dass die intrauterine Exposition mit synthetischen Glucokortikoiden eine Auswirkung auf das Gleichgewicht und die Aktivität des autonomen Herzkreislaufsystems haben könnte. Es wurde eine Reihe von Studien durchgeführt, welche sich in ihrem Studiendesign unter anderem im Studientier, der Applikationsform des Steroides (an die Mutter oder den Fetus), den Zeitpunkt, die Dosis oder die Repetitivität der Dosen voneinander unterscheiden. So konnten Banjanin et al. [31] in ihrer Arbeit an Meerschweinchen zeigen, dass antenatale Steroide die Blutdruckregulation und andere Parameter wie Organwachstum und HPA-Achsenfunktionen langfristig verändern. Es zeigte sich ein signifikant erhöhter MAP (mean arterial pressure) beim später erwachsenen Meerschweinchen nach dreimaliger Dexamethasonapplikation in der zweiten Schwangerschaftshälfte im Vergleich zur Kontrollgruppe. Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied von anderen kardiovaskulären Parametern, insbesondere nicht in der Herzfrequenz, nachgewiesen werden. Ähnliches zeigten Derks et al. 1997 [32] bei Schafen, denen im letzten Trimenon über 48 Stunden Betamethason oder Dexamethason infundiert wurde sowie Koenen et al. [33] in einer Studie mit viermaligen intramuskulären maternalen Betamethasoninjektionen bei Affen. In all diesen Studien wurden relativ hohe Steroidkonzentrationen angewendet.

Fletcher et al. [34] untersuchten die Auswirkungen niedriger dosierten Dexamethasons - vergleichbar mit der humanen Dosierung - auf Schafe. Dabei wurde den Feten in der Spätschwangerschaft direkt während 48 Stunden Dexamethason infundiert, wobei die Konzentration nur etwa einem Achtel der in der Studie von Derks et al. applizierten Dosis entsprach. Es zeigte sich ein Anstieg des MAP und des peripheren Gefässwiderstandes (gemessen am Gefässwiderstand der Femoralgefäße als guter Indikator des peripheren Gesamtwiderstandes, Giussani et al. 1996), wenngleich allerdings nur der MAP über 48 Stunden hinaus persistierte. Es zeigte sich ausserdem eine kurzfristige Senkung der Plasmakatecholamine und eine Verschiebung des Barorezeptor-Stellwertes (definiert als zu erhaltender arterieller Ruheblutdruckwert), wobei die Bedeutung dieser Veränderungen unklar ist, es wird jedoch vermutet, dass beide relevante Auswirkungen auf die Adaptation an Stresssituationen haben könnten. Es zeigte sich zudem, dass diese Veränderungen bereits bei einer relativ tiefen Steroidkonzentration stattfinden. Quaedackers et al. [35] konnten nach mütterlicher Behandlung mit Dexamethason bei Schafen aufzeigen, dass die Blutdruckerhöhung nur von vorübergehender Natur ist, ausgelöst durch eine Erhöhung des

Gefässwiderstandes und der Herzfrequenz. Eine Wirkung auf die fetale HRV konnte nicht gefunden werden. Im Gegensatz dazu haben de Vries, Holmes et al. [36] bei nichthumanen Primaten eine dosis-abhängige langfristige Wirkung von maternaler, oraler Dexamethasonapplikation aufgezeigt. Dabei zeigten Affen im Alter von 12 Monaten eine persistierende Erhöhung von systolischem und diastolischem Blutdruckwerten.

Aus diesen Studien geht hervor, dass eine intrauterine Steroidgabe im Sinne einer Lungenreifungsinduktion einen zumindest kurzfristigen Einfluss auf die kardiovaskuläre Funktion und insbesondere auf die Blutdruckregulation des Feten respektive Neugeborenen hat.

Wie sich der Zusammenhang zwischen pränataler Steroidgabe und hypertensivem Blutdruck als Stellwert der autonomen kardialen Regulation beim Menschen verhält, wurde in den in Folge beschriebenen Studien untersucht.

Mildenhall et al. 2006 [37] untersuchten Blutdruckwerte in der Neonatalzeit. Dabei konnten sie aufzeigen, dass diese in der ersten Woche nach Geburt insbesondere bei Kindern mit mehrmaliger intrauteriner Steroidapplikation erhöht waren. Ausserdem waren die Werte höher, wenn die letzte Glucokortikoidgabe weniger als 7 Tage vor Geburt stattgefunden hatte. Dies könnte ein Hinweis dafür sein, dass Steroide vor allem kurzfristige Wirkungen auf die Blutdruckregulation ausüben. Ähnliches zeigte sich in einer Studie über die Wirksamkeit von Dexamethason im Vergleich mit Placebo bei drohender Frühgeburtlichkeit von Kari et al. [38]. Hier wurden neben der klaren Outcomeverbesserung nach Dexamethasongabe (geringere Inzidenz an Ventrikelblutungen oder periventrikulärer Leukomalazie sowie seltenere Inzidenz von respiratorischen Komplikationen mit konsekutiver Notwendigkeit von Surfactantgabe) als Nebeneffekt drei Tage nach der Geburt erhöhte mittlere Blutdruckwerte bei Dexamethason-behandelten Neugeborenen festgestellt. Doyle et al. 2000 [39] machten ein Follow-up bei 14jährigen Jugendlichen, die pränatal eine LRI erhalten hatten. Dabei zeigten sich zwar keine pathologisch erhöhte Blutdruckwerte, jedoch im Vergleich mit nicht Kortikosteroid-exponierten Kindern ein erhöhter Blutdruck-range. Dieser Unterschied könnte sich im Laufe des Lebens noch vergrössern und sich zu einer manifesten arteriellen Hypertonie entwickeln. Auf gegensätzliche Ergebnisse kamen de Vries et al. 2008 [40] bei einem Follow-up von 7 – 10jährigen Kindern nach pränataler Betamethasongabe (und postnataler Glucokortikoidgabe im Vergleich), die weder einen Blutdruckanstieg noch eine Veränderung der Herzfrequenz oder anderer kardialer Parameter wie systolischer oder diastolischer Ventrikelfunktion messen konnten. Ebendies postulierten auch Dalziel et al. 2005 [15], die in einer breit angelegten Doppelblindstudie bei 30jährigen Patienten, die pränatal eine LRI erhalten hatten (n=221 Betamethason und n=234 Placebo), die

kardiovaskulären Risikofaktoren untersuchten. Dabei zeigte sich keine Erhöhung des arteriellen Blutdruckes. Sogar eine leichte Senkung der systolischen, jedoch nicht der diastolischen Werte fanden Dessens et al. [16] in ihrer 20-Jahre-Follow-up-Studie nach antenataler LRI mit Betamethason.

Die bisherigen Ausführungen stützen sich grösstenteils auf Blutdruckwerte als stellvertretenden Marker für das autonome Herzkreislaufsystem. Segar et al. demonstrierten 1994 [41] die positive Korrelation zwischen der sympathischen Nervenaktivität (als Grundlage für die Kardioregulation) und der Variabilität des MAP sowie der Herzfrequenz während der Fetalzeit.

Spezifischere Daten über Auswirkungen auf das kardiale sympathische Nervensystem von Ratten nach intrauteriner Exposition auf exogene Steroide haben Bian, Seidler et al. 1993 [4] untersucht. Dabei zeigte sich eine Dosis-abhängige Reduktion von Körper- sowie Herzgewicht der neugeborenen Ratten nach Dexamethasonapplikation an die Muttertiere sowie insbesondere eine Veränderung der kardialen noradrenergen Innervation mit Reduktion von Noradrenalinlevels und des Noradrenalin-turnover (Indikator der neuronalen Aktivität des sympathischen Nervensystems, siehe [42]). Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass Dexamethason die Entwicklung und Aktivität des kardialen sympathischen Nervensystems negativ beeinflussen könnte. In einer weiteren Studie derselben Autoren [14] zeigte sich, dass diese Effekte auf der Ebene der intrazellulären Signalkaskade stattfinden müssen, da sich keine Änderungen in Bezug auf Anzahl oder Affinität der  $\beta$ -Rezeptoren nachweisen liessen. Slotkin et al. [42] untersuchten 1992 den Einfluss pränatalen Dexamethasons auf die zentrale noradrenerge Aktivität. Es wurden Noradrenalinlevel, Noradrenalin-turnover sowie Rezeptorbindungskapazitäten und deren regionalen Unterschiede in verschiedenen Hirnarealen in einer Studie mit Ratten gemessen. Es zeigten sich starke regionale Unterschiede, wobei ein signifikant erhöhter Noradrenalin-turnover vor allem im Mittelhirn und Hirnstamm gemessen wurden. Dies weist daraufhin, dass Glucokortikoide einen beschleunigenden Einfluss auf die Entwicklung der zentralen noradrenergen Funktionen in spezifischen Arealen haben könnten. Es wurde konsequent postuliert, dass sich eine Steroidapplikation in einer kritischen Entwicklungsperiode durch funktionelle Schädigungen äussern könnte. Ebenfalls einen aktivierenden Effekt der exogenen Kortikosteroide auf die sympathische Aktivität postnatal beschrieben Segar et al. 1998 [43] bei frühgeborenen Lämmern. Dieser Anstieg der Sympathikusaktivität zeigte sich unter anderem in einem Anstieg der Herzfrequenz, des Blutdruckes und der Noradrenalinlevel im Plasma. Davis et al. [13] untersuchten in ihrer Arbeit den Einfluss von pränatalem Betamethason auf die Stressphysiologie des neugeborenen Kindes und zeigten

in diesem Zusammenhang einen im Vergleich zu nicht Betamethason-behandelten Kindern grösseren Anstieg der neonatalen Herzfrequenz als Reaktion auf einen Stressstimulus.

Soweit uns bekannt ist, existiert bisher keine Studie, die systematisch Herzfrequenzvariabilitätsparameter als Marker der kardialen autonomen Regulation nach intrauteriner Steroidgabe untersucht und mittels standardisierten Methoden ausgewertet hat.

Seit längerem wird eine signifikante Beziehung zwischen Funktionen des autonomen Nervensystems und der Mortalität aufgrund kardiovaskulärer Faktoren vermutet. So zeigte sich beispielsweise eine reduzierte parasympathische Aktivierung der kardialen Regulation bei Hypertonikern in einer Studie von Langewitz [18] und eine reduzierte Herzfrequenzvariabilität bereits bei milder Hypertonie bei Guzzetti [17]. In einer Studie über HRV-Messungen zur Risikoanalyse bezüglich plötzlichen Herztodes (Follow-up während 2 Jahren nach ambulanter 24-Stunden-Holter-EKG-Messung) [44] fand man ein erhöhtes Risiko bei Patienten mit niedrigem Parasympathikustonus unabhängig von anderen Risikofaktoren. Ausserdem wurde der HRV-Messung bei Adoleszenten eine prognostische Bedeutung in der Entstehung einer arteriellen Hypertonie im späteren Erwachsenenalter zugeschrieben [45].

Die Messung der HRV erwies sich bei all diesen Studien als geeigneter, nicht-invasiver Parameter zur Quantifizierung der kardialen autonomen Regulation und verlangte daher nach geeigneten Mess- und Auswertungsstandards. Diese Standards wurden durch [19] und [27] erarbeitet und bilden die Grundlage für unsere HRV-Analysen, wurden jedoch gemäss Vorschlägen von Fortrat und anderen [26, 46] adaptiert an für Neugeborene angemessene Frequenzbanden. Normale Herzfrequenzwerte eines Neugeborenen unterscheiden sich stark von Normwerten eines Erwachsenen (100-160 pro Minute versus 60-100 pro Minute). Die Herzfrequenzvariabilität wird hauptsächlich bedingt durch die Atmung, den Barorezeptor-Reflex sowie die Thermoregulation, welche sich in den Frequenzbanden widerspiegeln und darin identifiziert werden können. Da auch diese Werte beim Neugeborenen abweichen von den Normwerten eines Erwachsenen, ergibt sich die Notwendigkeit einer Verschiebung der Frequenzen in den high-frequency-Bereich zur besseren Auswertbarkeit und Vermeidung von Überlagerungen. So wurde beispielsweise die high-frequency Range (HF) für Neugeborene in unserer Studie gemäss Empfehlungen von [47] als 0.24-1.04 Hertz definiert, dies im Vergleich zu für Erwachsene übliche 0.15-0.40 Hz.

Wir fanden keine signifikanten Unterschiede im Vergleich aller berechneten HRV-Parameter bei Neugeborenen mit und ohne Lungenreifungsinduktion. Im Vergleich dazu gibt es Studien über die Analyse von fetaler Herzfrequenzvariabilität, die divergierende Resultate aufzeigen. Kurzfristige Anpassungsstörungen im Sinne eines Anstieges der fetalen

Herzfrequenzvariabilität als Begleiteffekt der mütterlichen Steroidgabe, haben Lunshof et al. [48] in ihrer Arbeit über kurzfristige, weniger als 48 Stunden dauernde Effekte des Betamethason aufgezeigt. Ähnliches beschreiben Dawes et al. [12] nach intrauteriner Dexamethasongabe. Im Gegensatz dazu publizierten Mulder et al. [11] Daten, die eine gestationsalters-unabhängige Reduktion der FHR nach Betamethasongabe nachweisen. In allen drei Studien handelt es sich um transiente intrauterine Effekte ohne nachgewiesene postnatale Persistenz.

Das Ziel unserer Studie bestand darin, herauszufinden, ob eine intrauterine Exposition mit synthetischen Steroiden zu permanenten postnatalen Veränderungen der autonomen Herzkreislaufregulation führen. Um pränatal induzierte Veränderungen von im späteren Leben dazukommenden, auf äussere Umstände reaktiv entstandenen Einflüssen auf das Herzkreislaufsystem abgrenzen zu können, wurde der Zeitpunkt unserer Studie in die Neonatalzeit gelegt. Dies erscheint umso wichtiger, wenn man davon ausgeht, dass Krankheiten, die einen Teil ihres Ursprunges in der Pränatalzeit haben könnten - wie Diabetes mellitus Typ II oder arterielle Hypertonie - zum Zeitpunkt ihres Auftretens von einer Vielzahl systemischer Veränderungen begleitet werden. Wenn Wege zur Prävention dieser Krankheiten gefunden werden sollen, was das Langzeitziel wäre, müssen die tatsächlich zugrunde liegenden Ursachen identifiziert werden und von im Laufe des Lebens entstandenen sekundären Systemveränderungen abgegrenzt werden.

Mutmassliche Kurzzeiteffekte, wie sie - wie weiter oben ausgeführt - als Reaktion auf pränatale Steroide auftreten, können in unserer Studie ausgeschlossen werden, da der mittlere Abstand zwischen der Betamethasongabe und der Geburt mehr als 7 Wochen (51 Tage, siehe Tabelle 1) betrug.

Da geringe Effekte einer antenatalen Steroidexposition möglicherweise erst in Situationen mit erhöhtem Bedarf an autonomen Regulationsmechanismen offensichtlich werden, ergänzten wir die elektrophysiologischen Untersuchungen mit neuroendokrinen Analysen in einer Situation mit erwartungsgemäss erhöhtem Sympathikotonus. Dazu wurde die  $\alpha$ -Amylase im Speichel des Neugeborenen unter Ruhebedingungen sowie nach einem schmerz- und somit stressreichen Stimulus gemessen. Die  $\alpha$ -Amylase wird von Acinuszellen in den Speicheldrüsen gebildet, welche in hohem Masse durch sympathische und parasymphatische Nervenfasern innerviert sind, und mittels klassischer Neurotransmitterkaskade sezerniert [49]. In verschiedenen tierexperimentellen Studien insbesondere mit Ratten sowie beim Menschen zeigte sich, dass eine erhöhte Aktivierung des autonomen Nervensystems zu einer vermehrten Ausschüttung von  $\alpha$ -Amylase im

Speichel führt. Chatterton et al. [20] untersuchten den Zusammenhang zwischen  $\alpha$ -Amylase im Speichel und der adrenergen Aktivität, sprich der Plasmakatecholamine in Ruhe und nach physischen und psychischen Stressoren, und wiesen eine prädikative Bedeutung der  $\alpha$ -Amylase insbesondere für Noradrenalin Spiegel im Blut nach. Ähnliche Ergebnisse zeigten van Stegeren et al. [21], die  $\alpha$ -Amylase-Levels im Zusammenhang mit einer  $\beta$ -Blockade als Inhibitor der sympathoadrenergen Aktivität massen und eine höhere Sensitivität der  $\alpha$ -Amylase im Vergleich zu Herzfrequenz und Blutdruckwerten aufzeigten. So wird die  $\alpha$ -Amylase im Speichel als Surrogat für die autonome sympathoadrenerge Aktivierung verwendet und wird wiederholt mit anderen Parametern der kardiovaskulären Regulation in Verbindung gebracht [22]. Bosch et al. [23] fanden eine signifikant negative Korrelation zwischen dem parasympathisch beeinflussten HRV-Parameter R-MSSD und der  $\alpha$ -Amylase. Ebenso zeigte Nater et al. 2006 [24] eine positive Korrelation zwischen der  $\alpha$ -Amylase und der Sympathikus-assoziierten LF/HF.

Bisher liegen unseres Wissens keine validierten Studien über die Relevanz der  $\alpha$ -Amylase beim Neugeborenen vor, jedoch wird aufgrund der engen Beziehung zwischen  $\alpha$ -Amylase und Sympathikotonus beim Erwachsenen sowie den bisher bei Kindern und Jugendlichen beschriebenen Daten [22] deren Bedeutung auch bei Neugeborenen vermutet. Interessanterweise zeigte sich in unseren Auswertungen keine Erhöhung der  $\alpha$ -Amylase im Speichel in der Studiengruppe nach Stressreiz, sondern insbesondere sogar eine leichte, nicht statistisch signifikante Erniedrigung derselben. Im Gegensatz zu dem signifikanten Anstieg der  $\alpha$ -Amylase-Werte im 5-Minuten-Poststresstest in der Kontrollgruppe waren die Werte der Studienkinder unverändert.

Die Abschwächung der  $\alpha$ -Amylase-Antwort in der Studiengruppe kann möglicherweise durch im Vorfeld gemachte Erkenntnisse über die stressregulierende Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse (HPA-Achse) erklärt werden. So haben wir und andere aufgezeigt, dass bereits eine einmalige Lungenreifungsinduktion die HPA-Achsenaktivität dauerhaft verändern kann im Sinne einer reduzierten Ausschüttung der Stresshormone Cortisol und Cortison auf einen adäquaten Stressreiz (Schäffer et al. 2009, [13, 50]). Eine Reduktion der HPA-Achsenaktivität kann möglicherweise eine Verminderung der Aktivität des sympathischen Nervensystems mit sich bringen, da eine enge Verbindung dieser beiden Stressregulierenden Systeme besteht. Deshalb vermuten wir, dass der fehlende Anstieg der  $\alpha$ -Amylase auf einen Stressreiz in der Studiengruppe als Resultat des nicht adäquat funktionierenden HPA-Achsensystems nach LRI interpretiert werden könnte und nicht als Ausdruck eines direkten Effektes der Steroidauswirkung auf das sympathische Nervensystem.

Um einen allfälligen unabhängigen Einfluss des Gestationsalters zum Zeitpunkt der Steroidapplikation, der Geburtsgewichtspersentile oder des Gestationsalters bei Geburt auszuschliessen, wurde eine schrittweise multiple Regressionsanalyse durchgeführt, welche keine signifikanten Einflüsse auf die  $\alpha$ -Amylase-Werte ergaben.

Unser Studienkollektiv besteht aus einer relativ homogenen Gruppe von Neugeborenen, wobei zur Verhinderung von möglicherweise zusätzlich einwirkenden Faktoren verschiedene Ausschlusskriterien wie schwere Frühgeburtlichkeit (<34. SSW), Schwangerschaftskomplikationen (z.B. intrauterine Wachstumsretardierung, Präeklampsie) ebenso wie mütterlicher Substanzabusus (Drogen, Alkohol und Nikotin) und mütterliche Krankheiten (z.B. HIV, Hepatitis) zur Anwendung kamen. So kann davon ausgegangen werden, dass unsere Daten effektiv den isolierten Einfluss von antenatalem Betamethason auf die sympathovagale Balance zeigen.

Das sympathische Nervensystem ist ein komplexes System, bestehend aus verschiedenen funktionsspezifischen Untereinheiten. Eine Regulation erfolgt daher vor allem durch regionale, bedürfnisadaptierte Vorgänge. Es ist dabei anzunehmen, dass diese unter bestimmten Umständen analog ihrer Funktionsspezifität in ihrer intrauterinen oder frühen kindlichen Entwicklung durch verschiedenste Einflüsse gestört werden könnten. Ebenso ist eine Beeinflussung durch verschiedene Umgebungsbedingungen möglich, wobei diese Veränderungen möglicherweise bis ins Erwachsenenalter persistieren [4, 51, 52].

Wir können nicht ausschliessen, dass unsere Methoden keine genügende Sensitivität zum Nachweis von nur sehr geringen Veränderungen der kardialen autonomen Balance aufweisen. Insbesondere Auswirkungen, die sich erst im Laufe des Lebens mit zunehmender Reifung und Ausbildung der Regulationssysteme des sich entwickelnden Kindes und späteren Erwachsenen manifestieren, könnten mittels unseres Studiendesigns noch nicht erfasst sein. Es gibt Studien [15, 16, 40] über Langzeiteffekte von pränataler Steroidgabe zur Lungenreifungsinduktion, welche keine Veränderungen der autonomen Regulation, wie z.B. die arterielle Hypertonie, fanden, die ihre Ursache in einer sympathovagalen Dysfunktion haben könnten. Die gewählten Follow-up-Zeiten lagen jedoch unterhalb des Zeitpunktes, in welchem sich normalerweise solche Krankheiten manifestieren. Es ist also nicht ausgeschlossen, dass solche adversen Effekte zu einem späteren Zeitpunkt auftreten könnten. In den genannten Studien wurden jedoch nur konventionelle Blutdruckparameter und Herzfrequenzwerte analysiert, die bereits eine Manifestation von Erkrankungen darstellen. Es wurden keine prädiktiven, sensitiven Analysen, wie z.B. HRV-Parameter erhoben. Die in unserer Studie erhobenen Herzfrequenzvariabilitäten gelten als



mutmassliche Früherkennungsmarker von sympathoadrenergen Veränderungen und würden deshalb möglicherweise für diese Fragestellung genauere oder zumindest frühere Resultate liefern können.

Zusammenfassend zeigen unsere Studienergebnisse vor dem Hintergrund der Erkenntnisse aus der Literatur, dass die kardiale autonome Regulation des Neugeborenen trotz Hinweisen aus tierexperimentellen Studien nach einer einmaligen Gabe von Betamethason zur Lungenreifungsinduktion nicht dauerhaft beeinträchtigt ist. Dies konnten wir durch Bestimmung der HRV als Marker der kardialen autonomen Regulation darlegen sowie durch Messungen der  $\alpha$ -Amylase als Surrogat für die sympathische kardiale Aktivität untermauern. Mögliche Langzeiteffekte einer pränatalen Steroidgabe scheinen also nicht durch eine primäre Veränderung der sympathovagalen Balance verursacht zu sein.

## Abkürzungsverzeichnis

EKG	Elektrokardiogramm
et al.	et alii
FHR	Fetal Heart Rate
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
HRV	heart rate variability, Herzfrequenzvariabilität
Hz	Hertz
LRI	Lungenreifungsinduktion
MAP	Mean Arterial Pressure
NEK	Nekrotisierende Enterokolitis
RDS	Respiratory Distress Syndrome
SSW	Schwangerschaftswochen

## Literaturverzeichnis

1. Roberts, D. and S. Dalziel, Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006. 3: p. CD004454.
2. Bian, X.P., F.J. Seidler, and T.A. Slotkin, Promotional role for glucocorticoids in the development of intracellular signalling: enhanced cardiac and renal adenylate cyclase reactivity to beta-adrenergic and non-adrenergic stimuli after low-dose fetal dexamethasone exposure. *J Dev Physiol*, 1992. 17(6): p. 289-97.
3. Cole, T.J., et al., Targeted disruption of the glucocorticoid receptor gene blocks adrenergic chromaffin cell development and severely retards lung maturation. *Genes Dev*, 1995. 9(13): p. 1608-21.
4. Bian, X., F.J. Seidler, and T.A. Slotkin, Fetal dexamethasone exposure interferes with establishment of cardiac noradrenergic innervation and sympathetic activity. *Teratology*, 1993. 47(2): p. 109-17.
5. Fowden, A.L., Endocrine regulation of fetal growth. *Reprod Fertil Dev*, 1995. 7(3): p. 351-63.
6. Seckl, J.R. and M.J. Meaney, Glucocorticoid programming. *Ann N Y Acad Sci*, 2004. 1032: p. 63-84.
7. Drake, A.J., J.I. Tang, and M.J. Nyirenda, Mechanisms underlying the role of glucocorticoids in the early life programming of adult disease. *Clin Sci (Lond)*, 2007. 113(5): p. 219-32.
8. Seckl, J.R. and M.C. Holmes, Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2007. 3(6): p. 479-88.
9. Clark, A.L. and J.G. Cleland, The control of adrenergic function in heart failure: therapeutic intervention. *Heart Fail Rev*, 2000. 5(1): p. 101-14.
10. de Champlain, J., et al., The sympatho-adrenal tone and reactivity in human hypertension. *Clin Exp Hypertens A*, 1989. 11 Suppl 1: p. 159-71.
11. Mulder, E.J., et al., The effects of antenatal betamethasone administration on fetal heart rate and behaviour depend on gestational age. *Early Hum Dev*, 2004. 76(1): p. 65-77.
12. Dawes, G.S., et al., Dexamethasone and fetal heart rate variation. *Br J Obstet Gynaecol*, 1994. 101(8): p. 675-9.
13. Davis, E.P., et al., Effects of prenatal betamethasone exposure on regulation of stress physiology in healthy premature infants. *Psychoneuroendocrinology*, 2004. 29(8): p. 1028-1036.
14. Bian, X., et al., Effects of fetal dexamethasone exposure on postnatal control of cardiac adenylate cyclase: beta-adrenergic receptor coupling to Gs regulatory protein. *Teratology*, 1993. 48(2): p. 169-77.

15. Dalziel, S.R., et al., Cardiovascular risk factors after antenatal exposure to betamethasone: 30-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet*, 2005. 365(9474): p. 1856-62.
16. Dessens, A.B., H.S. Haas, and J.G. Koppe, Twenty-year follow-up of antenatal corticosteroid treatment. *Pediatrics*, 2000. 105(6): p. E77.
17. Guzzetti, S., et al., Altered pattern of circadian neural control of heart period in mild hypertension. *J Hypertens*, 1991. 9(9): p. 831-8.
18. Langewitz, W., H. Ruddle, and H. Schachinger, Reduced parasympathetic cardiac control in patients with hypertension at rest and under mental stress. *Am Heart J*, 1994. 127(1): p. 122-8.
19. Task, F., Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, 1996. 93(5): p. 1043-65.
20. Chatterton, R.T., Jr., et al., Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clin Physiol*, 1996. 16(4): p. 433-48.
21. van Stegeren, A., et al., Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: effect of betablockade. *Psychoneuroendocrinology*, 2006. 31(1): p. 137-41.
22. Granger, D.A., et al., Salivary alpha-amylase in biobehavioral research: recent developments and applications. *Ann N Y Acad Sci*, 2007. 1098: p. 122-44.
23. Bosch, J.A., et al., Innate secretory immunity in response to laboratory stressors that evoke distinct patterns of cardiac autonomic activity. *Psychosom Med*, 2003. 65(2): p. 245-58.
24. Nater, U.M., et al., Stress-induced changes in human salivary alpha-amylase activity -- associations with adrenergic activity. *Psychoneuroendocrinology*, 2006. 31(1): p. 49-58.
25. Schaffer, L., et al., Cardiac autonomic balance in small-for-gestational-age neonates. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008. 294(2): p. H884-90.
26. Fortrat, J.O., Inaccurate normal values of heart rate variability spectral analysis in newborn infants. *Am J Cardiol*, 2002. 90(3): p. 346.
27. Mehta, S.K., et al., Heart rate variability in healthy newborn infants. *Am J Cardiol*, 2002. 89(1): p. 50-3.
28. Lewis, M. and D.S. Ramsay, Developmental change in infants' responses to stress. *Child Dev*, 1995. 66(3): p. 657-70.
29. Mantagos, S., A. Koulouris, and A. Vagenakis, A simple stress test for the evaluation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis during the first 6 months of life. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991. 72(1): p. 214-6.
30. Nater, U.M., et al., Human salivary alpha-amylase reactivity in a psychosocial stress paradigm. *Int J Psychophysiol*, 2005. 55(3): p. 333-42.

31. Banjanin, S., A. Kapoor, and S.G. Matthews, Prenatal glucocorticoid exposure alters hypothalamic-pituitary-adrenal function and blood pressure in mature male guinea pigs. *J Physiol*, 2004. 558(Pt 1): p. 305-18.
32. Derks, J.B., et al., A comparative study of cardiovascular, endocrine and behavioural effects of betamethasone and dexamethasone administration to fetal sheep. *J Physiol*, 1997. 499 ( Pt 1): p. 217-26.
33. Koenen, S.V., et al., Effects of maternal betamethasone administration on fetal and maternal blood pressure and heart rate in the baboon at 0.7 of gestation. *Am J Obstet Gynecol*, 2002. 186(4): p. 812-7.
34. Fletcher, A.J., et al., Effects of low dose dexamethasone treatment on basal cardiovascular and endocrine function in fetal sheep during late gestation. *J Physiol*, 2002. 545(Pt 2): p. 649-60.
35. Quaedackers, J.S., et al., Cardiovascular and endocrine effects of a single course of maternal dexamethasone treatment in preterm fetal sheep. *Bjog*, 2005. 112(2): p. 182-91.
36. de Vries, A., et al., Prenatal dexamethasone exposure induces changes in nonhuman primate offspring cardiometabolic and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *J Clin Invest*, 2007. 117(4): p. 1058-67.
37. Mildenhall, L.F., et al., Exposure to repeat doses of antenatal glucocorticoids is associated with altered cardiovascular status after birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2006. 91(1): p. F56-60.
38. Kari, M.A., et al., Prenatal dexamethasone treatment in conjunction with rescue therapy of human surfactant: a randomized placebo-controlled multicenter study. *Pediatrics*, 1994. 93(5): p. 730-6.
39. Doyle, L.W., et al., Antenatal corticosteroid therapy and blood pressure at 14 years of age in preterm children. *Clin Sci (Lond)*, 2000. 98(2): p. 137-42.
40. de Vries, W.B., et al., Cardiovascular follow-up at school age after perinatal glucocorticoid exposure in prematurely born children: perinatal glucocorticoid therapy and cardiovascular follow-up. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2008. 162(8): p. 738-44.
41. Segar, J.L., et al., Role of sympathetic activity in the generation of heart rate and arterial pressure variability in fetal sheep. *Pediatr Res*, 1994. 35(2): p. 250-4.
42. Slotkin, T.A., et al., Glucocorticoids and the development of neuronal function: effects of prenatal dexamethasone exposure on central noradrenergic activity. *Biol Neonate*, 1992. 61(5): p. 326-36.
43. Segar, J.L., et al., Effect of antenatal glucocorticoids on sympathetic nerve activity at birth in preterm sheep. *Am J Physiol*, 1998. 274(1 Pt 2): p. R160-7.
44. Algra, A., et al., Heart rate variability from 24-hour electrocardiography and the 2-year risk for sudden death. *Circulation*, 1993. 88(1): p. 180-5.
45. Stewart, J.M., Does heart rate variability explain increased blood pressure in adolescents? *Journal of Pediatrics*, 2000. 137(1): p. 6-8.

46. Rosenstock, E.G., Y. Cassuto, and E. Zmora, Heart rate variability in the neonate and infant: analytical methods, physiological and clinical observations. *Acta Paediatrica*, 1999. 88(5): p. 477-82.
47. Fortrat, J.O., Inaccurate normal values of heart rate variability spectral analysis in newborn infants. *American Journal of Cardiology*, 2002. 90(3): p. 346.
48. Lunshof, M.S., et al., Short-term (0-48 h) effects of maternal betamethasone administration on fetal heart rate and its variability. *Pediatr Res*, 2005. 57(4): p. 545-9.
49. Turner, R.J. and H. Sugiya, Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Dis*, 2002. 8(1): p. 3-11.
50. Davis, E.P., et al., Antenatal betamethasone treatment has a persisting influence on infant HPA axis regulation. *Journal of Perinatology*, 2006. 26(3): p. 147-53.
51. Janig, W. and E.M. McLachlan, Characteristics of function-specific pathways in the sympathetic nervous system. *Trends Neurosci*, 1992. 15(12): p. 475-81.
52. Young, J.B., Programming of sympathoadrenal function. *Trends Endocrinol Metab*, 2002. 13(9): p. 381-5.

## **Danksagung**

Mein herzlichster Dank gilt primär Dr. L. Schäffer für die lückenlose, motivierende und kompetente Betreuung der vorliegenden Arbeit sowie dem mir gebotenen Support bei der Präsentation dieser Arbeit am SGGG Kongress in Lugano im Juni 2009.

Weiter möchte ich mich bei Dr. T. Burkhardt für die aufwendigen statistischen Analysen bedanken, bei meinen Vorgängerinnen Franziska Luzi und Deborah Müller-Vizentini für die Hilfe und Einführung zu Beginn der Arbeit, das Überlassen der Daten aus der Kontrollgruppe und der Fotografie der Probenentnahme.

Ein grosses Dankeschön gilt hier natürlich auch allen Eltern, die sich bereit erklärt haben, mit ihrem Säugling an unserer Studie teilzunehmen.

Ebenso möchte ich mich beim Pflegepersonal der Wochenbettstationen sowie bei den Ärzten der Neonatologie für die gute Zusammenarbeit und Flexibilität beim Durchführen der Speichelproben sowie der Holter-EKGs bedanken sowie bei Frau Dr. M. Tomaske für die Auswertung der EKGs.

Und nicht zuletzt möchte ich Herrn Dr. Prof. E. Beinder für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit zum Erlangen meiner Doktorwürde und seine wertvolle Unterstützung dabei herzlich danken.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten:

---

Name: Schmidt  
Vorname: Sina  
Geburtsdatum: 19.11.1983  
Geburtsort: Walenstadt SG  
Bürgerort: Niederlenz AG  
Zivilstand: Ledig  
Wohnadresse: Nordstrasse 300, 8037 Zürich  
Telefon/ Mobile: 043 960 35 22/ 078 721 89 16  
Email: sina.schmidt@bluewin.ch

### Ausbildung:

---

1990-1998 Primar- und Sekundarschule in Walenstadt  
1998-2002 Kantonsschule mit Schwerpunkt Latein in Sargans  
2002-2008 Studium der Humanmedizin an der Universität Zürich  
09/2005 – 07/2006 Erasmusjahr in Murcia, Spanien  
08/2006 – 07/2007 Wahlstudienjahr:

- 08-09/2006 Pädiatrie, Kantonsspital Graubünden
- 10/2006 Psychiatrie, Hospital Reina Sofía, Murcia, Spanien
- 11/2006-01/2007 Innere Medizin, Kantonsspital Winterthur
- 03/2007 Hausarztpraxis Dr. med. M. Beck, Schafisheim
- 04-05/2007 Chirurgie, Spital Bülach
- 06-07/2007 Frauenheilkunde, Universitätsspital Zürich

09/2008: Staatsexamen

### Weiterbildung:

---

Seit 01/2009 Assistenzärztin Chirurgie Spital Bülach (Frau Dr. B. Muff, Chefärztin) Weiterbildungsziel Fachärztin für Chirurgie



## **Wissenschaftliches Arbeiten:**

---

Fallvorstellung „Seltene Ursache eines Dickdarmileus“ (Schmidt, Dinçler, Schubiger, Muff) mit Posterpräsentation am Jahreskongress der Schweizerischen Gesellschaft für Viszeralchirurgie und Gastroenterologie Kongresshaus Zürich 09/2009

## **Varia:**

---

Fremdsprachen:

- Englisch und Spanisch (sehr gut)
- Französisch (fliessend)
- Italienisch (Grundkenntnisse)

Mitgliedschaften:

- OK Blutspendenaktion 2005 der Zürcher Hochschulen
- Präsidentin Verein Staatsexamen 2008, Abschlussrede an Staatsexamensfeier Grossmünster 09/2008
- Assistenzärztervertretung Spital Bülach
- Mitglied der FMH Schweiz sowie des VSAO

Interessen: Sport, Musik, Literatur