

Aus der Klinik und Poliklinik
für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
- Campus Großhadern -
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. K. Frieze)

**Zytokinexpression bei schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen mit
Candidose**

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

vorgelegt von
Angélique Thormann
aus
Weinheim a.d. Bergstraße
2014

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. habil. E.-R. Weissenbacher

Mitberichterstatterin: PD Dr. Claudia Bovelli

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. habil. H. Spitzbart †
PD Dr. med. Tobias Marcus Weissenbacher

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M.Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 27.03.2014

In Liebe
meinen Eltern und Großeltern gewidmet



Abb.1:
OUROBOROS

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	
1.1. Die Candidose in der Frauenheilkunde.....	7
2. Bedeutung der Zytokine	
2.1. Definition und Eigenschaften der Zytokine.....	12
2.2. Definition und Eigenschaften spezifischer proinflammatorischer Zytokine	
2.2.1. Interleukin-1.....	14
2.2.1.1. Interleukin-1 α	15
2.2.1.2. Interleukin-1 β	15
2.2.1.3. Interleukin-12.....	16
2.2.1.4. Tumornekrosefaktor α	17
2.3. Rolle der Zytokine in der lokalen Immunantwort.....	18
2.4. Die Pathogenese einer VVC.....	18
3. Fragestellung.....	22
4. Material und Methoden	
4.1. Material	23
4.2. Patientengut.....	23
4.2.2. Probengewinnung	
4.2.2.1. Probengewinnung bei schwangeren Patientinnen.....	24
4.2.2.2. Probengewinnung bei nichtschwangeren Patientinnen.....	26
5. ELISA	
5.1. Quantitative Bestimmung von IL-1 α	27
5.2. Quantitative Bestimmung von IL-1 β	32
5.3. Quantitative Bestimmung von IL-12.....	36
5.4. Quantitative Bestimmung von TNF- α	41

6.	Ergebnisse.....	46
6.1.	Ergebniswerte.....	49
6.1.1.	Zytokinkonzentrationen bei schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen	
6.1.1.1.	Interleukin-1 α	49
6.1.1.2.	Interleukin-1 β	50
6.1.1.3.	Interleukin-12.....	51
6.1.1.4.	TNF- α	52
6.1.2.	Weitere diagnostische Marker bei schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen	
6.1.2.1.	pH-Wert im Vaginalsekret.....	53
6.1.2.2.	Reinheitsgrad des Vaginalsekretes.....	54
6.1.2.3.	Farbe des Vaginalsekretes.....	55
6.1.2.4.	Altersverteilung.....	56
6.1.3.	Nichtschwangere Patientinnen	
6.1.3.1.	Nichtschwangere Patientinnen: Einteilung der Candidaspezies.....	57
6.1.3.2.	Nichtschwangere Patientinnen und Candidaspezies: Konzentrationen der Zytokine im Vergleich.....	58
6.1.4.	Schwangere Patientinnen	
6.1.4.1.	CRP-Werte bei den Schwangeren.....	60
6.1.4.2.	Schwangerschaftsrisikogruppen im Vergleich im Hinblick auf das Verhalten der Zytokine.....	61
6.1.4.3.	Schwangerschaftsrisikogruppen im Vergleich im Hinblick auf das Verhalten weiterer diagnostischer Marker.....	62
7.	Diskussion.....	63
7.1.	Candidaspezies.....	65
7.2.	Zytokinexpression.....	67
7.2.1.	Zytokinexpression bei Nichtschwangeren	68
7.2.2.	Zytokinexpression bei Schwangeren	69
7.2.3.	Zytokinexpression bei Schwangeren und Nichtschwangeren im Vergleich.....	73
7.3.	Einfluss des pH-Wertes.....	76
7.4.	Reinheitsgrad des Vaginalsekretes.....	79

7.5.	Farbe des Vaginalsekretes.....	81
7.6.	Altersverteilung.....	83
7.7.	Bedeutung von Risikoschwangerschaften	
7.7.1.	Risikoschwangerschaft und Candidose.....	83
7.7.2.	Folgen von Risikoschwangerschaften.....	84
7.8.	Risikoschwangerschaften im Einzelnen	
7.8.1.	Zervixinsuffizienz.....	85
7.8.2.	Vorzeitiger Blasensprung.....	87
7.8.3.	Vorzeitige Wehen.....	91
7.8.4.	Terminüberschreitung und Übertragung.....	95
7.8.5.	Geminischwangerschaft.....	97
7.8.6.	Geburtswehen.....	101
7.9.	Prävention der vulvovaginalen Candidose.....	107
8.	Zusammenfassung.....	108
9.	Tabellen.....	111
10.	Abbildungsverzeichnis.....	113
11.	Abkürzungen.....	115
12.	Glossar.....	118
13.	Literaturverzeichnis.....	121
	Danksagung.....	135
	Eidesstattliche Versicherung.....	

1. Einleitung

1.1. Die Candidose in der Frauenheilkunde

75 % der Frauen in den westlichen Ländern sind im Laufe ihres Lebens von einer vulvovaginalen Candidose (VVC) betroffen. Der den Saccharomyceten zuzuordnende *Candida albicans* ist ein ubiquitär vorkommender, fakultativ pathogener Hefepilz. Er ist einer der häufigsten opportunistischen Krankheitserreger unter den Pilzen im Menschen, der sowohl oberflächliche, lokale als auch ernsthafte systemische Erkrankungen verursacht. [161]

Abteilung:	Schlauchpilze (Ascomycota)
Klasse:	Saccharomycetes
Ordnung:	Echte Hefen (Saccharomycetales) incertae sedis
Gattung:	<i>Candida</i>
Art:	<i>Candida albicans</i>

Tabelle 1:
Systematik von *Candida albicans*

Nach der bakteriellen Vaginose (BV) mit einer Häufigkeit von 22-50% ist die VVC mit einer Häufigkeit von 17-39% die zweithäufigste Ursache für eine Vaginitis. [44] Der Studie von Verhelst et al. entsprechend liegt die Prävalenz der BV bei über 30 %. [158] Laut Aussage von Ilkit und Guzel in ihrer Studie von 2011 wird bei 40 % der Frauen mit symptomatischen Beschwerden in der Vagina eine Vulvovaginalcandidose diagnostiziert. [78] Eine exakte Inzidenzrate der VVC ist aktuell nicht bekannt. Ca. 70-90% der VVC werden von *Candida albicans* verursacht. Inzwischen wächst jedoch die Inzidenz der durch *Candida* Subspecies, insbesondere *Candida glabrata*, hervorgerufenen VVC weltweit. [44]

Bei einer Candidose kommt es zu einer deutlichen Vermehrung dieser Spezies im weiblichen Genital, was häufig ohne manifeste symptomatische Beschwerden einhergeht. Wird die Infektion symptomatisch, so sind die Erscheinungen in vielen Fällen unspezifisch: z.B. Brennen, Juckreiz, vermehrt weiß-gelblicher Fluor vaginalis, Trockenheit der Scheide. Prädisponierende Faktoren eines übermäßigen Befalls von *Candida albicans* im vulvovaginalen Bereich der Frau können ein Diabetes mellitus,

die Einnahme von (hochdosierten) Kontrazeptiva, immunsuppressive Maßnahmen, eine (Breitband-) Antibiotika-Behandlung, aber auch ein regelmäßiger Einsatz von Intimpflegeprodukten, Geschlechtsverkehr und eine Schwangerschaft sein. [86]

Im dritten Trimenon ist die Vagina, welche in der Schwangerschaft besonders unter dem Einfluss von Östrogen steht, in mindestens 20 % der Fälle, bei immunsupprimierten Patientinnen in mindestens 30 % der Fälle mit Candidaarten kolonisiert. [7]

Bei einer übermäßigen Besiedelung des Hefepilzes erfolgt eine Invasion der Candidaspezies durch die Haut von Vagina und Vulva in Form von Hyphenbildung. Die Folge ist eine vermehrte Abschilferung der Zellen des unverhornten (an den Schamlippen teilweise verhornten), mehrschichtigen Plattenepithels von Vulva und Vagina. Das Epithel wird dünner, die Zellverbindungen untereinander lockern sich. Somit ist eine natürliche Barrierefunktion des immunkompetenten Organs, der Vaginalhaut, nicht mehr gewährleistet und der Pilz dringt in tiefere Zellschichten ein. Befindet sich die Patientin zusätzlich in einer immunologischen Dysbalance, kann es zu einem lokalen Infektionsgeschehen kommen. [96,86]

Das Erkrankungsbild einer vaginalen bzw. vulvovaginalen Candidainfektion ist bei einem Anteil von 5 Millionen Frauen bundesweit eine ernst zu nehmende Diagnose. Besonderes Augenmerk gilt den chronisch rezidivierenden Vulvovaginalcandidosen (CRVVC), welche bei einem bundesweiten Anteil von ca. 5000 Frauen liegen. [165]

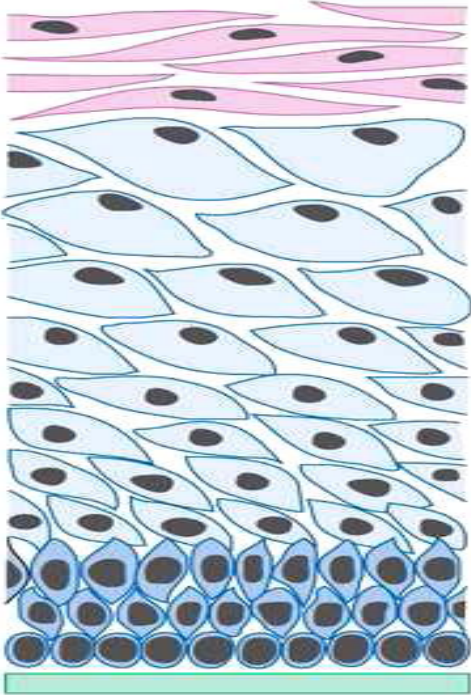


Abb.2:
Schematische Darstellung des
Vaginalepithels in vier Schichten,
entsprechend der namentlichen
Zuordnung von unten nach oben:

- 1.Stratum basale
- 2.Stratum parabasale
- 3.Stratum intermedium
- 4.Stratum superficiale

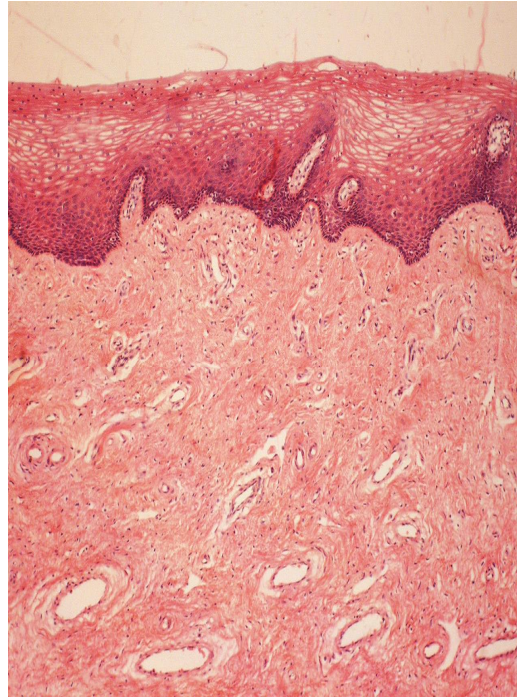


Abb.3:
Drüsenfreies, unverhorntes, mehrschichtiges
Plattenepithel der Vagina;
die lumenwärtsgerichtete Schicht oben zeigt
das Stratum superficiale

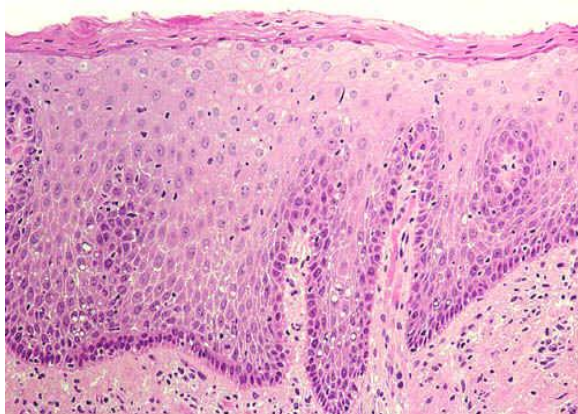


Abb.4:
Vaginalepithel (HE-Färbung)

Häufig, aber nicht zwingend, kommt es bei einer Vulvovaginalcandidose zu einer Abnahme der Anzahl von aeroben Laktobazillen, welche unter normalen Umständen mit einer Keimzahl von 10^5 - 10^8 in einer gesunden, d.h. eubiotischen Scheidenflora vorherrschen. Bei einer akuten Infektion erhöht sich entsprechend der Anteil der Granulozyten, was als Zeichen einer akuten Infektion gedeutet wird. Bereits unter dem Lichtmikroskop können durchaus vereinzelte Hyphen, Blastosporen und Pseudohyphen erkennbar sein. Allerdings ist diese Untersuchung nicht immer aussagekräftig, da manchmal lediglich Sprosszellen gesehen werden. Da *Candida albicans* die Eigenschaft besitzt, seine Zelloberfläche kontinuierlich zu verändern, und somit von der Hefe- in die Hyphenform wechselt, ist es nicht unbedingt gewährleistet, *C.albicans*-spezifische Zellformen im Vaginalabstrich zu Gesicht zu bekommen. [104,28]

Bei therapieresistenten chronisch rezidivierenden vulvovaginalen Candidosen und in besonders schwierigen Fällen wird daher empfohlen, eine Kultur anzulegen. [74]

Als Standard zur Sicherung der Diagnose einer durch *Candida albicans* verursachten Vulvovaginalcandidose hat sich das Anlegen einer Kultur mithilfe von Sabouraud-2%-Glukose-Agar, Kimmig-Agar oder per Selektivagar "CandiVag" nach Blenk und Weissenbacher bewährt. Um eine exakte Differenzierung der Candidaspezies vornehmen zu können, bieten sich Reisagar oder Medien mit chromogenen Substanzen an. [165]

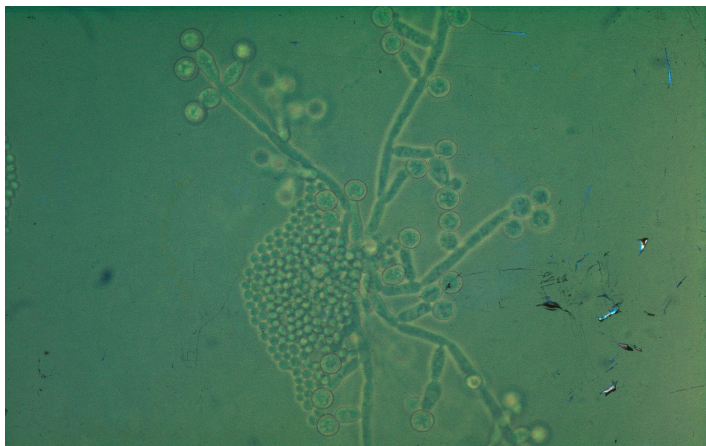


Abb.5:
Mikroskopische Aufnahme von *Candida albicans* auf Reisagar:
deutlich erkennbar sind die länglich geformten Pseudohyphen
sowie Chlamydosporen und Blastokonidien

Vulva und Vagina von ca. 10-38 % der schwangeren Frauen sind mit *Candida* subspecies besiedelt. Die völlig neu eingestellte Hormonlage mit einem erhöhten Östrogenspiegel, eine veränderte Immunzellantwort und ein erhöhter Glykogengehalt im vaginalen Epithel in der Schwangerschaft begünstigen das Wachstum von *Candida*-Arten. In mindestens 85 % der Fälle lässt sich die Art *Candida albicans* nachweisen. Diese Tatsache bedeutet allerdings noch nicht, dass es zu einer manifesten Infektion kommen muss. Im Hinblick auf eine mögliche Übertragung des *Candida*-Erregers von der Mutter auf das Neugeborene jedoch sollte eine sorgfältige und regelmäßige Diagnostik in der Schwangerschaft erfolgen. Bereits 1994 formulierten Mendling und Spitzbart die Empfehlung, ab der 34. SSW eine Pilzkultur anzulegen und bei positivem Befund eine Therapie unabhängig von klinischen Symptomen einzuleiten. [100]

Eine Studie nach Blaschke-Hellmessen et al. und Hoppe et al. stellte heraus, dass die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung des *Candida*-Erregers über die Haut des Neugeborenen bei einer vaginalen Geburt bei 80 % liegt. Die Autoren beschrieben ein mit der Übertragung des Pilzes auftretendes Phänomen, bei welchem 90 % der Neugeborenen im ersten Lebensjahr mit einem Häufigkeitsgipfel von 10-15 % in den ersten 14 bis 28 Lebenstagen an einer Mykose erkranken. [20] An dieser Stelle wird die Bedeutung der Therapie in der Schwangerschaft entsprechend der Leitlinien deutlich.

2. Bedeutung der Zytokine

2.1. Definition und Eigenschaften der Zytokine

Zytokine sind Polypeptide ohne Immunglobulincharakter mit lokaler und zum Teil auch systemischer Wirkung (z.B. IL-1: Induktion von Fieber). Sie werden unter anderem von an der Immunantwort beteiligten Zellen, z.B. Makrophagen, Monozyten, B-Zellen, T-Zellen, Dendritischen Zellen und Epithelzellen, freigesetzt. [83,53,130,136]

Diese Botenstoffe arbeiten in der Regel in einem Netzwerk aus mehreren Faktoren (z.B. andere Zytokine, Chemokine) zusammen. [136]

Sie können aber auch von Zellen außerhalb des Immunsystems freigesetzt werden (z.B. Neurone). [136]

Sie fungieren als sogenannte Mediatoren in der (humanen) Immunabwehr und können sowohl autokrine, parakrine als auch endokrine Eigenschaften haben. [134,53]

Zytokine haben Einfluss auf die Immunregulation in hemmender oder fördernder Weise (Pleiotropismus, Pleomorphismus). [83]

Die Zytokine als Botenstoffe können in folgende Kategorien unterteilt werden:

- Interleukine (z.B. IL-1 α , IL-4, IL-18)
- Koloniestimulierende Faktoren (z.B. G-CSF)
- Interferone (z.B. IFN- β)
- TNF-Familie (z.B. TNF- α)
- nicht zugeordnete Mediatoren (z.B. MIF, TGF- β 1)

Die Chemokine (z.B. MIP-1 β , CXCL-8 [veraltet:IL-8]), kleine Signalproteine mit 75-125 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 8 bis 14 Kilodalton (kDa), bilden mittlerweile eine eigene Kategorie. [103]

Die in dieser Arbeit untersuchten Zytokine IL-1 α , IL-1 β , IL-12 und TNF- α zählen zu den sogenannten proinflammatorischen Zytokinen. [136]

Sie spielen sowohl bei akuten lokalen als auch systemischen Entzündungsmechanismen im Organismus eine prominente Rolle. [103]

In der Literatur erfolgt die Einteilung der Zytokine nicht stringent. Dies hängt sicherlich auch mit den voneinander unabhängigen Ursprüngen des großen Bereiches der Zytokinforschung in der Vergangenheit zusammen:

1. Lymphokine (veralteter Begriff für von Lymphozyten sezernierten Zytokinen)
2. Interferone
3. Wachstumsfaktoren (hämatopoetische)
4. andere Wachstumsfaktoren nicht hämatopoetischer Zellen [153]

Meistens werden sie entsprechend ihrer Funktion während einer Immunantwort eingeteilt. Einige Zytokine haben pleiotrope (gegensätzliche) Funktionen und werden oftmals unterschiedlich kategorisiert. In einigen Fällen werden sie in entzündungsfördernde und entzündungshemmende Zytokine eingeteilt: IL-1 α , IL-1 β und IL-12 werden der Untergruppe der Interleukine zugeordnet. [83]

Interleukine ("zwischen den Leukozyten bewegen") sind klonierte, exprimierte, gereinigte und sequenzierte Proteine, die nachweislich natürliche Produkte des Immunsystems sind und dort ihre Hauptfunktion haben. Bis dato sind die Interleukine IL-1 bis IL-37 identifiziert worden. [130]

Das komplexe Zytokinnetzwerk balanciert sowohl proinflammatorische als auch anti-inflammatorische Effekte der Immunantwort aus. Ein Ungleichgewicht zwischen beiden Zytokingruppen kann einen entzündlichen Prozess oder unter bestimmten Voraussetzungen sogar keine Reaktion hervorrufen. [103]

Die für lokale Immunantworten notwendigen Zytokine und Chemokine (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-12 und CXCL8* [veraltet:IL-8]) werden von Dendritischen Zellen und Makrophagen als Antwort auf Produkte von Bakterien gebildet. [103]

*** Der einfachen Lesbarkeit wegen wird das Chemokin CXCL8 in dieser Arbeit mit IL-8 bezeichnet, obwohl es per se kein Interleukin ist. In den im Folgenden zitierten Studien wird dieses Chemokin ebenso mit der Abkürzung IL-8 benannt.**

2.2. Definition und Eigenschaften spezifischer proinflammatorischer Zytokine

2.2.1. Interleukin-1

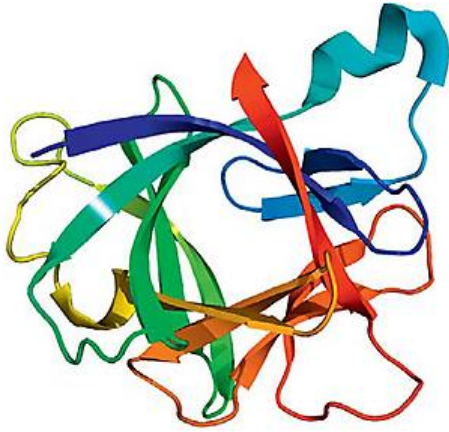


Abb. 6:
Strukturmolekül von IL-1

Das proinflammatorische Zytokin IL-1 wurde 1972 von Gery et al. entdeckt und entsprechend seiner Funktion, als ein die Zellteilung von B- und T-Zellen anregendes Protein (Mitogen), zunächst als Lymphocyte-Activating-Factor (LAF) bezeichnet. [60,61]

Im Hinblick auf seine proinflammatorische Wirkung ist es in der Lage, Fieber zu induzieren sowie T-Zellen und Makrophagen zu aktivieren. [103,39]

Eine der wesentlichen Funktionen des IL-1 bei Entzündungen ist, die Enzyme Cyclooxygenase-2, Phospholipase A sowie Nitrooxidsynthase (NOS) anzuregen, um für die Synthese von PGE, des Plättchenaktivierenden Faktors (in Englisch: "platelet activating factor": PAF) und Stickstoffmonoxid (NO) zu sorgen. Eine weitere proinflammatorische Eigenschaft ist es, die Expression von Adhäsionsmolekülen (z.B. intrazelluläre Adhäsionsmoleküle 1, ICAM-1) zu steigern. Ferner ist IL-1 für die Bildung von Blutgefäßen notwendig, indem es die Ausschüttung des Wachstumsfaktors "Vascular Endothelial Growth Factors" (VEGF) verstärkt. [153,60,61]

Zur IL-1 Familie gehören ebenfalls die beiden Rezeptoren IL1-R1 und IL1-R2 sowie der antiinflammatorisch wirkende Rezeptorantagonist IL1-RA.

1985 erkannten die Wissenschaftler March et al., dass IL-1 aus zwei divergenten Proteinen, nämlich IL-1 α und IL-1 β besteht. [92]

Beide Proteine binden an die gleichen Rezeptoren (IL-1R1 und IL-1R2) und haben ähnliche Eigenschaften. [153]

2.2.1.1. Interleukin-1 α

Interleukin-1 α ist ein Monomer mit einer molekularen Masse von 17,5 kDA. Es wird analog zu IL-1 β als Vorläuferprotein synthetisiert. [4] Interessant ist, dass beide Unterformen (IL-1- α und IL-1 β) in den Mikrotubuli im Zytosol gebildet und sezerniert werden können. Die Proteine der meisten anderen Zytokine werden üblicherweise im Endoplasmatischen Retikulum produziert. [132]

Allerdings ist das Vorläuferprotein Pro-IL-1 α im Gegensatz zu Pro-IL-1 β bereits biologisch aktiv. [102]

Es stammt vorzugsweise aus Makrophagen und Epithelzellen. [103]

2.2.1.2. Interleukin-1 β

IL-1 β ist ein Monomer und setzt sich aus 153 Aminosäuren zusammen. Es hat eine molekulare Masse von etwa 17,5 kDA. [103,153]

Voraussetzung für die biologische Aktivität von Pro-IL-1 β ist die proteolytische Spaltung durch das Interleukin-1 β -Converting-Enzym (ICE). [153] Obwohl ICE vorrangig für die Spaltung des intrazellulären Vorläuferproteins Pro-IL-1 β zuständig ist, gibt es auch andere Proteasen wie Proteinase-3, die in der Lage sind, Pro-IL-1 β extrazellulär in eine aktive Form zu bringen. [153,19]

Prof. Dr. Charles Dinarello, ein aus den USA stammender renommierter Immunologe und Pionier in der Zytokinforschung, klonierte als erster Wissenschaftler IL-1 β und etablierte die Anwendung von IL-1-Hemmstoffen (z.B. Anakinra, ein IL-1-Rezeptorantagonist sowie monoklonale Antikörper, z.B. Infliximab). [172] Es wird wie IL-1 α vorrangig von Makrophagen und Epithelzellen sezerniert. [103]

2.2.1.3. Interleukin-12

Aufgrund seiner Eigenschaften wurde das aus einem p40-p35 Heterodimer bestehende Interleukin-12 in der Fachliteratur Ende der Achtziger Jahre zeitgleich zum einen als CTL Maturation Faktor (Cytotoxic Lymphocyte Maturation Factor) , als T-Zell-stimulierender Faktor (T-cell-stimulating factor) und als Natürlicher Killerzellen stimulierender Faktor (Natural killer cell stimulatory factor) beschrieben. [153]

Die Hauptfunktionen von IL-12 sind seine positiven Auswirkungen, zum einen als Induktor und zum anderen als Effektor, auf die zellvermittelte Immunität.

Neben der Aktivierung von NK-Zellen, der Differenzierung von antigenpräsentierenden CD4-Zellen in TH₁-Zellen, der Förderung des Wachstums von B-Zellen und der Hemmung von TH₁-Zellen hat dieses Interleukin die Aufgabe, die Produktion entzündungsfördernder Zytokine in Makrophagen anzuregen. [153]

IL-12 wird vorwiegend von Makrophagen und Dendritischen Zellen gebildet. [103]

Die Produktion von IL-12 wird durch unterschiedlichste Faktoren sowohl auf exogenem als auch auf endogenem Weg hervorgerufen. Zur exogenen Kategorie gehören z.B. CD14-Moleküle, Bakterien, Lipoproteinsäuren und zahlreiche schädigende Produkte verschiedenster Erreger von Candida, Listerien, Mykobakterien, Neisserien, Plasmodien, Staphylokokken, Toxoplasmen, Yersinien und anderen. Die endogene Stimulierung von IL-12 erfolgt über die Interaktion zwischen antigenpräsentierenden Zellen (APC) und TH₁-Zellen. [153]

2.2.1.4. Tumornekrosefaktor α

Der Tumornekrosefaktor α (Synonyme: TNF, TNF- α [veraltet: Kachektin]) gehört innerhalb der TNF-Familie zur Subpopulation der Zytokine. Er ist ein pleiotropes proinflammatorisches Zytokin mit komplexen Eigenschaften. [153]

TNF- α wird vorläufig als ein membranständiges Protein transkribiert und setzt sich aus einem Homotrimer (Protein aus drei identischen Teilen) zusammen. Mithilfe des TNF- α -Converting-Enzyms (TACE), eine Metalloproteinase, wird das Vorläuferprotein proteolytisch gespalten und als eine aktive, lösliche Form freigesetzt. [103]

Zunächst wurde TNF- α als ein Mediator mit antitumoralen Wirkungen, welcher in Sarkomen und anderen Tumoren einen nekrotischen Zelltod induziert, entdeckt. Das aus 157 Aminosäuren bestehende Protein ist ein Homotrimer. Es wirkt sowohl auf systemischer als auch auf lokaler Ebene und induziert IL-1. [103,41]

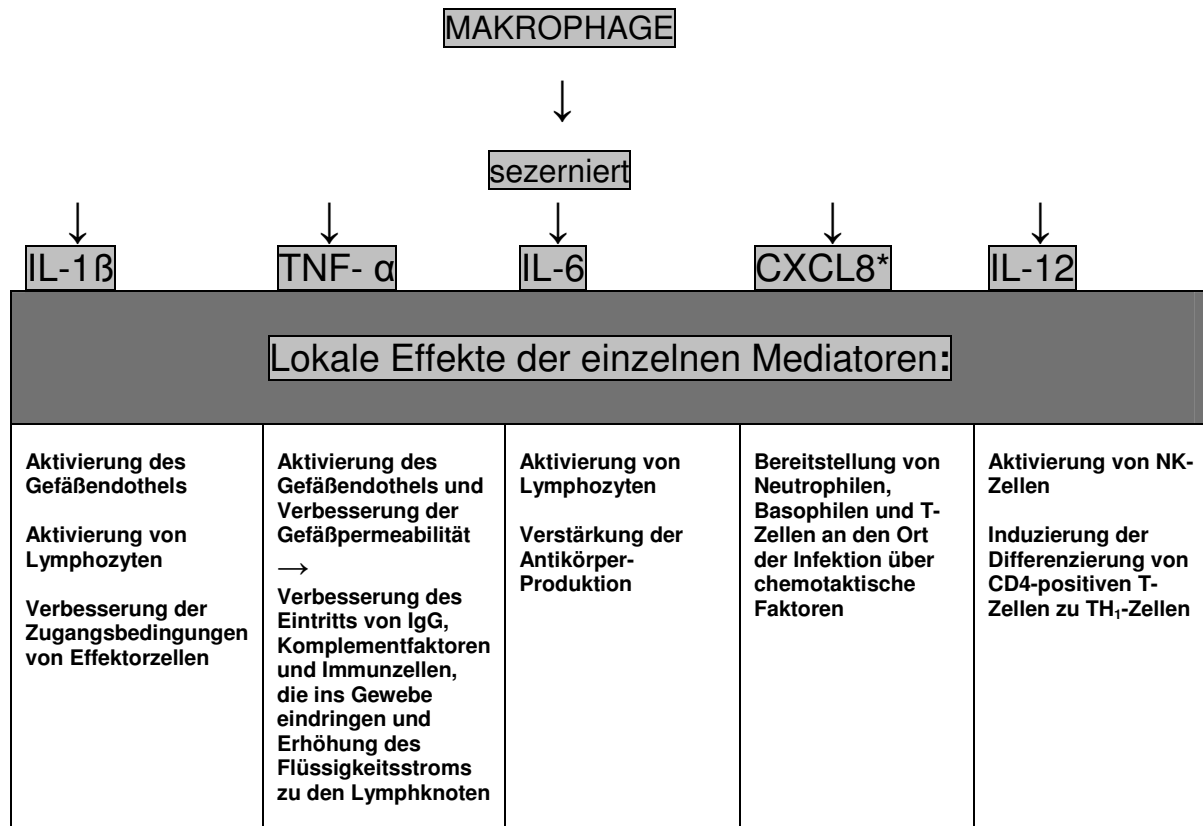
Andererseits kann IL-1 wiederum ein Stimulus für eine TNF-Produktion sein. Im Bereich der inflammatorischen Geschehen hat TNF- α folgende Effekte: Er fördert Entzündungsreaktionen, die Endothelaktivität, die Zytotoxizität, die NK-Zellfunktion und fungiert als Mediator der IL-2 Tumor-Toxizität. [153]

Systemisch kann er auf der Ebene des ZNS Fieber induzieren und einen (septischen) Schock verursachen. [103,153]

Auf der lokalen Ebene induziert TNF- α eine lokale Entzündungsantwort und trägt dazu bei, Infektionen in Grenzen zu halten. [103] Systemisch hat TNF- α die Aufgabe der Regulierung von Entzündungen, der Kachexie und der Tumor-Abwehr. [53]

TNF- α wird vorzugsweise von Immunzellen wie z.B. Makrophagen, Natürlichen Killerzellen und T-Zellen, aber auch von Nichtimmunzellen wie z.B. Epithelzellen, Astrozyten und Herzmuskelzellen gebildet. [103,153]

2.3. Rolle der Zytokine in der lokalen Immunantwort



* CXCL8: Chemokin, vormals als IL-8 bezeichnet

Tabelle 2:

Funktionen der spezifischen Mediatoren in der lokalen Immunantwort

Modifizierte Darstellung aus: *Janeway's Immunobiology*, von Kenneth P. Murphy, 8. Auflage 2012, S.101 [103]

2.4. Die Pathogenese einer VVC

Wie kommt es nun zu einer lokalen Infektion mit *Candida albicans*?

Zwei Voraussetzungen sind maßgeblich für ein potientes lokales Infektionsgeschehen, wie es bei einer Vulvovaginalcandidose der Fall ist:

1. eine geschwächte Immunabwehr des Wirtes
2. spezifische Virulenzeigenschaften des Erregers [28,86]

Frauen im gebärfähigen Alter haben eine deutlich höhere Inzidenz, an einer

Pilzinfektion im weiblichen Genital zu erkranken. [7]

Eine wesentliche Rolle spielen bei ansonsten gesunden Frauen die Wirkung von Östrogenen, mit einem erheblichen Anstieg gegen Ende der Follikelphase des Menstruationszyklus, die Einnahme von antibiotisch wirkenden Arzneimitteln und ein regelmäßiger Geschlechtsverkehr. All diese Faktoren beeinflussen die Homöostase des Vaginalepithels in einer ungünstigen Weise. [7,86]

Liegt eine geschwächte Immunantwort im Bereich des weiblichen Genitaltraktes vor, werden *Candida albicans*, einem opportunistischen Erreger, gute Voraussetzungen eingeräumt, den Vulvovaginalbereich rasch und übermäßig zu besiedeln.

Das Überleben von *Candida albicans* ist vom Scheiden-pH-Wert nahezu unabhängig. Aufgrund seiner dimorphen angepassten Struktur kann er im sauren, neutralen als auch im alkalischen Bereich in der Scheide überleben und sich vermehren. [110]

Somit wird verständlich, dass eine Unterscheidung zwischen saurem und alkalischen pH-Wert im Vaginalsekret als Erstdiagnose zwar sinnvoll, jedoch der pH-Wert allein für den Arzt nicht verlässlich ist. Ledger und Witkin stellen zur Unterscheidung zwischen einer bakteriellen Vaginose und einer *Candida* Vaginitis eine Methode zur schnelleren und effizienteren Diagnose dar. Bei symptomatischen Patientinnen können mithilfe eines Test-Streifens sowohl der vaginale pH-Wert als auch das Vorhandensein von Aminen getestet werden. Ein saurer pH-Wert $< 4,5$ und ein negativer Amintest sprechen für eine Candidose, hingegen ein alkalischer pH-Wert $> 4,5$ und ein positiver Amintest für eine bakterielle Vaginose. [86]

Aufgrund spezifischer Eigenschaften, z.B. die Produktion des Enzyms Hydrolase, ist es dem Erreger möglich, in tiefere Schichten des Epithels einzudringen.

Die Vaginalhaut wird dünner und somit anfälliger für die von außen eindringenden Erreger. Dabei werden wichtige Zellverbindungen (sogenannte tight junctions) im Gewebe des Wirtes gelöst, so dass die Barrierefunktion der Haut immer weniger aufrechterhalten werden kann.

Es kommt zu einer akuten Infektion, welche sich, falls die spezifische Immunabwehr bei der jeweiligen Patientin versagt, ohne Einleitung therapeutischer Maßnahmen chronisch manifestieren kann. In diesem Fall liegt eine chronisch rezidivierende Vulvovaginalcandidose (CRVVC) vor.

Darüber hinaus tragen bestimmte Virulenzfaktoren des *Candida-albicans*-Erregers zu einem möglichen manifesten lokalen Infektionsgeschehen bei.

Verschiedene Forscher haben bereits vor einigen Jahrzehnten herausgefunden, dass sich der Pilz in einer bestimmten Erscheinungsform längere Zeit im Epithel- bzw. Subepithelgewebe aufhalten und eine Neuinfektion möglich machen kann. [146,144,109]

Spitzbart und Thust haben Mitte der Achtziger Jahre mithilfe der elektronenmikroskopischen Untersuchung des Vaginalgewebes festgestellt, dass *Candida albicans* nicht nur auf der Oberfläche, sondern sowohl im Epithel als auch im Subepithel der Vagina zu finden ist. [146]

In der Studie von Odds aus dem Jahr 1994 ging der Wissenschaftler der Pathogenese von Candidainfektionen nach. Er entdeckte, dass die Fähigkeit des Candidaerregers den Phänotypus verändern zu können, ein hohes pathologisches Potential darstellt. [109]

Entsprechend der Aussage der Studie von Wang et al. kann der Prozess der Infektion von Seiten des Erregers in drei Stadien eingeteilt werden:

1. Adhäsion

2. Invasion

3. Schädigung der Wirtszelle

Die Forschergruppe untersuchte die Zusammenhänge der phänotypischen Gene bezüglich dieser drei Stadien und ihrer Rolle in der Interaktion zwischen Wirt und *Candida albicans*.

Aus einer Auswahl spezifischer Gene, welche vorzugsweise in einem bestimmten Stadium vorkommen, wurden vier Gene für die Eigenschaft zur Adhäsion, 12 Gene für die Eigenschaft zur Invasion und drei Gene für zellschädigende Eigenschaften identifiziert. Anhand dieser Untersuchungen konnte die Vermutung, dass bestimmte Komponenten der Zelloberfläche des Erregers maßgeblich für die Zelladhäsion und die Morphogenese des Erregers entscheidend für die Invasion ins Gewebe des Wirtes ist, erhärtet werden. [161]

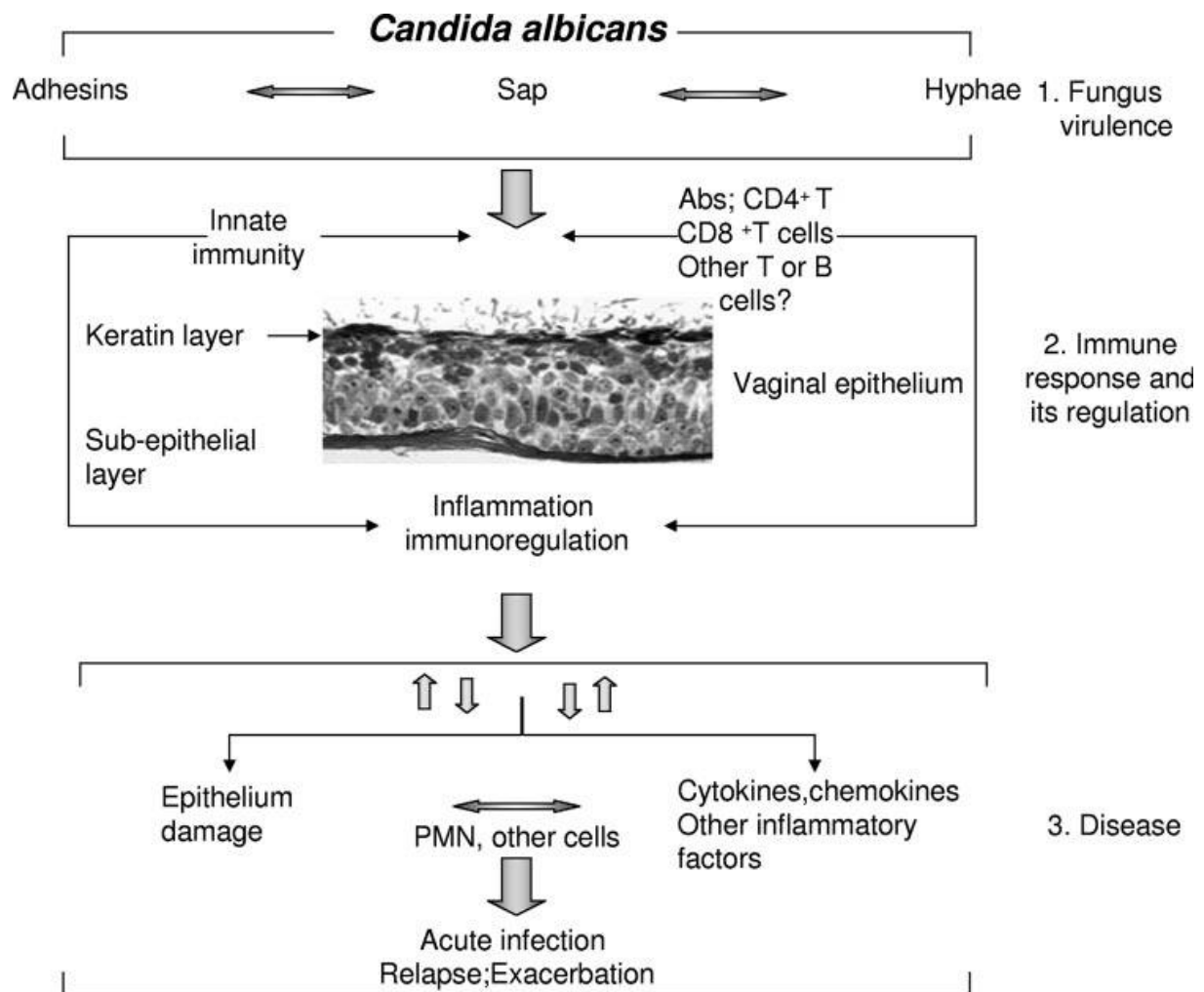


Abbildung 7:
Pathogenese einer Candidavaginitis

Quelle: Cassone A, de Bernardis F, Santoni G. "*Anticandidal Immunity and Vaginitis*": Novel Opportunities for Immune Intervention, Minireview, Infection and Immunity, Oct. 2007; p. 4675–4686. [29]

Das Schema aus der Studie von Cassone et al. veranschaulicht den Zusammenhang zwischen den Virulenzeigenschaften des *Candida*-Erregers, einer vom Wirt regulierten Immunantwort und einem manifesten Infektionsgeschehen. Die in vivo äußerst komplexen Vorgänge sind hier vereinfacht in drei Stadien eingeteilt. Voraussetzungen für ein Krankheitsgeschehen sind zum einen die virulenten Eigenschaften und eine übermäßige lokale Vermehrung des Erregers und zum anderen eine geschwächte Immunabwehr der Patientin. [29]

Fidel hat in seiner Studie von 2005 festgestellt, dass eine symptomatische Vulvovaginalcandidose mit einer aggressiven Reaktion von neutrophilen Granulozyten assoziiert ist und nicht, wie bisher angenommen, auf einer von defekten CD4-positiven-T-Zellen vermittelten Immunreaktion basiert. Der Schutz als

solcher scheint angeboren und nicht inflammatorisch zu sein. Laut Fidel liegt die Bedeutung der angeborenen Immunität sowohl im Schutz vor als auch in der Begünstigung von symptomatischen Vulvovaginalcandidosen. Diese Entdeckung bezeichnete er als einen Paradigmenwechsel. [55]

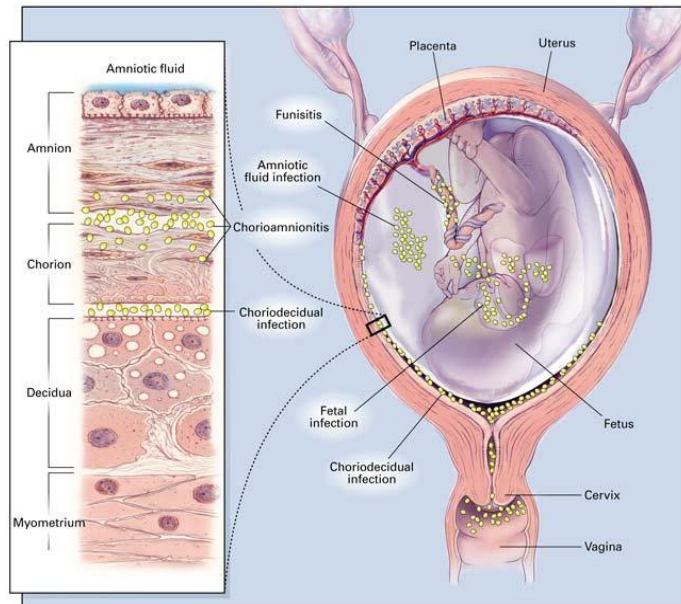


Abbildung 8:
Kompartimente intrauteriner Infektionen in der Schwangerschaft

Quelle: Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. *Intrauterine infection and preterm delivery*. N Engl J Med. 2000 May 18; 342 (20):1500-7. [64]

3. Fragestellung

Das Ziel dieser Arbeit ist es, neue Erkenntnisse über lokale immunologische Prozesse im Vergleich zwischen nichtschwangeren und schwangeren Frauen mit einer Vulvovaginalcandidose zu erhalten.

Im Fokus steht das Vaginalepithel, ein mehrschichtiges unverhorntes Plattenepithel, Teilbereich der menschlichen Haut und entscheidendes Organ bei der Immunabwehr.

Insbesondere im Hinblick auf neuartige diagnostische und therapeutische Möglichkeiten sollen die immunologischen Auswirkungen bei Risikoschwangeren mit positivem Candidabefall im III. Trimenon untersucht werden. Dabei wurden die im

Scheidensekret von 74 nichtschwangeren Candida positiven Frauen und 52 schwangeren Candida positiven Frauen befindlichen proinflammatorischen Zytokine IL-1 α , IL-1 β , IL-12 und TNF- α bestimmt.

4. Material und Methoden

4.1. Material

Die Materialien, die für den Nachweis der Zytokine IL-1 α , IL-1 β , IL-12 und TNF- α (mithilfe eines ELISA-Tests) benötigt worden waren, lieferte die Firma BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles; Belgien (Immunoassay Kit # KAC 1191; Kit # KHC 0012, Kit # KHc 0122, Kit # KHC 3012).

Das gepufferte Waschlösungskonzentrat wurde mit Ampuwa, einem destillierten Wasser für Spülzwecke, welches von der Firma Fresenius GmbH, Bad Homburg in Deutschland bezogen wurde, verdünnt.

Alle Materialien werden im entsprechenden Kapitel detailliert aufgeführt.

4.2. Patientengut

In dieser wissenschaftlichen Arbeit untersuchten wir insgesamt 126 Frauen mit der Diagnose einer genitalen Candidose.

Eine Gruppe von 52 schwangeren Frauen im dritten Trimenon wurde mit einer Gruppe von 74 nichtschwangeren Frauen in Bezug auf die Zytokinexpression im Vaginalsekret und weitere Kriterien wie der vaginale pH-Wert, der Reinheitsgrad, die Qualität des Fluor vaginalis und hinsichtlich der Altersverteilung verglichen.

Die Auswahl der Frauen in beiden Gruppen erfolgte multizentrisch, das bedeutet, die Patientengruppen stammen aus zwei unterschiedlichen medizinischen Einrichtungen.

Zum einen handelt es sich um eine Gruppe von 74 nichtschwangeren Frauen im Alter zwischen 18 und 54 Jahren, welche in einer gynäkologischen Praxis untersucht

wurden. Bei allen Patientinnen wurden eine Anamnese und eine systematische gynäkologische Untersuchung vorgenommen. Um den Verdacht einer Infektion mit Candida zu bestätigen, wurde zunächst ein Abstrich aus der Vagina entnommen [58]. Die Diagnose einer vulvovaginalen Candidose war in diesem Fall zusätzlich mittels einer Kultur gestellt worden. Bei insgesamt 55 Nichtschwangeren standen Symptome wie Juckreiz im Vordergrund, 13 beklagten sowohl Brennen und Juckreiz, drei Patientinnen hatten keine Beschwerden, bei drei weiteren fehlen die Angaben.

Zum anderen handelt es sich um eine Gruppe von 52 schwangeren Frauen im Alter von 17 bis 39 Jahren, welche im Rahmen einer Risikoschwangerschaft in einer Frauenklinik untersucht wurden. Auch diese Gruppe wurde anamnestisch befragt und gynäkologisch im Rahmen der Möglichkeiten untersucht. Bei allen Patientinnen wurde ein Vaginalabstrich entnommen, um den Verdacht einer vaginalen Candidose abzuklären [58]. Bei diesem Patientengut wurden die positiven Candida-Nachweise in der Vagina lediglich mithilfe einer mikroskopischen Untersuchung diagnostiziert.

Es wurden keine zusätzlichen Kulturen angelegt. 23 Schwangere beklagten eindeutig Symptome des vermehrten Fluor vaginalis, von Juckreiz und Brennen begleitet. Zehn Patientinnen berichteten über leichten Juckreiz. Bei vier Patientinnen bestand Brennen mit Dysurie. Sieben Patientinnen gaben Dyspareunie an. Acht Patientinnen hatten laut Angaben keine Beschwerden.

4.2.2. Probengewinnung

4.2.2.1. Probengewinnung bei schwangeren Patientinnen

Im Folgenden wird die Gewinnung der Vaginallavage bei den schwangeren Patientinnen in der Klinik beschrieben.

Material und Geräte

Kristeller'sches Vaginalspekulum

sterile 0,9-%ige NaCl-Lösung der Fa. Merck

NaCl-Lösung

sterile Kanülen

sterile Kunststoffspritzen 3 ml

Langstielige Wattetupfer

pH-Indikatorpapier (Universalindikator mit pH-Bereich 0-14 der Firma Merck)

sterile, verschließbare Probengläschen

Glasobjektträger

Methylenblau (Fa. Merck)

Mikroskop (Fa. Zeiss, 12 x 400-Vergrößerung)

Entnahme des Vaginalsekrets

Zunächst wurde die exakte Spiegeleinstellung der Scheide vorgenommen.

Bei Vorhandensein von Fluor wurde dieser makroskopisch qualitativ bestimmt.

Ebenso wurde der Zustand des unverhornten Plattenepithels von Vulva und Vagina begutachtet und bewertet.

Der pH-Wert des Vaginalsekretes konnte mithilfe eines pH-Mess-Streifens ermittelt werden.

Im Anschluss erfolgte ein Abstrich mit einem Wattestäbchen aus dem hinteren Scheidengewölbe für einen Nativabstrich und einen Abstrich in Methylenblaufärbung auf zwei Objektträgern.

Zur Herstellung einer Vaginallavage wurden 3 ml 0,9%-ige Kochsalzlösung über eine Spritze in die Scheide injiziert. Nachdem die Vaginalflüssigkeit mit der Kochsalzlösung mithilfe eines Wattestäbchens vermischt worden war, wurde die Lavage mit einer Spritze aus der Vagina aufgezogen. Abschliessend wurde die Lavage in einem sterilen verschließbaren Gefäß asserviert, beschriftet und bei - 20 ° Celsius eingefroren.

Über eine mikroskopische Betrachtung des Abstrichs konnten potentiell vorhandene Hyphen, Pseudomyzelien, Myzelien des Candidaerregers und das Vorhandensein von Granulozyten und Lactobazillen diagnostisch bestätigt werden.

Der Reinheitsgrad anhand des Nativabstrichs und nach Blaufärbung des Abstrichpräparates wurde unter dem Mikroskop mit vierzigfacher Vergrößerung bestimmt.

Bearbeitung der Vaginalsekretproben

Das jeweilige Vaginalsekret musste zur weiteren Bearbeitung zunächst aufgetaut und in zwei Eppendorfreaktionsgefäße verteilt werden. Der Inhalt der Eppendorfgefäße wurde mithilfe des Vortex-Gerätes gründlich miteinander vermischt.

In einem weiteren Schritt wurde der Inhalt der Eppendorfgefäße bei 5000 rpm zentrifugiert.

Der Überstand wurde abpipettiert und in ein steriles Eppendorfgefäß gegeben.

Das verbleibende Sediment wurde in 0,5 ml PBS, eine phosphatgepufferte Salzlösung, resuspendiert.

Beide Gefäße einer Probe wurden bei - 80 ° Celsius tief gefroren.

Zur Bestimmung der einzelnen Zytokine mithilfe von ELISA wurden lediglich die jeweiligen mit dem Überstand befüllten Eppendorfgefäße der Patientenproben benötigt.

4.2.2.2. Probengewinnung bei nichtschwangeren Patientinnen

Im Folgenden wird die Entnahme des Vaginalsekretes der nichtschwangeren Praxispatientinnen beschrieben.

Material und Geräte

Kristeller'sches Vaginalspekulum

sterile 0,9-%ige NaCl-Lösung der Fa. Merck

sterile Knopfkanülen

sterile Kunststoffspritzen 2 ccm

sterile, frisch ausgeglühte Platinösen

Gasbunsenbrenner

pH-Indikatorpapier (Firma Merck)

sterile, verschließbare Probengläschen

Glasobjektträger zur Gramfärbung der Präparate

Gramfärbung der Fa. Merck, Färbebank

MRS-Agarplatten zur Bestimmung der Lactobazillen

Sabouraud-Agarplatten

Chromagarplatten zur Differenzierung der Candida-Infektionen

Mikroskop (Axioskop ,Fa. Zeiss, 12 x 400-Vergrößerung)

Wärmebrutschrank der Fa. Medap

Entnahme des Vaginalsekretes

In eine 2 ccm Kunststoffspritze wurden exakt 2 ml einer 0,9-%igen sterilen Kochsalzlösung aufgezogen. Im Anschluss wurde die Lösung in die Vagina eingebracht und mit dem Vaginalsekret durchmischt.

Es wurde streng darauf geachtet, keinen Zervixschleim zu aspirieren, um die Lavage nicht zu kontaminieren.

Sofort wurden 2 ml der Mischlösung in die Plastikspritze aspiriert und in ein steriles Probengläschen gefüllt.

Die Probengläschen wurden unmittelbar im Gefrierschrank bei ca. - 20° Celsius tief gefroren, um eine chemische bzw. bakteriologische Reaktion zu verhindern.

5. ELISA

5.1. Quantitative Bestimmung von IL-1 α

Zur quantitativen In-Vitro-Bestimmung von IL-1 α dient der Enzyme-linked-Immuno-Sorbent Assay (ELISA).

Reagenzien

Zur präzisen Durchführung des ELISA-Tests waren folgende Materialien erforderlich:

- Humanes Interleukin 1- α
- Standard-Puffer
- Inkubationspuffer
- h-IL-1 α beschichtete Mikroküvetten mit jeweils acht Reagenzgefäßen
- h-IL-1 α Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP) , in 100-facher Konzentration
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- Gepufferte Waschlösung, in 25-facher Konzentration
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung
- Abdeckstreifen
- Halterahmen

Darüber hinaus waren notwendig:

- eine Mikropräzisionspipette mit auswechselbaren Kunststoffspitzen
- Aqua ad injectabilia (Aqua a.i.)
- Spektralphotometer , Einstellung der Wellenlänge von 450 nm

Herstellung der Standardverdünnungslösung (Humanes IL-1 α -Standard)

Zunächst musste der Standard in Pulverform in der Standardverdünnungslösung zu 10.000 pg/ml sorgfältig aufgelöst werden. Die Lösung ruhte zehn Minuten, um eine komplette Auflösung der Standardflüssigkeit sicher zu stellen.

Anschließend wurden 0,010 ml dieser Verdünnung zu 0,390 ml des Standardverdünnungspuffers gegeben, so dass sich eine Standardkonzentration von 250 pg/ml ergab. Dies entspricht der Verdünnungslösung mit der höchsten Konzentration im ersten Eppendorfgefäß.

In den nächsten Schritten wurde die weitere Standardverdünnungsreihe nach folgendem Konzept hergestellt:

Zur Herstellung der absteigenden Konzentrationslösung wurden 0,200 ml der bereits hergestellten Standardkonzentrationslösung (entsprechend einer Ausgangskonzentration von 250 pg/ml) mit 0,200 ml der Standardpufferlösung gemischt, so dass eine Lösung mit einer Konzentration von 125 pg/ml entstand.

Alle weiteren Standardkonzentrationslösungen wurden analog in fünf weiteren Schritten durch Mischen von 0,200 ml der jeweils vorangehenden Konzentrationslösung mit 0,200 ml der Standardpufferlösung hergestellt.

Das letzte Eppendorfgefäß enthielt lediglich 0,200 ml Standardpuffer ohne Zugabe der Standardkonzentrationslösung. Insgesamt erhielten wir eine in acht Eppendorfgefäßen befindliche Verdünnungsreihe in der folgenden absteigenden Konzentration:

1. 250 pg/ml (Ausgangskonzentration)
2. 125 pg/ml
3. 62,5 pg/ml
4. 31,3 pg/ml
5. 15,6 pg/ml
6. 7,8 pg/ml
7. 3,9 pg/ml
8. 0 pg/ml

Herstellung der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung

Zur Herstellung einer Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung wurden pro Mikroküvette mit jeweils acht Vertiefungen 0,01 ml der 100-fach konzentrierten Streptavidin-Peroxidase mit 1 ml der Streptavidinlösung vermischt.

Für die benötigten acht Streifen mussten 0,08 ml der Streptavidin-Peroxidase in 8 ml mit der Streptavidinlösung verdünnt werden.

Herstellung der gepufferten Waschlösung

Um eine Waschpufferlösung von 2500 ml zu erhalten, wurde ein Teil des 250-fach konzentrierten Waschpuffers mit 24 Teilen destilliertem Wasser (Ampuwa für Spülzwecke) verdünnt.

Durchführung des ELISA-Tests für IL-1 α

Zuerst wurde die erforderliche Anzahl der Streifen mit jeweils acht Mikroküvetten für die Standard-, Kontroll-, Patientenprobenreihe bereitgestellt und in einem Kunststoffhalterahmen fixiert.

Im weiteren Schritt wurden für die Standardverdünnungsreihe jeweils 0,05 ml der Standardverdünnungslösung, beginnend mit der höchsten Konzentration von 250 pg/ml bis zur niedrigsten von 3,9 pg/ml in die jeweilige Küvette pipettiert. In die letzte Vertiefung wurde lediglich 0,05 ml Standardpufferlösung gegeben, um eine Konzentration von 0 pg/ml zu erhalten.

In die restlichen Mikroküvetten sind jeweils 0,05 ml der Kontrollreihe und 0,05 ml der Patientenproben pipettiert worden. In alle Mikroküvetten wurden jeweils 0,05 ml des Inkubationspuffers sowie 0,05 ml des Biotin Konjugates (Ligand-markiertes-Anti-IL-1 α -Antikörper) gegeben.

Um eine Verunreinigung der Mikroküvetten zu verhindern, wurde die komplette Mikrotiterplatte mit einem Klebestreifen abgedeckt und bei Raumtemperatur für eine Inkubationszeit von zwei Stunden stehen gelassen.

Nachdem die Inkubationszeit beendet war, mussten die nicht gebundenen Antikörper ausgewaschen werden. Dazu wurden die zuvor pipettierten Lösungen ausgegossen und jede Vertiefung jeweils vier Mal mit dem Waschpuffer sorgfältig ausgespült. Um eventuelle Rückstände in den Mikroküvetten zu entfernen, musste die Mikrotiterplatte kräftig auf einem Vliespapier ausgeklopft werden.

In einem weiteren Schritt wurde in jede Vertiefung 0,10 ml der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung in jede einzelne Küvette gegeben. Die Streptavidin-Peroxidase ist dasjenige Enzym, welches für den Farbumschlag verantwortlich ist.

Nachdem die abgedeckte Mikrotiterplatte nochmals 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert worden war, mussten die Küvetten wie bereits beschrieben ausgegossen und erneut mit dem Waschpuffer vier Mal sorgfältig ausgespült werden.

Unter Hinzugabe von 0,10 ml stabilisiertem Chromogen (Tetramethylbenzidin=TMB) in jede Küvette erfolgte ein Farbumschlag in blau. Die Mikrotiterplatte wurde im Dunkeln weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Da Tetramethylbenzidin äußerst lichtempfindlich ist, muss die Lösung in den Mikroküvetten an einen abgedunkelten Platz gebracht werden.

Nach 30 Minuten wurde in jede Küvette 0,10 ml der Stopp-Lösung gegeben, um den Fortgang der Farbreaktion zu beenden. Es erfolgte ein Farbumschlag von blau in gelb. Damit wurde verhindert, dass die Farbkonzentration zu stark und daher die optische Dichte zu hoch ausfallen.

Ist die optische Dichte zu hoch, so ist das Spektralphotometer nicht mehr in der Lage, sie entsprechend zu lesen und auszuwerten.

Bei einer Wellenlänge von 450 nm war es mithilfe des Spektralphotometers möglich, die genaue optische Dichte der Standardreihe und der Patientenproben zu bestimmen.

Bei einigen Proben war die optische Dichte zu hoch, so dass sie im Verhältnis 1:10 verdünnt werden mussten. Das bedeutet, anstelle von 0,05 ml wurden lediglich 0,005 ml der Probe mit 0,045 ml des Standardverdünnungspuffers verdünnt und in die jeweilige Küvette gegeben. In diesem Fall war die optische Dichte für das Photometer lesbar. Bei der Auswertung mussten die einzelnen verdünnten Konzentrationen mit dem Faktor 10 multipliziert werden.

Auswertung der Messergebnisse für IL-1 α

Zur Berechnung wurden die Computerprogramme SPSS und Excel verwendet.

Über die Eingabe der festgelegten Konzentrationen der Standardverdünnungsreihe analog 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml, 15,6 pg/ml, 7,8 pg/ml, 3,9 pg/ml und 0 pg/ml und deren mit dem Spektralphotometer gemessenen zugehörigen Werte der optischen Dichte konnte ein Mittelwert errechnet werden (Tabelle 3).

OD1	OD2	Mittelwert	Konz. [pg/ml]
2,342	2,328	2,335	250
1,302	1,329	1,316	125
0,625	0,687	0,656	62,5
0,337	0,353	0,345	31,3
0,186	0,182	0,184	15,6
0,107	0,113	0,110	7,8
0,069	0,061	0,065	3,9
0,022	0,018	0,020	0

Tabelle 3:
Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für IL-1 α

Mithilfe der Gleichung : $y = -9,4972x^3 + 15,829x^2 + 92,215x - 2,0841$

konnte die entsprechende Konzentration von IL-1 α der jeweiligen Probe exakt berechnet und eine entsprechende Standardkurve erstellt werden.

Im Folgenden ist die Standardkurve von IL-1 α dargestellt (Abb.9):

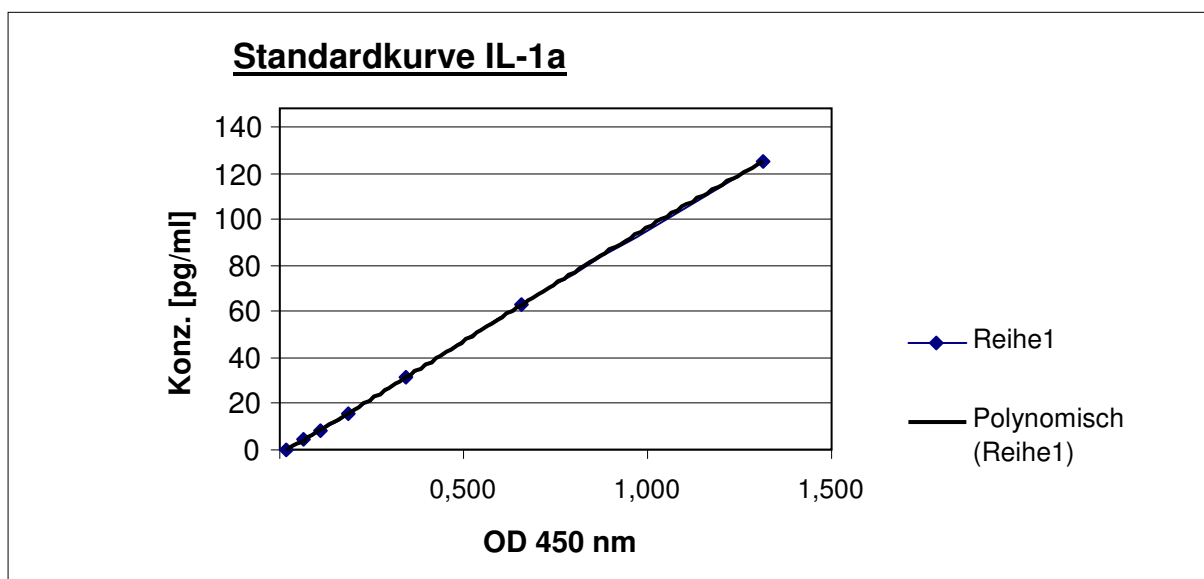


Abbildung 9:
Standardkurve für IL-1 α

5.2. Quantitative Bestimmung von IL-1 β

Zur quantitativen In-Vitro-Bestimmung von IL-1 β dient der Enzyme-linked-Immuno-Sorbent Assay (ELISA).

Reagenzien

Zur präzisen Durchführung des ELISA-Tests waren folgende Materialien erforderlich:

- Humanes Interleukin-1 β
- Standard-Puffer
- Inkubationspuffer
- h-IL-1 β beschichtete Mikroküvetten mit jeweils acht Reagenzgefäßen
- h-IL-1 β Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP) , in 100-facher Konzentration
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- Gepufferte Waschlösung, in 25-facher Konzentration
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung
- Abdeckstreifen
- Halterahmen

Darüber hinaus waren notwendig:

- eine Mikropräzisionspipette mit auswechselbaren Kunststoffspitzen
- Aqua ad injectabilia (Aqua a.i.)
- Spektralphotometer , Einstellung der Wellenlänge von 450 nm

Herstellung der Standardverdünnungslösung (Humanes IL-1 β -Standard)

Zunächst musste der Standard in Pulverform in der Standardverdünnungslösung zu 2.500 pg/ml sorgfältig aufgelöst werden. Die Lösung ruhte zehn Minuten, um eine komplette Auflösung der Standardflüssigkeit sicher zu stellen.

Anschließend wurden 0,100 ml dieser Verdünnung zu 0,900 ml des Standardverdünnungspuffers gegeben, so dass wir eine Standardkonzentration von 250 pg/ml erhielten. Dies entspricht der Verdünnungslösung mit der höchsten Konzentration im ersten Eppendorfgefäß.

In den nächsten Schritten wurde die weitere Standardverdünnungsreihe nach folgendem Konzept hergestellt:

Zur Herstellung der absteigenden Konzentrationslösung wurden 0,250 ml der bereits hergestellten Standardkonzentrationslösung (entsprechend einer Ausgangskonzentration von 250 pg/ml) mit 0,250 ml des Standardpuffers gemischt, so dass eine Lösung mit einer Konzentration von 125 pg/ml entstanden ist.

Alle weiteren Standardkonzentrationslösungen wurden analog in fünf weiteren Schritten durch Mischen von 0,200 ml der jeweils vorangehenden Konzentrationslösung mit 0,200 ml der Standardpufferlösung hergestellt.

Das letzte Eppendorfgefäß enthielt lediglich 0,200 ml Standardpuffer ohne Zugabe der Standardkonzentrationslösung. Insgesamt erhielten wir eine in acht Eppendorfgefäßen befindliche Verdünnungsreihe in der folgenden absteigenden Konzentration:

1. 250 pg/ml (Ausgangskonzentration)
2. 125 pg/ml
3. 62,5 pg/ml
4. 31,3 pg/ml
5. 15,6 pg/ml
6. 7,8 pg/ml
7. 3,9 pg/ml
8. 0 pg/ml

Herstellung der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung

Zur Herstellung einer Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung wurden pro Mikroküvette mit jeweils acht Vertiefungen 0,010 ml der 100-fach konzentrierten Streptavidin-Peroxidase mit 1 ml der Streptavidinlösung vermischt.

Für die benötigten acht Streifen mussten 0,08 ml der Streptavidin-Peroxidase in 8 ml der Streptavidinlösung verdünnt werden.

Herstellung der gepufferten Waschlösung

Um eine Waschpufferlösung von 2500 ml zu erhalten, wurde ein Teil des 250-fach konzentrierten Waschpuffers mit 24 Teilen destilliertem Wasser (Ampuwa für Spülzwecke) verdünnt.

Durchführung des ELISA-Tests für IL-1 β

Zunächst wurde die erforderliche Anzahl der Streifen mit jeweils acht Mikroküvetten für die Standard-, Kontroll-, Patientenprobenreihe bereitgestellt und in einem Kunststoffhalterahmen fixiert.

Im weiteren Verlauf wurden für die Standardverdünnungsreihe jeweils 0,05 ml der Standardverdünnungslösung, mit der höchsten Konzentration von 250 pg/ml beginnend bis zur niedrigsten von 3,9 pg/ml in die jeweilige Küvette pipettiert. In die letzte Vertiefung wurde lediglich 0,05 ml Standardpufferlösung gegeben, um eine Konzentration von 0 pg/ml zu erhalten.

In die restlichen Mikroküvetten wurden jeweils 0,05 ml der Kontrollreihe und 0,05 ml der Patientenproben pipettiert. In alle Mikroküvetten wurden jeweils 0,05 ml des Inkubationspuffers sowie 0,100 ml des Biotin Konjugates (Ligand-markiertes-Anti-IL-1 β –Antikörper) gegeben.

Um eine Verunreinigung der Mikroküvetten zu verhindern, wurde die komplette Mikrotiterplatte mithilfe eines Klebestreifens abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden Inkubationszeit stehen gelassen.

Nachdem die Inkubationszeit beendet war, mussten die nicht gebundenen Antikörper ausgewaschen werden. Dazu wurden die zuvor pipettierten Lösungen ausgegossen und jede Vertiefung jeweils vier Mal mit dem Waschpuffer sorgfältig ausgespült. Um eventuelle Rückstände in den Mikroküvetten zu entfernen, musste die Mikrotiterplatte kräftig auf einem Vliespapier ausgeklopft werden.

In einem weiteren Schritt wurde in jede Vertiefung 0,100 ml der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung in jede einzelne Küvette gegeben. Die Streptavidin-Peroxidase ist dasjenige Enzym, welches für den Farbumschlag verantwortlich ist.

Nachdem die abgedeckte Mikrotiterplatte nochmals 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert worden war, mussten die Küvetten wie bereits beschrieben ausgegossen und erneut mit dem Waschpuffer vier Mal sorgfältig ausgespült werden.

Unter Hinzugabe von 0,100 ml stabilisiertem Chromogen (Tetramethylbenzidin=TMB) in jede Küvette schlug die Farbe in blau um. Die Mikrotiterplatte wurde im Dunkeln weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Da Tetramethylbenzidin äußerst lichtempfindlich ist, muss die Lösung in den Mikroküvetten an einen abgedunkelten Platz gebracht werden.

Nach 15 Minuten wurde in jede Küvette 0,100 ml der Stopp-Lösung gegeben, um den Fortgang der Farbreaktion zu beenden. Es erfolgte ein Farbumschlag von blau in

gelb. Damit wurde verhindert, dass die Farbkonzentration zu stark und daher die optische Dichte zu hoch ausfallen. Ist die optische Dichte zu hoch, so ist das Spektralphotometer nicht mehr in der Lage, sie entsprechend zu lesen und auszuwerten.

Bei einer Wellenlänge von 450 nm war es mithilfe des Spektralphotometers möglich, die genaue optische Dichte der Standardreihe und der Patientenproben zu bestimmen.

Bei einigen Proben war die optische Dichte zu hoch, so dass sie im Verhältnis 1:5 verdünnt werden mussten. Das bedeutet, anstelle von 0,05 ml wurden lediglich 0,01 ml der Probe mit 0,04 ml des Standardverdünnungspuffers verdünnt und in die jeweilige Küvette gegeben. In diesem Fall war die optische Dichte für das Photometer lesbar. Bei der Auswertung mussten die einzelnen verdünnten Konzentrationen mit dem Faktor 5 multipliziert werden.

Auswertung der Messergebnisse für IL-1 β

Wie bereits bei der Auswertung der Messergebnisse für IL-1 α beschrieben, wurden auch in diesem Fall zur Berechnung die Computerprogramme SPSS und Excel verwendet.

Über die Eingabe der festgelegten Konzentrationen der Standardverdünnungsreihe analog 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml, 15,6 pg/ml, 7,8 pg/ml, 3,9 pg/ml und 0 pg/ml und deren mit dem Spektralphotometer gemessenen zugehörigen Werte der optischen Dichte konnte ein Mittelwert errechnet werden (Tabelle 4).

OD1	OD2	Mittelwert	Konz. [pg/ml]
2,296	2,370	2,333	250
1,319	1,422	1,371	125
0,773	0,771	0,772	62,5
0,422	0,411	0,417	31,2
0,238	0,220	0,229	15,6
0,157	0,146	0,152	7,8
0,096	0,084	0,090	3,9
0,047	0,040	0,044	0

Tabelle 4:
Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für IL-1 β

Mithilfe der Gleichung : $y = 6,9692x^3 - 1,6121x^2 + 83,108x - 3,8214$

konnte die entsprechende Konzentration von IL-1 β der jeweiligen Probe exakt berechnet und eine entsprechende Standardkurve erstellt werden.

Im Folgenden ist die Standardkurve von IL-1 β dargestellt (Abb.10):

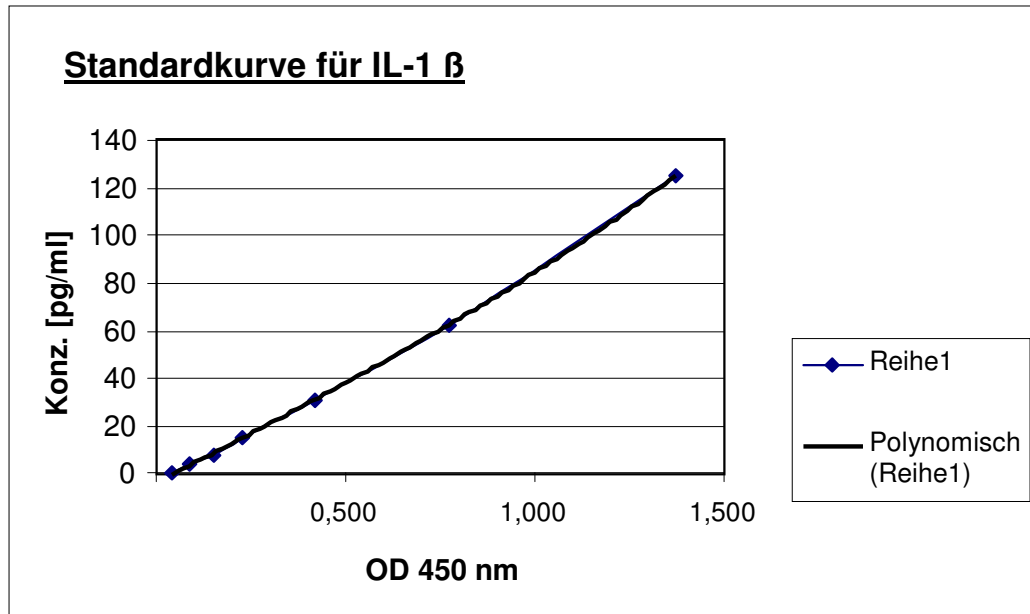


Abbildung 10:
Standardkurve für IL-1 β

5.3. Quantitative Bestimmung von IL-12

Zur quantitativen In-Vitro-Bestimmung von IL-12 dient der Enzyme-linked-Immuno-Sorbent Assay (ELISA).

Reagenzien

Zur präzisen Durchführung des ELISA-Tests waren folgende Materialien erforderlich:

- Humanes Interleukin-12
- Standard-Puffer
- Inkubationspuffer
- h-IL-12 beschichtete Mikroküvetten mit jeweils acht Reagenzgefäßen
- h- IL-12 Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP) , in 100-facher Konzentration
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)

- Gepufferte Waschlösung, in 25-facher Konzentration
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung
- Abdeckstreifen
- Halterahmen

Darüber hinaus waren notwendig:

- eine Mikropräzisionspipette mit auswechselbaren Kunststoffspitzen
- Aqua ad injectabilia (Aqua a.i.)
- Spektralphotometer , Einstellung der Wellenlänge von 450 nm

Herstellung der Standardverdünnungslösung (Humanes IL-12-Standard)

Auch in diesem Fall musste zuvor der Standard in Pulverform in der Standardverdünnungslösung zu 5000 pg/ml sorgfältig aufgelöst werden. Die Lösung ruhte zehn Minuten, um eine komplette Auflösung der Standardflüssigkeit sicher zu stellen.

Anschließend wurden 0,100 ml dieser Verdünnung zu 0,900 ml des Standardverdünnungspuffers gegeben, so dass wir eine Standardkonzentration von 500 pg/ml erhielten. Dies entspricht der Verdünnungslösung mit der höchsten Konzentration im ersten Eppendorfgefäß.

In den nächsten Schritten wurde die weitere Standardverdünnungsreihe wie folgt hergestellt:

Zur Herstellung der absteigenden Konzentrationslösung wurden 0,200 ml der bereits hergestellten Standardkonzentrationslösung (entsprechend einer Ausgangskonzentration von 500 pg/ml) mit 0,200 ml des Standardpuffers gemischt, so dass eine Lösung mit einer Konzentration von 250 pg/ml entstand.

Alle weiteren Standardkonzentrationslösungen wurden analog in fünf weiteren Schritten durch Mischen von 0,200 ml der jeweils vorangehenden Konzentrationslösung mit 0,200 ml der Standardpufferlösung hergestellt.

Das letzte Eppendorfgefäß enthielt lediglich 0,200 ml Standardpuffer ohne Zugabe der Standardkonzentrationslösung. Insgesamt erhielten wir eine in acht Eppendorfgefäßen befindliche Verdünnungsreihe in der folgenden absteigenden Konzentration:

1. 500 pg/ml (Ausgangskonzentration)
2. 250 pg/ml
3. 125 pg/ml
4. 62,5 pg/ml
5. 31,2 pg/ml
6. 15,6 pg/ml
7. 7,8 pg/ml
8. 0 pg/ml

Herstellung der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung

Zur Herstellung einer Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung wurden pro Mikroküvette mit jeweils acht Vertiefungen 0,01 ml der 100-fach konzentrierten Streptavidin-Peroxidase mit 1 ml der Streptavidinlösung vermischt.

Für die benötigten acht Streifen mussten 0,08 ml der Streptavidin-Peroxidase in 8 ml der Streptavidinlösung verdünnt werden.

Herstellung der gepufferten Waschlösung

Um eine Waschpufferlösung von 2500 ml zu erhalten, wurde ein Teil des 250-fach konzentrierten Waschpuffers mit 24 Teilen destilliertem Wasser (Ampuwa für Spülzwecke) verdünnt.

Durchführung des ELISA-Tests für IL-12

Zuerst musste die erforderliche Anzahl der Streifen mit jeweils acht Mikroküvetten für die Standard-, Kontroll-, Patientenprobenreihe bereitgestellt und in einem Kunststoffhalterahmen fixiert werden.

Im nächsten Schritt wurden für die Standardverdünnungsreihe jeweils 0,05 ml der Standardverdünnungslösung, mit der höchsten Konzentration von 500 pg/ml beginnend bis zur niedrigsten von 7,8 pg/ml in die jeweilige Küvette pipettiert. In die letzte Vertiefung wurde lediglich 0,05 ml Standardpufferlösung gegeben, um eine Konzentration von 0 pg/ml zu erhalten.

In die restlichen Mikroküvetten wurden jeweils 0,05 ml der Kontrollreihe und 0,05 ml der Patientenproben pipettiert. In alle Mikroküvetten wurden jeweils 0,10 ml des Biotin Konjugates (Ligand-markiertes-Anti IL-12- Antikörper) gegeben.

Um eine Verunreinigung der Mikroküvetten zu verhindern, wurde die komplette Mikrotiterplatte mit einem Klebestreifen abgedeckt und bei Raumtemperatur für zwei Stunden Inkubationszeit stehen gelassen.

Nachdem die Inkubationszeit beendet war, mussten die nicht gebundenen Antikörper ausgewaschen werden. Dazu wurden die zuvor pipettierte Lösungen ausgegossen und jede Vertiefung jeweils vier Mal mit dem Waschpuffer sorgfältig ausgespült. Um eventuelle Rückstände in den Mikroküvetten zu entfernen, musste die Mikrotiterplatte kräftig auf einem Vliespapier ausgeklopft werden.

In einem weiteren Schritt wurde in jede Vertiefung 0,10 ml der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung in jede einzelne Küvette gegeben. Die Streptavidin-Peroxidase ist dasjenige Enzym, welches für den Farbumschlag verantwortlich ist.

Nachdem die abgedeckte Mikrotiterplatte nochmals 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert worden war, mussten die Küvetten wie bereits beschrieben ausgegossen und erneut mit dem Waschpuffer vier Mal sorgfältig ausgespült werden.

Unter Hinzugabe von 0,10 ml stabilisiertem Chromogen (Tetramethylbenzidin=TMB) in jede Küvette wechselte die Farbe in blau. Die Mikrotiterplatte wurde im Dunkeln weitere 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Da Tetramethylbenzidin äußerst lichtempfindlich ist, muss die Lösung in den Mikroküvetten an einen abgedunkelten Platz gebracht werden.

Nach 20 Minuten wurde in jede Küvette 0,10 ml der Stopp-Lösung gegeben, um den Fortgang der Farbreaktion zu beenden. Es erfolgte ein Farbumschlag von blau in gelb. Damit wurde verhindert, dass die Farbkonzentration zu stark und daher die optische Dichte zu hoch ausfallen.

Ist die optische Dichte zu hoch, so ist das Spektralphotometer nicht mehr in der Lage, sie entsprechend zu lesen und auszuwerten.

Bei einer Wellenlänge von 450 nm war es mithilfe des Spektralphotometers möglich, die genaue optische Dichte der Standardreihe und der Patientenproben zu bestimmen.

Auswertung der Messergebnisse für IL-12

Zur Berechnung der Messergebnisse für IL-12 wurden die Computerprogramme SPSS und Excel verwendet.

Über die Eingabe der festgelegten Konzentrationen der Standardverdünnungsreihe analog 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml,

7,8 pg/ml und 0 pg/ml und deren mit dem Spektralphotometer gemessenen zugehörigen Werte der optischen Dichte konnte ein Mittelwert errechnet werden (Tabelle 5).

OD1	OD2	Mittelwert	Konz. [pg/ml]
1,485	1,479	1,482	500
0,796	0,821	0,809	250
0,412	0,432	0,422	125
0,248	0,260	0,254	62,5
0,148	0,162	0,155	31,2
0,109	0,112	0,111	15,6
0,078	0,079	0,079	7,8
0,052	0,047	0,050	0

Tabelle 5:
Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für IL-12

Mithilfe der Gleichung : $y = -314,87x^3 + 387,96x^2 + 215,71x - 11,587$

konnte die entsprechende Konzentration von IL-12 der jeweiligen Probe exakt berechnet und eine entsprechende Standardkurve erstellt werden.

Im Folgenden ist die Standardkurve von IL-12 dargestellt (Abb.11)

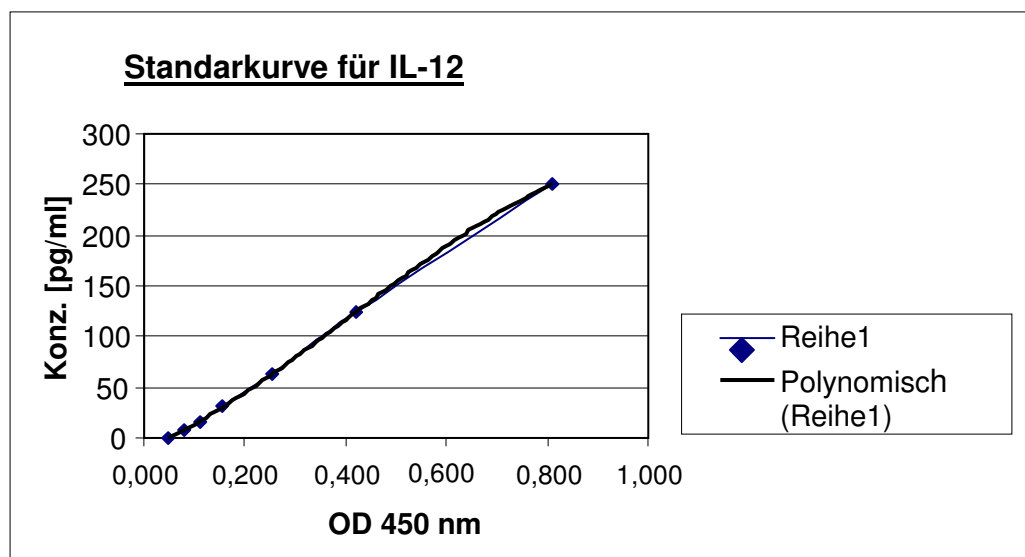


Abbildung 11:
Standardkurve für IL-12

5.4. Quantitative Bestimmung von TNF- α

Zur quantitativen In-Vitro-Bestimmung von TNF- α dient der Enzyme-linked-Immuno-Sorbent Assay (ELISA).

Reagenzien

Zur präzisen Durchführung des ELISA-Tests waren folgende Materialien erforderlich:

- Humanes TNF- α
- Standard-Puffer
- Inkubationspuffer
- h-TNF- α beschichtete Mikroküvetten mit jeweils acht Reagenzgefäßen
- h-TNF- α Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP) , in 100-facher Konzentration
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- Gepufferte Waschlösung, in 25-facher Konzentration
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung
- Abdeckstreifen
- Halterahmen

Darüber hinaus waren notwendig:

- eine Mikropräzisionspipette mit auswechselbaren Kunststoffspitzen
- Aqua ad injectabilia (Aqua a.i.)
- Spektralphotometer , Einstellung der Wellenlänge von 450 nm

Herstellung der Standardverdünnungslösung (Humanes TNF- α -Standard)

Der Standard wurde in Pulverform in der Standardverdünnungslösung sorgfältig zu 2000 pg/ml aufgelöst. Die Lösung ruhte zehn Minuten, um eine komplette Auflösung der Standardflüssigkeit sicher zu stellen.

Anschließend wurden 0,300 ml dieser Verdünnung zu 0,300 ml des Standardverdünnungspuffers gegeben, so dass wir eine Standardkonzentration von 1000 pg/ml erhielten. Dies entspricht der Verdünnungslösung mit der höchsten Konzentration im ersten Eppendorfgefäß.

In den nächsten Schritten wurde die weitere Standardverdünnungsreihe wie folgt hergestellt:

Zur Herstellung der absteigenden Konzentrationslösung wurden 0,300 ml der bereits hergestellten Standardkonzentrationslösung (entsprechend einer Ausgangskonzentration von 1000 pg/ml) mit 0,300 ml des Standardpuffers gemischt, so dass eine Lösung mit einer Konzentration von 500 pg/ml entstanden ist.

Alle weiteren Standardkonzentrationslösungen wurden analog in fünf weiteren Schritten durch Mischen von 0,300 ml der jeweils vorangehenden Konzentrationslösung mit 0,300 ml der Standardpufferlösung hergestellt.

Das letzte Eppendorfgefäß enthielt lediglich 0,300 ml Standardpuffer ohne Zugabe der Standardkonzentrationslösung. Insgesamt erhielten wir eine in acht Eppendorfgefäßen befindliche Verdünnungsreihe in der folgenden absteigenden Konzentration:

1. 1000 pg/ml (Ausgangskonzentration)
2. 500 pg/ml
3. 250 pg/ml
4. 125 pg/ml
5. 62,5 pg/ml
6. 31,2 pg/ml
7. 15,6 pg/ml
8. 0 pg/ml

Herstellung der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung

Zur Herstellung einer Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung wurden pro Mikroküvette mit jeweils acht Vertiefungen 0,010 ml der 100-fach konzentrierten Streptavidin-Peroxidase mit 1 ml der Streptavidinlösung vermischt.

Für die benötigten acht Streifen mussten 0,08 ml der Streptavidin-Peroxidase in 8 ml der Streptavidinlösung verdünnt werden.

Herstellung der gepufferten Waschlösung

Um eine Waschpufferlösung von 2500 ml zu erhalten, wurde ein Teil des 250-fach konzentrierten Waschpuffers mit 24 Teilen destilliertem Wasser (Ampuwa für Spülzwecke) verdünnt.

Durchführung des ELISA-Tests für TNF- α

Zur Durchführung des Tests musste bedarfsgemäß die erforderliche Menge der Streifen mit jeweils acht Mikroküvetten für die Standard-, Kontroll-, Patientenprobenreihe bereitgestellt und in einem Kunststoffhalterahmen fixiert werden.

Bei TNF- α unterscheidet sich die Vorgehensweise im Vergleich zum bisher erwähnten Ablauf bei den Interleukinen IL-1 α , von IL-1 β und IL-12.

Noch bevor wie bisher beschrieben der Standard und die Proben in die Küvetten gegeben worden waren, musste zuerst 0,05 ml Inkubationspuffer in die für die Standardreihe vorgesehenen Küvetten und 0,05 ml Standardpufferlösung in die für die Proben vorgesehenen Küvetten pipettiert werden.

In die letzte Küvette ohne Standardlösung (Konzentration von 0 pg/ml) wurden 0,100 ml der Standardpufferlösung gegeben.

Erst in einem weiteren Schritt sind jeweils 0,10 ml der Kontrollreihe und 0,10 ml der Patientenproben in die vorbereiteten Mikroküvetten pipettiert worden.

Die Mikrotiterplatte wurde nun mit einer Klebefolie zum Schutz vor Verunreinigungen abgedeckt und bei Raumtemperatur zwei Stunden stehen gelassen.

Anschließend wurden alle Küvetten vier Mal mit der Waschlösung sorgfältig ausgespült und zur Vermeidung von Rückständen in den Küvetten zum Schluss kräftig auf einem Papiervlies ausgeklopft.

Nun wurden 0,10 ml Biotinkonjugat in alle Vertiefungen gegeben. Die Platte wurde abgedeckt bei Raumtemperatur eine Stunde stehen gelassen.

Wie bereits erwähnt, mussten die Küvetten an dieser Stelle wiederholt ausgegossen, vier Mal sorgfältig gewaschen und im Anschluss ausgeklopft werden.

In einem weiteren Schritt wurde in jede Vertiefung 0,10 ml der Streptavidin-HRP-Verdünnungslösung gegeben. Die Streptavidin-Peroxidase ist dasjenige Enzym, welches für den Farbumschlag verantwortlich ist.

Nachdem die Platte erneut abgedeckt worden war, ließen wir sie 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen.

Erneut mussten die Küvetten ausgegossen, vier Mal sorgfältig gewaschen und im Anschluss ausgeklopft werden.

Unter Hinzugabe von 0,10 ml stabilisiertem Chromogen (Tetramethylbenzidin=TMB) in jede Küvette, wechselte die Farbe in blau. Die Mikrotiterplatte wurde im Dunkeln

weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Da Tetramethylbenzidin äußerst lichtempfindlich ist, muss die Lösung in den Mikroküvetten an einen abgedunkelten Platz gebracht werden.

Nach Ablauf der 30 Minuten wurde in jede Küvette 0,10 ml der Stopp-Lösung pipettiert, um den Fortgang der Farbreaktion zu beenden. Es erfolgte ein Farbumschlag von blau in gelb. Damit wurde verhindert, dass die Farbkonzentration zu stark und daher die optische Dichte zu hoch ausfallen.

Bei einer Wellenlänge von 450 nm war es mithilfe des Spektralphotometers möglich, die genaue optische Dichte der Standardreihe und der Patientenproben zu bestimmen.

Auswertung der Messergebnisse für TNF- α

Den bereits beschriebenen Auswertungen entsprechend verwendeten wir auch bei den Messergebnissen für TNF- α die Computerprogramme SPSS und Excel.

Über die Eingabe der festgelegten Konzentrationen der Standardverdünnungsreihe analog 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml und 0 pg/ml und deren mit dem Spektralphotometer gemessenen zugehörigen Werte der optischen Dichte konnte ein Mittelwert errechnet werden (Tabelle 6).

OD1	OD2	Mittelwert	Konz [pg/ml]
1,949	2,025	1,987	1000
1,142	1,241	1,192	500
0,572	0,675	0,624	250
0,311	0,362	0,337	125
0,169	0,188	0,179	62,5
0,100	0,106	0,103	31,2
0,059	0,058	0,059	15,6
0,014	0,015	0,015	0

Tabelle 6:
Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für TNF- α

Mithilfe der Gleichung : $y = -53,875x^3 + 123,58x^2 + 353,43x - 5,4219$

konnte die entsprechende Konzentration von TNF- α der jeweiligen Probe exakt berechnet und eine entsprechende Standardkurve erstellt werden.

Im Folgenden ist die Standardkurve von TNF- α dargestellt (Abb.12):

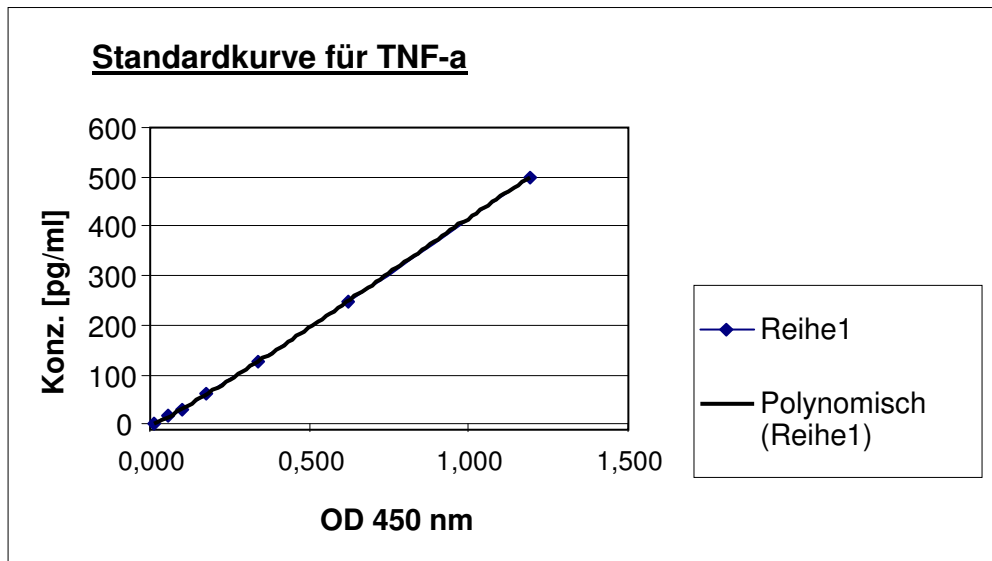


Abbildung 12:
Standardkurve für TNF-a

6. Ergebnisse

Die Nullhypothese, es liegen keine signifikanten Unterschiede bei den im Vaginalsekret gemessenen Interleukinen IL-1 α , IL-1 β und IL-12 zwischen schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen vor, kann abgelehnt werden. Sowohl H-Test (Kruskal-Wallis-Test) als auch U-Test (Mann-Whitney-U-Test) zeigen deutlich, dass die Interleukin-Werte bei den Nichtschwangeren anhand der Ränge höher sind als bei den Schwangeren.

Die Mediane der IL-1 α -Werte (S.49) sind bei den Nichtschwangeren 5,8-fach höher ($p=0,000$), die Mediane der IL-1 β -Werte (S.50) sind bei den Nichtschwangeren 4,6-fach höher ($p=0,000$) und die Mediane der IL-12-Werte (S.51) sind bei den Nichtschwangeren 2,3-fach höher ($p=0,000$), als diejenigen in der Vergleichsgruppe der Schwangeren.

Hingegen kann die Nullhypothese, es liegen keine Unterschiede der TNF- α -Werte im Vaginalsekret zwischen schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen vor, angenommen werden.

Sowohl die Mediane als auch die Mittelwerte der in beiden Gruppen gemessenen Werte für TNF- α (S. 52) sind annähernd identisch ($p=0,516$).

Der pH-Wert im Vaginalsekret (S. 53) ist bei den Schwangeren deutlich erhöht. Im Vergleich zu den Nichtschwangeren mit einem arithmetischen Mittel von 4,2 haben die Schwangeren deutlich höhere pH-Werte mit einem arithmetischen Mittel von 5,9. (Ein pH-Wert $> 4,4$ kann für eine dysbiotische Vaginalflora sprechen. [6,86])

Der Reinheitsgrad (S.54) nach Weissenbacher und Richter liegt bei den Schwangeren mit II-III deutlich höher als in der Vergleichsgruppe mit I-II. [164]

Die in der Schwangerschaft vorherrschende Hormonumstellung (\uparrow Östrogen) nimmt auch Einfluss auf die Beschaffenheit der Vaginalflora. Die Prädisposition für eine Kontamination des Vaginalepithels mit verschiedensten Erregern, wie z.B. Streptokokken der Gruppe B, Trichomonaden, Mycoplasmen, Candida albicans, ist in der Schwangerschaft deutlich erhöht. In einigen Fällen kommt es zu Mischinfektionen. [37] Bei 10-20 % der Schwangeren kommt es zu einer bakteriellen Dysbiose, bei 30 % der Schwangeren im dritten Trimenon zu einer vaginalen Kolonisierung von Candida albicans. [6,7]

Die Fluorfarbe als diagnostischer Marker wurde in beiden Gruppen ebenfalls untersucht. Die Fluorfarbe (S.55) ist in beiden Gruppen mehrheitlich weiß. Bei den Nichtschwangeren ist sie annähernd so häufig grün wie bei den Schwangeren braun. Die Anzahl der Patientinnen mit gelbem Fluor ist in beiden Gruppen nahezu identisch. Grünes sowie gelbes Vaginalsekret kann ein Zeichen für ein genitales Infektionsgeschehen sein. In vielen Fällen ist eine vaginale Candida-Infektion mit einem weiß-gelblichem geruchlosen Fluor vergesellschaftet. Gelblich-grünlicher und schaumiger Fluor mit fischartigem Geruch ist ein typisches Symptom bei einer Trichomoniasis. [117]

Die Altersverteilung (S.56) bei den Nichtschwangeren im Vergleich zu den Schwangeren ist deutlich höher. In der Gruppe der Nichtschwangeren sind ebenso meno- bzw. postmenopausale Patientinnen enthalten. Es besteht ein signifikanter Unterschied bezüglich des Alters der Patientinnen ($p=0,000$).

In Hinsicht auf die Zytokine spielt der Faktor Alter allerdings keine entscheidende Rolle und kann vernachlässigt werden.

Es bestehen mittelhohe Korrelationen (S.60) zwischen IL-1 α und IL-1 β (Spearman correlation coefficient: 0,586) und grenzwertig mittelhohe Korrelationen zwischen IL-12 und TNF- α (Spearman correlation coefficient: 0,479). Die Fragestellung, inwieweit IL-1 α und IL-1 β Induktoren für CRP (S.60) sein können, kann am Beispiel der Schwangeren bestätigt werden. Die Induktorrolle der Interleukine zum CRP ist durch die Korrelationskoeffizienten deutlich gestützt. Der Spearman Korrelationskoeffizient beträgt zwischen IL-1 α und CRP: 0,320. Zwischen IL-1 β und CRP beträgt er: 0,367 und zwischen IL-12 und CRP: 0,249. Die Wechselbeziehung zwischen TNF- α und CRP ist im Vergleich zu den bereits genannten Interleukinen deutlich zu vernachlässigen. Der Spearman Korrelationskoeffizient beträgt zwischen TNF- α und CRP: - 0,003.

Von insgesamt 74 nichtschwangeren Patientinnen mit einer positiven Pilzkultur konnten bei 51 ausschließlich *Candida albicans* (68,9 %), bei 4 sowohl *Candida albicans* als auch *Candida glabrata* (5,4%), bei 15 ausschließlich *Candida glabrata* (20,3%) und bei 4 (5,4%) ausschließlich *Candida krusei* mithilfe einer Kultur mit Chromagar nachgewiesen werden (S.57). Diese Zahlen stimmen mit den

wissenschaftlichen Erkenntnissen über das Vorkommen der einzelnen Spezies überein. [165]

Auffällig sind die deutlich erniedrigten Mittelwerte der TNF- α -Konzentrationen in der Gruppe von Patientinnen mit einer Infektion durch *Candida albicans* (Tabelle 17, S.58), in der Gruppe von Patientinnen mit einer Mischinfektion durch *Candida albicans* und *Candida glabrata* (Tabelle 18, S.58) sowie in der Gruppe von Patientinnen mit einer Infektion durch *Candida krusei* (Tabelle 20, S.59).

Die Einteilung der Schwangeren in sechs Risikogruppen (S.61) zeigt signifikant erhöhte Werte für IL-1 α in den Risikogruppen Cervixinsuffizienz, Terminüberschreitung, Geminischwangerschaft und Geburtswehen. IL-1 β ist in den Gruppen Geminischwangerschaften und Geburtswehen mäßig erhöht. (Die Mittelwerte aller 52 Schwangeren liegen für IL-1 α bei 715,5 pg/ml, die Mittelwerte aller 52 Schwangeren für IL-1 β liegen bei 92,7 pg/ml.)

Im Hinblick auf das Verhalten weiterer diagnostischer Marker (S.62) liegen die CRP-Werte in allen Gruppen über 0,5 mg/dl. Die Untergruppe mit vorzeitigen Wehen weist die höchsten CRP-Werte bei 3,1 mg/dl auf. Im Hinblick auf die Referenzwerte (CRP < 0,5-1 mg/dl) sprechen die CRP-Werte gegen eine ernsthafte Infektion.

Bei allen Untergruppen liegt der pH-Wert oberhalb von 4,5. Bei den Patientinnen mit vorzeitigem Blasensprung (VBS) und vorzeitigen Wehen ist ein deutlich alkalischer pH-Wert im Vaginalsekret zu erkennen. Das Alter aller Untergruppen liegt zwischen 25 und 32 Jahren und ist somit kein zusätzliches Kriterium für ein Schwangerschaftsrisiko. [27] Alle Schwangeren der sechs Risikogruppen befinden sich im III. Trimenon zwischen der 30. und 42. Schwangerschaftswoche. Die Mittelwerte der Anzahl von Schwangerschaften liegen zwischen 1,3 und 3,2. Bei der Anzahl von Entbindungen hingegen liegen die Mittelwerte zwischen 1 und 2,5.

Der Reinheitsgrad tendiert in allen Gruppen eher in Richtung RHG III, mit Ausnahme der Patientinnen mit Terminüberschreitung. Die Farbe des Vaginalsekrets ist in den meisten Gruppen weiß, bis auf die Patientinnen mit einem vorzeitigem Blasensprung (8 x braun) und Geburtswehen (1x braun).

6.1. Ergebniswerte

6.1.1. Zytokinkonzentrationen bei schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen

6.1.1.1. Interleukin-1 α

GRUPPE	N	Median	SD
NICHTSCHWANGER	74	639,3	1604,1
SCHWANGER	52	110,6	2974, 2

Tabelle 7:
Mediane und Standardabweichungen der IL-1 α -Konzentration

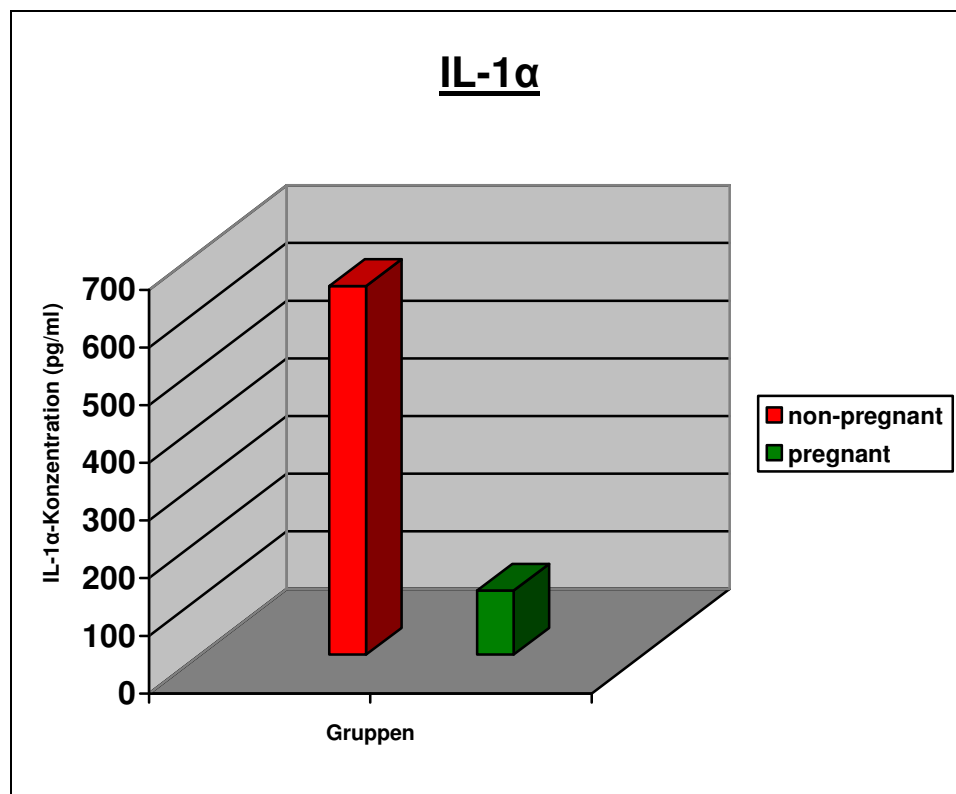


Abbildung 13:
Mediane von IL-1 α bei Nichtschwangeren und Schwangeren

Die Medianwerte der IL-1 α -Werte sind bei den Nichtschwangeren 5,8-fach höher als jene in der Vergleichsgruppe der Schwangeren. Sie sind somit hoch signifikant erhöht ($p=0,000$).

6.1.1.2. Interleukin-1 β

GRUPPE	N	Median	SD
NICHTSCHWANGER	74	36,1	152,3
SCHWANGER	52	7,9	323,4

Tabelle 8: Mediane und Standardabweichungen der IL-1 β -Konzentration

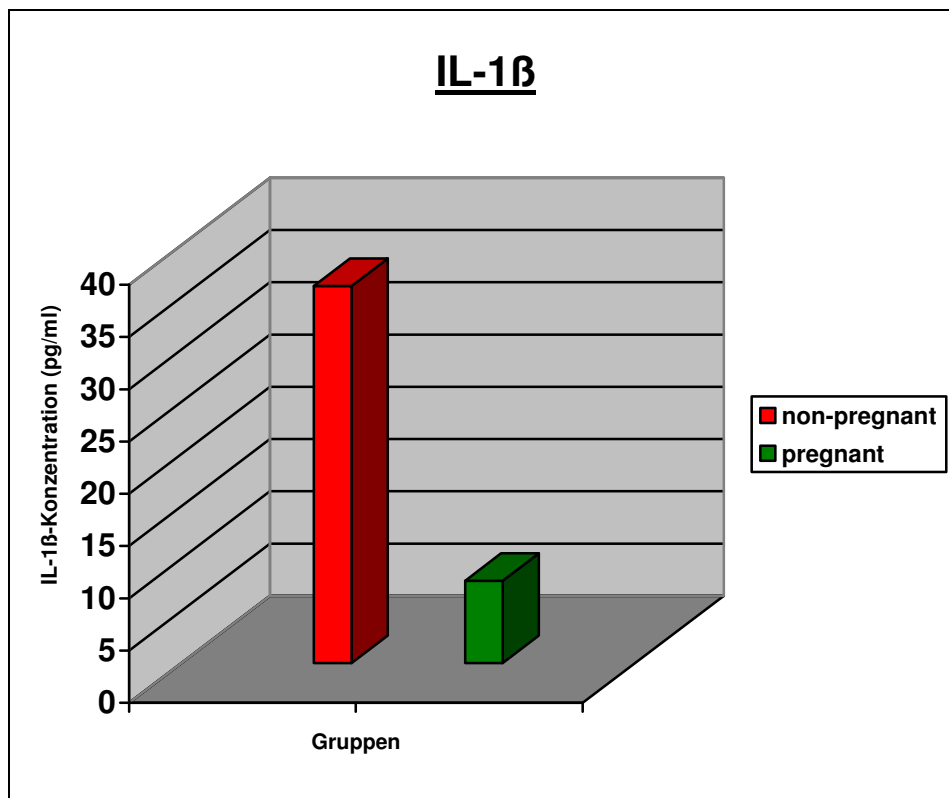


Abbildung 14:
Mediane von IL-1 β bei Nichtschwangeren und Schwangeren

Die Medianwerte der IL-1 β -Werte sind bei den Nichtschwangeren 4,6-fach höher als jene in der Vergleichsgruppe der Schwangeren. Sie sind somit hoch signifikant erhöht ($p=0,000$).

6.1.1.3. Interleukin-12

GRUPPE	N	Median	SD
NICHTSCHWANGER	74	6,8	35,9
SCHWANGER	52	2,9	3,7

Tabelle 9:
Mediane und Standardabweichungen der IL-12-Konzentration

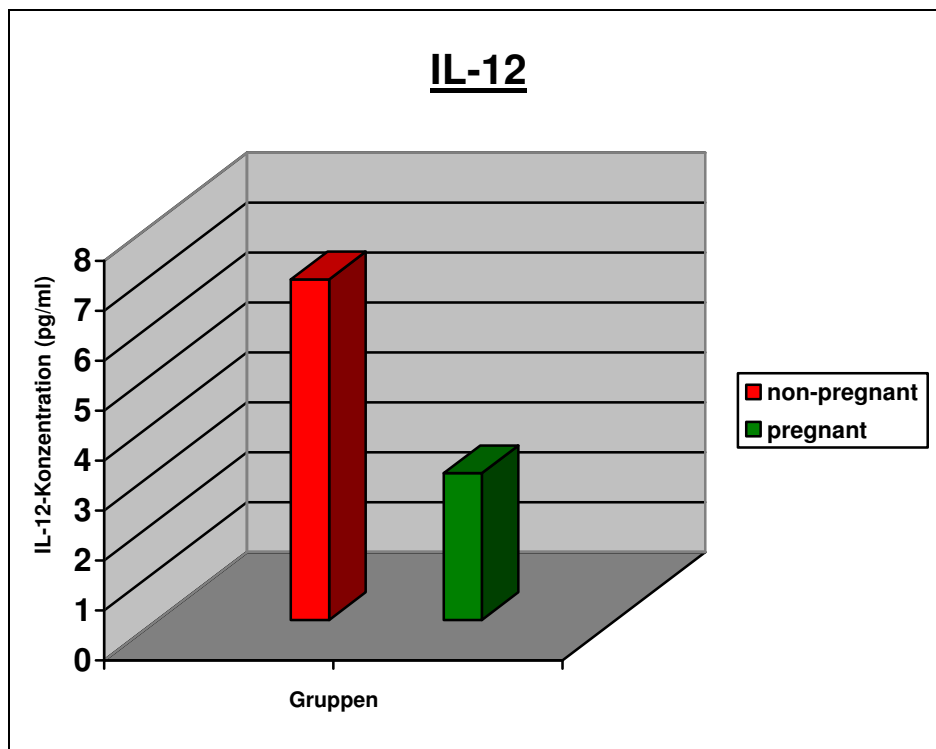


Abbildung 15:
Mediane von IL-12 bei Nichtschwangeren und Schwangeren

Die Medianwerte der IL-12-Werte sind bei den Nichtschwangeren 2,3-fach höher als jene in der Vergleichsgruppe der Schwangeren ($p=0,000$). Sie sind somit hoch signifikant erhöht ($p=0,000$).

6.1.1.4. TNF- α

GRUPPE	N	Mean	SD
NICHTSCHWANGER	74	10,8	40,7
SCHWANGER	52	12,4	54,2

Tabelle 10:
Arithmetisches Mittel und Standardabweichung der TNF- α -Konzentration

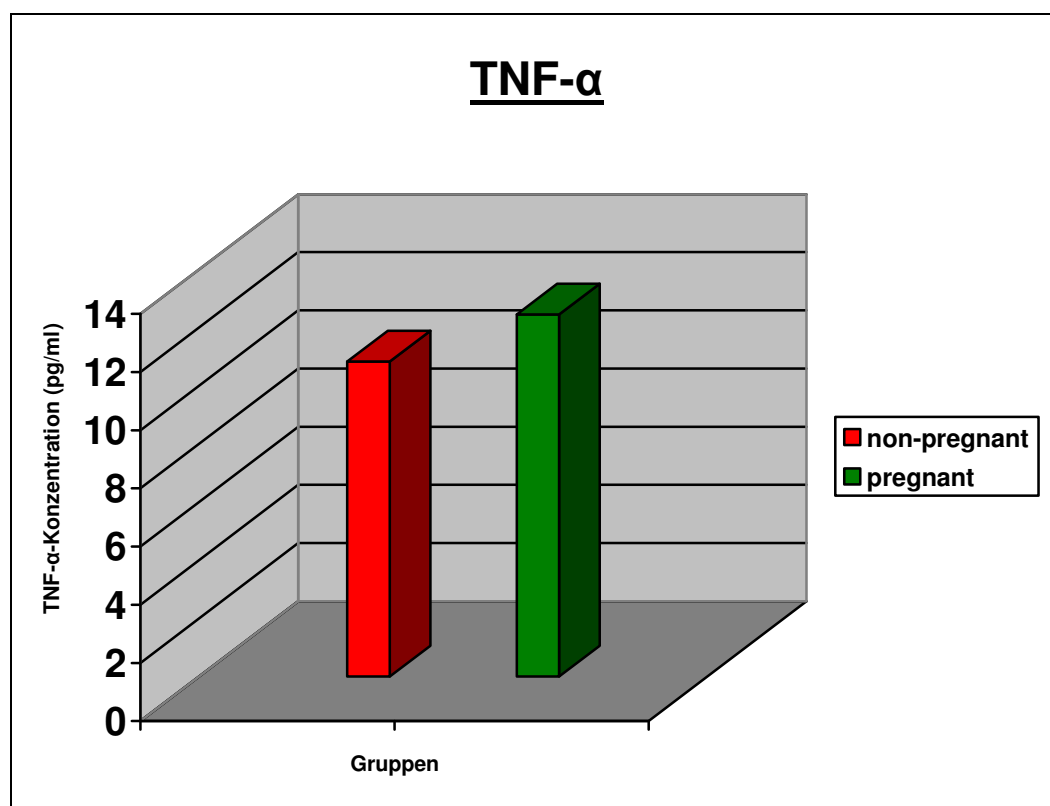


Abbildung 16:
Mittelwerte von TNF- α bei Nichtschwangeren und Schwangeren

Die Mittelwerte der in beiden Gruppen gemessenen TNF- α -Werte sind annähernd identisch. Es besteht kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der TNF- α -Konzentration zwischen den Schwangeren und Nichtschwangeren ($p=0,516$)

6.1.2. Weitere diagnostische Marker bei schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen

6.1.2.1. pH-Wert im Vaginalsekret

GRUPPE	N	Mean	SD
NICHTSCHWANGER	74	4,2	0,22
SCHWANGER	52	5,9	1,39

Tabelle 11:
Arithmetisches Mittel und Standardabweichung des pH-Wertes

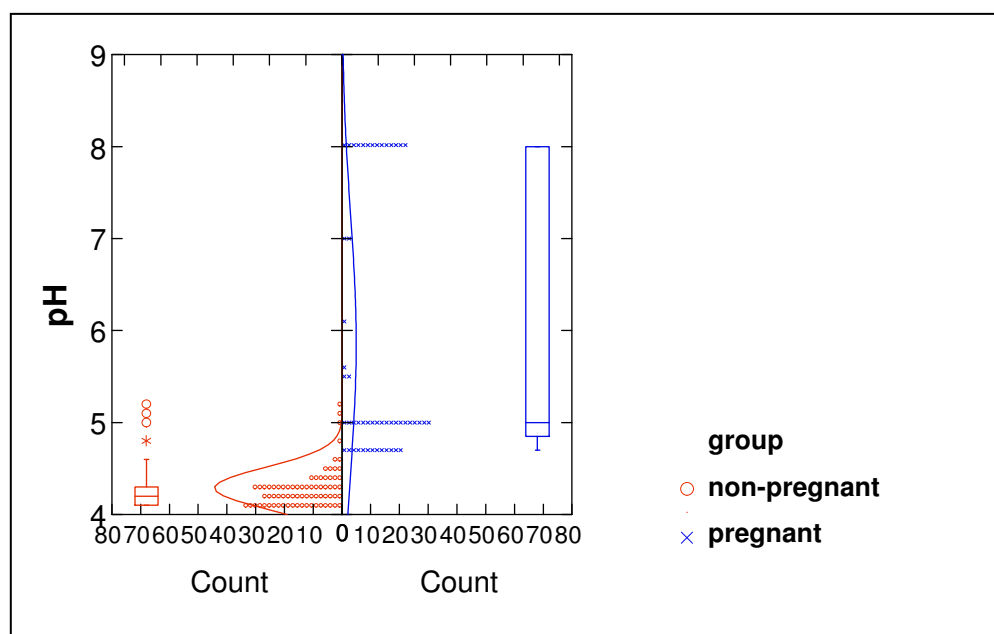


Abb. 17:
Graphische Darstellung des pH-Wertes im Vaginalsekret

Der pH-Wert im Vaginalsekret ist bei den Schwangeren deutlich erhöht.
Die Graphik verdeutlicht die breitere Verteilung der pH-Werte bei den Schwangeren.

6.1.2.2. Reinheitsgrad des Vaginalsekretes

GRUPPE	N	Mean	SD
NICHTSCHWANGER	74	1,6	0,3
SCHWANGER	52	2,5	0,5

Tabelle 12:
Arithmetisches Mittel und Standardabweichung des Reinheitsgrades

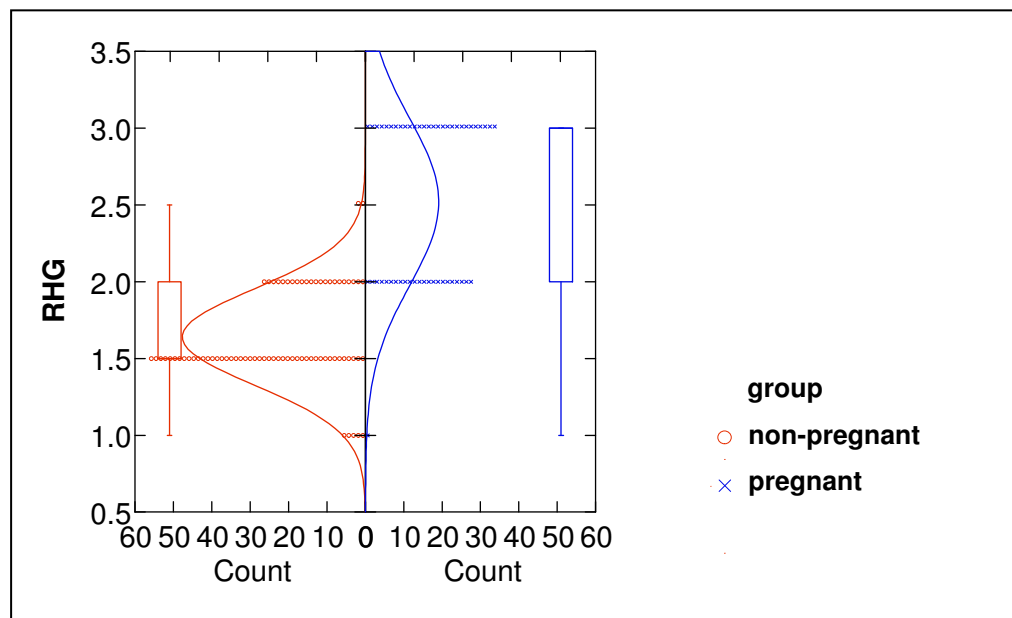


Abb.18:
Graphische Darstellung des Reinheitsgrades im Vaginalsekret

Der Reinheitsgrad (RHG) im Vaginalsekret liegt bei den Schwangeren deutlich höher.

6.1.2.3. Farbe des Vaginalsekretes

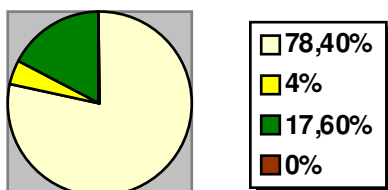
GRUPPE		weiß	gelb	grün	braun	
NICHTSCHWANGER	(n= 74)	58	3	13	0	
SCHWANGER	(n= 52)	40	2	0	10	
TOTAL	(n=126)	98	5	13	10	

Tabelle 13 :
Farbe des Vaginalsekretes im Vergleich nach Anzahl der Patientinnen (n)

GRUPPE		weiß	gelb	grün	braun	
NICHTSCHWANGER	(in %)	78,4	4	17,6	0	
SCHWANGER	(in %)	77	3,8	0	19,2	
TOTAL	(in %)	77,8	4	10,3	7,9	

Tabelle 14:
Farbe des Vaginalsekretes im Vergleich nach Häufigkeit in Prozent

Nichtschwanger



Schwanger



Abbildung 19:
Farbe des Vaginalsekretes bei Nichtschwangeren und Schwangeren in prozentualen Anteilen

Die Fluorfarbe ist in beiden Gruppen mehrheitlich weiß. Bei den Nichtschwangeren ist sie annähernd so häufig grün wie bei den Schwangeren braun. Die Anzahl der Patientinnen mit gelbem Fluor ist in beiden Gruppen nahezu identisch.

6.1.2.4. Altersverteilung

GRUPPE	N	Mean	SD
NICHTSCHWANGER	74	34,5	9,8
SCHWANGER	52	29,0	5,4

Tabelle 15:
Arithmetisches Mittel und Standardabweichung der Altersverteilung

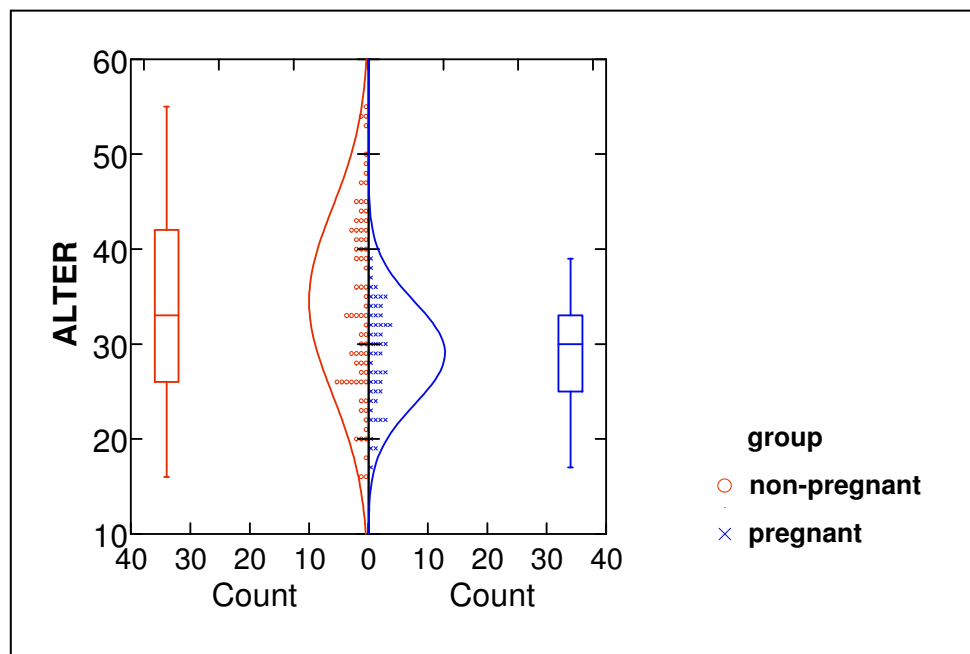


Abb. 20:
Graphische Darstellung der Altersverteilung in beiden Gruppen

Für die Auswertung wurden die Daten von 74 nichtschwangeren und 52 schwangeren Patientinnen verwendet.

Die Altersverteilung ist bei den Nichtschwangeren breiter. In dieser Gruppe sind ebenso postmenopausale Patientinnen enthalten. Es besteht ein Unterschied bezüglich des Alters der Patientinnen. ($p=0,000$)

Bezüglich der Interleukine spielt der Faktor Alter allerdings keine entscheidende Rolle.

6.1.3. Nichtschwangere Patientinnen

6.1.3.1. Nichtschwangere Patientinnen: Einteilung der Candidaspezies

Candidaspezies	C.albicans	C.alb.+ C.glab.	C.glabrata	C. krusei
Anzahl (n)	51	4	15	4
Anteil in Prozent	68,9	5,4	20,3	5,4

Tabelle 16:
Einteilung der einzelnen Candidaspezies in Anzahl und Prozent

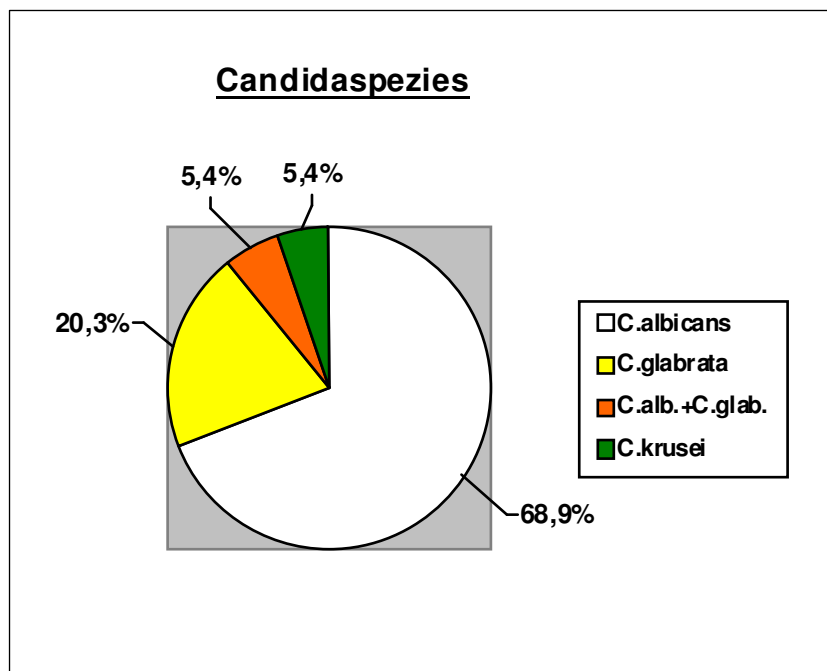


Abbildung 21:
Vorkommen der Candidaspezies bei den nichtschwangeren Patientinnen in Prozent

Von insgesamt 74 nichtschwangeren Patientinnen mit einer positiven Pilzkultur konnten bei 51 ausschließlich *Candida albicans*, bei 4 sowohl *Candida albicans* als auch *Candida glabrata*, bei 15 ausschließlich *Candida glabrata* und bei 4 ausschließlich *Candida krusei* mithilfe einer Kultur mit Chromagar nachgewiesen werden.

6.1.3.2. Nichtschwangere Patientinnen und Candidaspezies:
Konzentrationen der Zytokine im Vergleich

CANDIDA ALBICANS: N= 51				
KENNGRÖSSE	IL-1 α	IL-1 β	IL-12	TNF- α
	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]
MEAN	832,4	91,4	21,3	4,7
MEDIAN	497,8	42,0	7,0	0,1
MIN	0,0	0,0	0,0	0,0
MAX	3394,5	493,8	268,7	98,6
SD	843,1	118,9	48,4	15,9

Tabelle 17:
Kenngrossen der Zytokine aus der Patientinnen-Gruppe mit C.albicans

C.ALBICANS + C.GLABRATA: N= 4				
KENNGRÖSSE	IL-1 α	IL-1 β	IL-12	TNF α
	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]
MEAN	1106,7	30,2	4,3	3,2
MEDIAN	1237,3	36,1	3,7	2,9
MIN	817,3	0,7	0,2	0,0
MAX	1265,7	53,9	9,6	7,1
SD	251,1	27,1	4,6	3,0

Tabelle 18:
Kenngrossen der Zytokine aus der Patientinnen-Gruppe mit C.albicans
und C. glabrata

CANDIDA GLABRATA: N= 4				
KENNGRÖSSE	IL-1 α	IL-1 β	IL-12	TNF α
	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]
MEAN	784,1	84,0	10,8	16,9
MEDIAN	683,8	25,8	6,1	0,0
MIN	51,1	0,3	0,7	0,0
MAX	1760,1	323,3	43,9	188,9
SD	579,1	106,7	13,8	54,2

Tabelle 19:
Kenngrossen der Zytokine aus der Patientinnengruppe mit C.glabrata

CANDIDA KRUSEI: N= 4				
KENNGRÖSSE	IL-1 α	IL-1 β	IL-12	TNF α
	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]	Konz.[pg/ml]
MEAN	1272,6	163,6	7,1	4,1
MEDIAN	927,0	59,8	6,6	3,2
MIN	599,9	23,5	3,2	1,5
MAX	2291,1	511,3	12,0	8,5
SD	897,0	233,7	3,7	3,1

Tabelle 20:
Kenngößen der Zytokine aus der Patientinnengruppe mit C.krusei

6.1.4. Schwangere Patientinnen

6.1.4.1. CRP-Werte bei den Schwangeren

GRUPPE	N	Mean	SD
SCHWANGER	52	1,44	2,00

Tabelle 21 :
Arithmetisches Mittel und Standardabweichung des CRP-Wertes

Anhand der Tabelle wird ersichtlich, dass die schwangeren Patientinnen im Durchschnitt nur leicht erhöhte CRP-Werte haben (Referenzwerte: CRP < 0,5-1 mg/dl).

Korrelationskoeffizient (r)	IL-1 α	IL-1 β	IL-12	TNF- α	CRP
IL-1 α	1,000	0,586	0,166	0,085	0,320
IL-1 β	0,586	1,000	0,298	0,274	0,367
IL-12	0,166	0,298	1,000	0,479	0,249
TNF- α	0,085	0,274	0,479	1,000	-0,003
CRP	0,320	0,367	0,249	-0,003	1,000

Tabelle 22 :
Korrelationskoeffizienten (r) zwischen Zytokinen und CRP

Tabelle 22 veranschaulicht die Wechselbeziehung zwischen den einzelnen Zytokinen im Vaginalsekret untereinander und dem im Serum gemessenen CRP-Wert.

Die Wechselbeziehung zwischen IL-1 α und IL-1 β mit dem Korrelationswert $r=0,586$ ist unter allen Zytokinen am deutlichsten. TNF- α korreliert geringfügig mit IL-12 ($r=0,479$).

Im Wesentlichen lässt sich eine Induktor-Rolle bei den Interleukinen IL-1 α ($r=0,320$) und IL-1 β ($r=0,367$) bezogen auf das CRP erkennen. Hingegen ist die Korrelation zwischen TNF- α und CRP ($r=-0,003$) zu vernachlässigen.

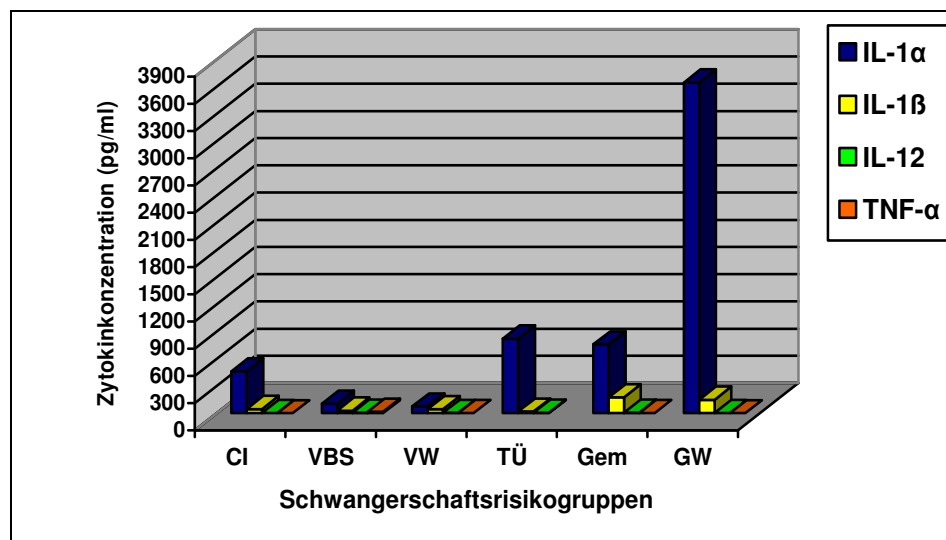
6.1.4.2. Schwangerschaftsrisikogruppen im Vergleich im Hinblick auf das Verhalten der Zytokine

PARAMETER in pg/ml	I.MEAN:CI N=5	II. MEAN: VBS N=10	III.MEAN: VW N=3	IV. MEAN: TÛ N=2	V. MEAN:GEM N=2	VI. MEAN:GW N=6
IL-1 α	460,5	105,2	72,9	823,3	759,4	3647,6
IL-1 β	45,8	27,9	44,2	18,7	174,5	147,8
IL-12	2,4	5,6	3,4	6,8	4,7	1,9
TNF- α	0,2	16,6	1,6	0,0	2,2	0,7

[Legende: CI: Zervixinsuffizienz; VBS: vorzeitiger Blasensprung; VW: vorzeitige Wehen; TÛ: Terminüberschreitung; GEM: Geminischwangerschaft; GW: Geburtswehen;]

Tabelle 23:

Vergleich der Mittelwerte der Zytokine als diagnostische Marker in sechs Gruppen mit spezifischer Risikoschwangerschaft



[Legende: CI: Zervixinsuffizienz; VBS: vorzeitiger Blasensprung; VW: vorzeitige Wehen; TÛ: Terminüberschreitung; GEM: Geminischwangerschaft; GW: Geburtswehen;]

Abb.24:

Zytokinwerte in den Risikogruppen im Vergleich

Anhand der Graphik deutlich erkennbar sind die signifikant erhöhten Werte für IL-1 α in den Risikogruppen Cervixinsuffizienz (CI), Terminüberschreitung (TÛ), Geminischwangerschaft (GEM) und Geburtswehen (GW). IL-1 β ist in den Gruppen Geminischwangerschaft und Geburtswehen mäßig erhöht.

Die Mittelwerte aller 52 Schwangeren liegen für IL-1 α bei 715,5 pg/ml, die Mittelwerte aller 52 Schwangeren für IL-1 β liegen bei 92,7 pg/ml.

6.1.4.3. Schwangerschaftsrisikogruppen im Vergleich im Hinblick auf das Verhalten weiterer diagnostischer Marker

PARAMETER	I.MEAN:CI N=5	II. MEAN: VBS N=10	III.MEAN: VW N=3	IV. MEAN: TÛ N=2	V. MEAN:GEM N=2	VI. MEAN:GW N=6
CRP [mg/dl]	1,6	1,4	3,1	2,5	1	1
pH	5,7	7,8	6,7	5	4,9	4,9
Alter	31,8	29	25,7	25	24,5	31,3
SSW	30	35,9	30,7	41,5	31	39
Gravida	1,8	3,2	1,3	2,5	1,5	2
Para	1,4	2,3	1	2,5	1,5	1,7
RHG	2,8	2,6	2,7	2	2,5	2,8
Farbe-VS	weiß	8x braun; 2x weiß	weiß	weiß	weiß	1x braun; 5x weiß

[Legende: CI: Zervixinsuffizienz; VBS: vorzeitiger Blasensprung; VW: vorzeitige Wehen; TÛ: Terminüberschreitung; GEM: Geminischwangerschaft; GW: Geburtswehen;]

Tabelle 24:
Vergleich weiterer diagnostischer Marker in sechs Gruppen mit spezifischer Risikoschwangerschaft

Die CRP-Werte liegen in allen Gruppen über 0,5 mg/dl. Die Untergruppe mit vorzeitigen Wehen weist die höchsten CRP-Werte bei 3,1 mg/dl auf.

Bei allen Untergruppen liegt der pH-Wert oberhalb von 4,5. Ein deutlich alkalischer pH-Wert im Vaginalsekret ist bei den Patientinnen mit VBS und vorzeitigen Wehen zu erkennen.

Das Alter aller Untergruppen liegt zwischen 25 und 32 Jahren und ist somit kein zusätzliches Kriterium für ein Schwangerschaftsrisiko.

Alle Schwangeren der sechs Gruppen befinden sich im III. Trimenon zwischen der 30. und 42. SSW.

Die Mittelwerte der Anzahl von Schwangerschaften liegen zwischen 1,3 und 3,2. Bei der Anzahl von Entbindungen hingegen liegen die Mittelwerte zwischen 1 und 2,5.

Der Reinheitsgrad tendiert in allen Gruppen eher in Richtung RHG III, mit Ausnahme der Patientinnen mit Terminüberschreitung.

Die Farbe des Vaginalsekrets ist in den meisten Gruppen weiß, bis auf die Patientinnen mit VBS (8 x braun) und Patientinnen mit Geburtswehen.

7. Diskussion

In dieser wissenschaftlichen Arbeit untersuchten wir insgesamt 126 Frauen mit der Diagnose einer genitalen Candidose.

Sowohl die Gruppe von Nichtschwangeren, welche im Rahmen einer Routineuntersuchung in die gynäkologische Praxis kamen, als auch Schwangere, welche aufgrund ihres Schwangerschaftsrisikos die Klinik aufsuchten, wurden genauestens anamnestisch befragt und untersucht.

Voraussetzung für die Diagnose einer vaginalen Candidose ist die Kombination aus Anamnese und einer ausführlichen gynäkologischen Untersuchung mit abschließender Mikroskopie des Vaginalabstrichs. Auf diese Weise können wesentliche Informationen wie klinische Symptome und eine mögliche Besiedelung mit Hefepilzen abgeklärt werden. [96]

In ihrer aktuellen prospektiven Studie von 2012 konnten Singh et al. diese Tatsache belegen. Die Wissenschaftler werteten die erhobenen Daten einer Studiengruppe von 197 Patientinnen mit einem Durchschnittsalter von 28,1 Jahren aus. Alle Frauen hatten einen Fluor vaginalis und waren an Infektionen des Genitaltraktes erkrankt.

Um den Stellenwert der körperlichen Untersuchung bei lokalen Infektionen im weiblichen Genitaltrakt zu ermessen, prüften die Forscher die Übereinstimmung der gestellten Diagnosen von allen 197 Patientinnen zwischen zwei unabhängigen Gruppen von Medizinerinnen. Die Kliniker der Gruppe I erhoben eigenständig eine Anamnese und untersuchten die jeweilige Patientin gynäkologisch unter Einbeziehung mikroskopischer Kontrollen. Die Kliniker der Gruppe II erhielten lediglich Informationen zur Anamnese der einzelnen Patientinnen in Form eines verblindeten Fragebogens. Überdies sollten sie die von den Patientinnen selbsttätig mit einem Wattetupfer vorgenommenen Abstriche mittels herkömmlicher Testmethoden diagnostisch auswerten. Eine gynäkologische Untersuchung war in dieser Gruppe nicht vorgesehen.

Die Ergebnisse beider Gruppen von Klinikern wurden mit den Referenzwerten, die mithilfe standardisierter Tests (z.B. PCR, Gramfärbung) erhoben wurden, verglichen.

Die erhobenen Referenzwerte zeigten, dass von insgesamt 197 Patientinnen 125 Frauen an einer BV (Prävalenz: 63,4%), 37 Frauen an einer TV (Prävalenz: 19%)

und 27 Frauen an einer VVC (Prävalenz: 14%) erkrankt waren. Ein jeweils geringer Prozentteil entfiel auf eine Gonorrhoe, eine Chlamydieninfektion, eine Herpesinfektion, eine Syphilis oder anderweitige Entzündungen des Unterleibs (Pelvic inflammatory disease = PID).

In Anlehnung an den oben erwähnten Referenzwert von 125 an BV erkrankten Frauen haben die Kliniker der Gruppe I bei 90 Frauen und die Kliniker der Gruppe II bei 68 Frauen die Diagnose der bakteriellen Vaginose richtig gestellt.

Aus dem Kollektiv der 37 an einer TV erkrankten Patientinnen (Referenz) haben die Kliniker der Gruppe I bei 28 Frauen und die Kliniker der Gruppe II bei 24 Frauen die Diagnose der Trichomoniasis richtig gestellt.

Die Kliniker der Gruppe I haben aus dem Kollektiv von 27 an einer VVC erkrankten Patientinnen (Referenz) bei 27 Frauen und die Kliniker der Gruppe II bei 14 Frauen die Diagnose der vulvovaginalen Candidose richtig gestellt.

Somit schnitten die Kliniker der Gruppe II bei der Ermittlung der angemessenen Diagnose deutlich schlechter ab als die erste Gruppe. Insbesondere im Hinblick auf eine VVC wurde die Erkrankung von ihnen zu selten erkannt.

Wie aus den erhobenen Daten der an einer BV erkrankten Patientinnen ersichtlich ist, weichen die Zahlen der Kliniker beider Gruppen beträchtlich vom Referenzwert ab. Dies macht deutlich, dass die Diagnose einer bakteriellen Vaginose in beiden Gruppen zu häufig übersehen wurde. Die Referenzwerte wurden auf der Basis einer mikroskopischen Auswertung der Abstriche nach einer Gramfärbung erhoben, welche die Erkennung der gramnegativen, kurzen fischzugartigen Stäbchen deutlich erkennen ließen. Im Hinblick auf die Diagnostik der BV konnten die Forscher zeigen, dass eine Gramfärbung allen anderen Testmethoden in beiden Gruppen von Klinikern überlegen ist. [140]

Die Studie belegt, dass eine Diagnose, die lediglich auf der Basis eines Anamnesebogens und eines untersuchten Watteträgers vorgenommen wurde, den betroffenen Patientinnen nicht gerecht wird. Ein Mediziner ist auf die Information einer ausführlichen Anamnese, einer gynäkologischen Untersuchung und einer mikroskopischen Auswertung des Vaginalabstrichs angewiesen, um zielgerichtet eine Diagnose stellen und entsprechend eine Therapie einleiten zu können. [7]

Welche Konsequenzen eine ungenaue Diagnose für die therapeutische Behandlung und letzten Endes für die zukünftige therapeutische Beziehung zwischen Arzt und

Patientin hat, wird an diesem Beispiel deutlich. Die Kosten einer unsachgemäßen Behandlung über einen langen Zeitraum übersteigen die eingesparten Kosten einer ausführlichen gynäkologischen Untersuchung. [140]

7.1 Candidaspezies

Zum Nachweis eines vermehrten positiven Candidawachstums im weiblichen Genitaltrakt wurden in der Gruppe der nichtschwangeren Frauen zunächst Kulturen auf Sabourad-Agar angelegt. Bei den Schwangeren hingegen wurden keine Kulturen angelegt. Die Diagnose erfolgte auf der Basis von sichtbaren Pseudomycelien im mikroskopischen Präparat.

Diese Information ist wichtig im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der beiden Gruppen. Zur genaueren Differenzierung der Candidaspezies wurden die Kulturen darüber hinaus auf Chromagar überimpft. *Candida glabrata* kann rein mikroskopisch nicht gewissenhaft nachgewiesen werden, da diese Spezies ausschließlich Sprosszellen besitzt. [165, 47]

Die Unterscheidung der *Candida*-Erreger hat vor allem therapeutische Konsequenzen, da im Falle einer Infektion mit dem Stamm des *Candida glabrata* oder des *Candida krusei* aufgrund von Resistenzen eine differenzierte Therapiemethode gewählt werden muss. Im Vergleich zu *Candida albicans* sind in diesem Fall weder Fluconazol noch Flucytosin zur therapeutischen Behandlung geeignet. Bei Vorliegen einer Infektion mit *C. krusei* haben lokal wirkende Substanzen wie Clotrimazol und gleichwertige Präparate aus der Imidazolgruppe Präferenz. [141]

C. glabrata ist in bis zu 15-20 % resistent gegenüber herkömmlichen Azolen wie Fluconazol und Ketokonazol, so dass eine spezifische antimykotische Therapie mit Miconazol anzuraten ist. Als Reservemittel werden Nystatin und Amphotericin B angesehen. [96,143,165,150]

In der SENTRY-Studie von Pfaller et al. über hämatogene Infektionen in den USA, Europa, Lateinamerika und Kanada während des Zeitraums von 1997 bis 1999 wurden 1.184 Fälle von Patienten mit einer Candämie erfasst. In 55% der Fälle war *Candida albicans*, in 15 % *Candida glabrata*, in 15% *Candida parapsilosis*, in 9% *Candida tropicalis* und in 6% sonstige *Candida*arten in der Blutkultur gefunden

worden. In den USA betrafen 45 % jener hämatogenen Infektionen Nicht-Candida-albicans-Spezies, in Lateinamerika 55% und in Europa 42%.

Die neben *Candida albicans* am häufigsten vertretene Spezies waren *C. glabrata* in den USA (21%) und *C. parapsilosis* mit einer Häufigkeit von 25 % in Lateinamerika, 17 % in Europa und 16 % in Kanada.

Sowohl Ravuconazol als auch Voriconazol waren gegenüber *C. glabrata* therapeutisch signifikant wirksamer als Fluconazol.

Innerhalb von 1997 bis 1999 stieg die Resistenzrate gegenüber Fluconazol bei *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* und *C. glabrata* in den USA und in Europa von 48 % auf 84 %.

Diese Ergebnisse, die auf einer systemischen Infektion mit Candidaspezies beruhen, haben dennoch weitreichende Auswirkungen auch auf die Diagnostik und Therapie lokaler Candidosen. Zum einen nimmt die Rate an Nichtcandida-albicans-Arten zu und zum anderen wächst der Anteil an Resistenzen gegenüber üblichen Antimykotika. [118]

In unserer Studie ließ sich von insgesamt 74 Frauen, welche sich zum Zeitpunkt der Probenentnahme nicht in einer Schwangerschaft befanden, bei 51 Patientinnen nur *Candida albicans*, bei 15 nur *Candida glabrata*, bei vier gleichzeitig *Candida albicans* und *Candida glabrata* sowie bei vier Frauen nur *Candida krusei* nachweisen.

Im Hinblick auf eine effiziente Therapie ist die Tatsache, dass bei vier Patientinnen gleichzeitig zwei Candidaarten nachgewiesen worden sind, evident.

Einige Forschungsergebnisse zeigen, dass die Häufigkeit der Candidaspezies (*Candida* spp.) weltweit zugenommen hat. Hettiarachchi et al. hingegen fanden in ihrer retrospektiven Übersichtsarbeit aus Großbritannien keine Hinweise auf eine Zunahme der Prävalenz der Nicht-albicans-Spezies wie *Candida glabrata*. [72]

Bei der Gruppe der schwangeren Frauen im dritten Trimenon wurde die Diagnose einer genitalen Candidose mithilfe einer mikroskopischen Untersuchung von vaginalen Abstrichen, in welchen Pseudomycelien gefunden worden waren, gestellt.

Es wurden weder Kulturen zum Nachweis von Hefepilzen auf Sabourad-Agar noch Kulturen zur Differenzierung der Candidaspezies angelegt.

Demnach wurde bei denjenigen Frauen, welche wegen akut einsetzender Symptome im Rahmen einer Risikoschwangerschaft die Klinik aufsuchten, keine routinemäßige Pilzkultur angelegt. Dies ist im Hinblick auf die Vergleichbarkeit beider Gruppen ein erheblicher Nachteil.

Bereits im Jahr 1998 beschreibt Mendling das Studieren des Vaginalsekrets mithilfe eines Phasenkontrastmikroskops und das Anlegen einer Pilzkultur neben der Anamnese und der Beobachtung klinischer Symptome als Ecksteine der Diagnose einer genitalen Candidose. (*“...Beside history and clinical symptoms, examination of vaginal secretion by phase contrast microscopy and the yeast culture are cornerstones of the diagnosis.”*, Mendling 1998) [99]

Diese Tatsache sollte in Bezug auf die unterschiedliche Ausgangslage der Diagnoseerhebung in beiden Gruppen bei den Ergebnissen berücksichtigt werden.

7.2. Zytokinexpression

Im Vergleich zu den Nichtschwangeren stellen die Schwangeren mit einer sogenannten Risikoschwangerschaft eine insgesamt inhomogene Gruppe mit unterschiedlichsten Symptomenkomplexen wie Zervixinsuffizienz, vorzeitiger Blasensprung (VBS), vorzeitige Wehen, Terminüberschreitung, Geminischwangerschaft und Geburtswehen dar.

Dies hat zur Konsequenz, dass in beiden Gruppen, bei denen die gleichen Marker gemessen und miteinander verglichen worden sind, zum Teil unterschiedliche Voraussetzungen vorliegen. Somit gibt es bei den Risikoschwangeren mehrere Störfaktoren, sogenannte Confounder, im Vergleich zur Gruppe der Nichtschwangeren. Diese Tatsache sollte bei der Auswertung der Messergebnisse berücksichtigt werden.

Allein bei einem VBS ändert sich der pH-Wert in der Scheide zu alkalischen Werten, weil es zum Austritt des Fruchtwassers in das Scheidengewölbe und somit zu einer Vermischung mit dem Vaginalsekret kommt. In diesem Fall wird deutlich, dass ein erhöhter pH-Wert nicht unbedingt mit einer dysbiotischen Scheidenflora vergesellschaftet sein muss.

Die Hypothese dieser Arbeit, die Zytokinexpression in der Gruppe der Nichtschwangeren sei im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht, trifft auf

IL-1 α , IL-1 β und IL-12 zu. Diese Interleukine sind bei den Nichtschwangeren deutlich höher als bei den Schwangeren. Bei TNF- α gibt es keinen Unterschied innerhalb der beiden Gruppen.

Im Vergleich zu den üblichen Referenzwerten jedoch fallen unsere Messwerte der IL-12-Konzentrationen in beiden Gruppen und insbesondere bei den Schwangeren mit 2,9 pg/ml deutlich gering aus.

Denkbar ist die von Ningfeng Tang et al. in der im Jahr 2004 publizierte Studie getroffene Annahme, dass bestimmte von *Candida albicans* stammende Faktoren wie das Enzym MAPK (mitogen-activated protein kinase) IL-12 hemmen. Die hauptsächliche Funktion von IL-12, eine T-Helferzell-Immunantwort anzustoßen und deren Fortdauer zu regulieren, wäre in diesem vorliegenden Fall deutlich eingeschränkt. Dies hätte einen negativen Einfluss auf die zelluläre Abwehr. [152]

7.2.1. Zytokinexpression bei Nichtschwangeren

Die Konzentrationen der Interleukine IL-1 α , IL-1 β und IL-12 in dieser Studie sind bei den nichtschwangeren Candidose positiven Patientinnen signifikant erhöht.

In einer aktuellen Studie aus dem Jahr 2012 von Whiley et al. wurden unterschiedliche Hefestämme von *Candida albicans* auf der Mundschleimhaut und dem Vaginalepithel in vitro bezüglich proinflammatorischer Zytokine (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 und Prostaglandin E2 [PGE2]) untersucht. Die Ergebnisse zeigen eine signifikant erhöhte Zytokinausschüttung von IL-1 α , IL-1 β und IL-8 in einem Modell der Mundschleimhaut, welches mit einem mit Stomatitis assoziierten Hefestamm okuliert worden ist. Nach Inokulation eines im Vaginalepithel häufig vorzufindenden Hefestammes in das Modell eines oralen Schleimhautepithels wurde ein Anstieg von IL-8 beobachtet.

Allerdings konnten die Wissenschaftler keine signifikante Konzentrationsänderung der proinflammatorischen Zytokine im Modell des Vaginalepithels finden.

Dies gilt sowohl für diejenigen in der Mundhöhle als auch in der Vagina häufig vorkommenden Hefestämme.

Die Messwerte der Studie zeigen signifikante Unterschiede in der Art der lokalen Immunantwort im Epithel des Wirtes bezogen auf spezifische Hefegattungen von *C.albicans*. [169]

In einer weiteren Studie von 2005 von Barousse et al. wurden 152 junge Mädchen in der mittleren Adoleszenz (14-16 Jahre) im Hinblick auf sexuell übertragbare Erkrankungen (STD), asymptomatischer Kolonisierung von Candida und einer symptomatischen vulvovaginalen Candidose (VVC) analysiert. Deren sexuelle Aktivität steht in einer positiven Wechselbeziehung mit einer Kolonisierung der Vagina mit Hefepilzen. Faktoren wie Zytokine, Chemokine, Antikörper, Verhütungsmittel, Scheidenspülungen und der Gebrauch von Kondomen hingegen nicht.

Die Beschaffenheit einer vaginalen Pilzbesiedelung bei Mädchen im mittleren Jugendalter unterscheidet sich eindeutig von jenen, welche bei erwachsenen Frauen vorkommen.

Obwohl einige Anzeichen für das Vorhandensein einer genitalen Mykose bei den jungen Mädchen sprechen, so kommen symptomatische vulvovaginale Candidosen bei ihnen seltener vor als sexuell übertragbare Krankheiten (STD). [10]

7.2.2. Zytokinexpression bei Schwangeren

Unser Ergebnis zeigt, dass die Interleukine IL-1 α , IL-1 β und IL-12 bei den Schwangeren signifikant niedriger sind als bei den Nichtschwangeren. Bei allen schwangeren Frauen wurden Pseudomycelien von Candida mikroskopisch bestätigt. Ebenso beklagen die meisten der Patientinnen Symptome einer vaginalen Candidose. An dieser Stelle ist zu hinterfragen, ob der Organismus einer Frau in der Schwangerschaft imstande ist, zum Schutz des ungeborenen Fetus, lokale Immunprozesse in der Vagina herunterzuregulieren. In unserem Fall sollte gleichzeitig unter den gleichen Bedingungen einer vaginalen Candidose das Verhalten von antiinflammatorischen Zytokinen, beispielsweise IL-4 und IL-10, im Vergleich zu den proinflammatorischen Zytokinen in die Untersuchungen miteinbezogen werden. Um den Einfluss und das Zusammenspiel von IL1-Rezeptoren und IL1-Rezeptorantagonisten auf die Interleukin-1-Expression bei lokalen Infektionen präziser beurteilen zu können, sollte auch die gleichzeitige Messung der Konzentrationen an IL1R1, IL1R2 und IL1RA erfolgen. Die Zusammenhänge des proinflammatorisch wirkenden Interleukin-1 und dessen Rezeptoren sowie seinem Antagonisten hat Dinarello in seiner 2005 publizierte Arbeit *“Blocking IL-1 in systemic inflammation”* hinreichend dargestellt. Eine

spezifische Hemmung der IL-Rezeptoren führt zur Eindämmung der proinflammatorischen Mechanismen sowohl auf systemischer als auch auf lokaler Ebene. [40]

Interessant ist dieser Aspekt vor allem in Bezug auf die veränderte Immunsituation in der Schwangerschaft. Schließlich muss der weibliche Organismus in der Lage sein, während des Verlaufs einer Schwangerschaft fötale Antigene zu tolerieren. Während dieser Zeit werden bestimmte Immunfaktoren exprimiert, die für eine Immuntoleranz gegenüber dem sich entwickelnden Kind sorgen. Exemplarisch ist die Fähigkeit der uterinen Epithelzellen zu nennen, den Wachstumsfaktor GM-CSF zu produzieren und somit auch das Wachstum von Plazenta und Fötus zu fördern. Dieser embryoplazentare Verband ist bereits in der frühen Schwangerschaft in der Lage, das antiinflammatorisch wirkende IL-10 zu produzieren und bewirkt damit eine lokale Immunsuppression.

Kommt es zu einer proinflammatorischen Immunreaktion, so kann IFN γ (Interferon Gamma) die Expression von GM-CSF blockieren und das Wachstum des Kindes hemmen. Wird darüber hinaus zu wenig IL-10 produziert, so gerät die antiinflammatorische Reaktionslage auf lokaler Ebene ins Ungleichgewicht und es kann zu einem Abort kommen. Diese proinflammatorische Immunlage aktiviert zytotoxische T-Lymphozyten (CTL), NK-Zellen, eine vermehrte Expression von TNF- α und erzeugt zytotoxische Antikörper. Fetale Antigene in der Plazenta werden von diesen immunologischen Mechanismen angegriffen und können einen Abort induzieren.

Die Einleitung der Geburt kann als eine Spezialleistung einer Immunantwort betrachtet werden, welche durch lokal wirkende Mediatoren erheblich beeinflusst wird. [136]

Zunächst stellt sich die Frage, welche immunologischen Verhältnisse im Vaginalepithel während einer unkomplizierten Schwangerschaft vorherrschen. Gibt es auch in diesem Fall intrinsische und extrinsische Faktoren, welche die Zytokinkonzentration in der Vagina beeinflussen?

Donders et al. beschäftigten sich in einer Studie aus dem Jahr 2003 mit der Fragestellung, ob die vaginale Zytokinkonzentration im Laufe der unkomplizierten Schwangerschaft variiert. Die Wissenschaftler verglichen eine Gruppe von gesunden

Frauen in einer unkomplizierten Schwangerschaft mit einer Gruppe von gesunden nichtschwangeren Frauen. Patientinnen mit Infektionserkrankungen wie die bakterielle Vaginose, Trichomonasinfektionen, vaginale Candidainfektionen, Chlamydieninfektionen, Gonorrhoe sowie gemäßigte oder schwere aerobe Vaginitiden wurden von der Studie ausgeschlossen. Gemessen wurden die Konzentrationen von proinflammatorischen Biomarkern wie Interleukin-1 β , Interleukin-6, Interleukin-8 (CXCL-8), TNF- α sowie die Konzentrationen des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten (IL-1RA) und des Leukämie inhibierenden Faktors (LIF).

Die Ergebnisse im Hinblick auf die Konzentrationen von IL-1 β , von TNF- α und des Leukämie inhibierenden Faktors zeigten keinen deutlichen Unterschied im Vaginalsekret der beiden Gruppen. Die Produktion des Interleukin-1-Rezeptor-Antagonisten hingegen wurde während des gesamten Schwangerschaftsverlaufs unterdrückt. Die Werte von IL-6 und IL-8 sanken im mittleren Drittel der Schwangerschaft und stiegen im letzten Trimester auf Werte an, vergleichbar mit jenen in der Zeit vor der Schwangerschaft. Diese Untersuchung macht den Einfluss der Schwangerschaft auf Konzentrationsschwankungen spezifischer Biomarker im Vaginalepithel deutlich. Im Hinblick auf Untersuchungen von Vaginalepithelien Schwangerer sollte dies berücksichtigt werden. [45]

Die Ergebnisse von Donders et al. könnten die Vermutung stützen, dass in der Schwangerschaft bestimmte proinflammatorische Zytokine herunterreguliert werden. Darüber hinaus bestätigt dies die Annahme, Veränderungen in der Zytokinkonzentration seien multifaktoriell bedingt. [45]

In der Literatur sind einige Arbeiten zu finden, die sich mit dem Verhalten der Zytokine im Vaginalsekret befassen, allerdings beziehen sich sehr wenige speziell auf an Candidose erkrankte Patientinnen.

Sabina Cauci hat sich in ihrer Arbeit von 2004 mit der lokalen Immunabwehr in der Vagina bei Vorliegen einer bakteriellen Vaginose beschäftigt. Sie stellte bei BV-positiven Patientinnen einen deutlichen Anstieg der IL-1 β -Konzentration und eine deutliche Minderung der IL-8-Konzentration im Vaginalsekret fest. Die Wissenschaftlerin beobachtete, dass nach einem Anstieg der IL-1 β -Werte hydrolytisch wirkende Enzyme in Bakterien eine zu erwartende proinflammatorische

kaskadenartige Reaktion innerhalb einer lokalen Immunantwort abschwächen können. [30]

Im Jahr 2008 vertiefte sie diese wissenschaftliche Arbeit und widmete sich gemeinsam mit ihren Kollegen Culhane, Di Santolo und McCollum der Frage über die genauen Mechanismen bezüglich Induktion und Modulation der angeborenen lokalen Immunität bei schwangeren Frauen mit einer bakteriellen Vaginose. Dabei wurden bei 2000 Frauen in der frühen Schwangerschaft mit BV (ohne Koinfektionen) die Konzentrationen von IL-1 β , IL-8, die Anzahl an Neutrophilen sowie die Menge der hydrolytisch wirkenden Enzyme Sialidase und Prolidase, welche in BV-assoziierten Bakterien produziert werden, gemessen.

Die Konzentrationen von IL-1 β haben laut der Ergebnisse des Forschungsteams eine hohe Korrelation mit den Sialidase- und Prolidase-Spiegeln. Die hohe Konzentration von IL-1 β könnte eine Folge der beiden von den BV assoziierten Bakterien produzierten Enzyme sein. [32]

Die im Archives of Gynecology and Obstetrics im April 2013 erschienene Studie von Tobias Weissenbacher et al. verglich zwei Gruppen von Schwangeren in Hinblick auf spezifische Immunmodulatoren (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, GRO- α , MIP 1 α , MIP1 β , Histone, TNF- α , proIL1 β und Interferon- γ -induzierendes Protein (IP10) im Hinblick auf intrauterine Entzündungsgeschehen, welche eine Frühgeburt auszulösen vermögen. Nach erfolgter Amniozentese wurden jene Biomarker im Fruchtwasser der jeweiligen Patientin gemessen. Die erste Gruppe setzte sich aus schwangeren Patientinnen ohne Zeichen einer intrauterinen Infektion zusammen. Die Vergleichsgruppe bestand aus schwangeren Patientinnen mit klinischen Symptomen einer intrauterinen Infektion bzw. einem intrauterinen Entzündungsgeschehen. Das Ergebnis zeigte keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen bezüglich der Proteine IL-2, IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, TNF α , GRO α , MIP1 α , ProIL1 β , IP10 und den Histonen, im Zellkern vorkommende basische Proteine als Bestandteil des Chromatins. [48,124] Lediglich die Konzentrationen von IL-8 und IL-10, ProIL-1 β , MIP1 β in der Vergleichsgruppe mit einer intrauterinen Infektion waren signifikant erhöht, IL-4 hingegen signifikant erniedrigt.

Im Hinblick auf eine intrauterine Infektion ließ sich ein signifikanter Anstieg der proinflammatorischen Zytokine im Fruchtwasser erwarten. Dies trifft an dieser Stelle lediglich für IL-8, nicht jedoch für die weiteren untersuchten proinflammatorischen Zytokine IL-6, IL-12 und TNF α zu. Diese Ergebnisse untermauern die Annahme einer Veränderung der Immunsituation in der Schwangerschaft.[136] Die Resultate sind zwar nicht mit jenen in unserer Arbeit vergleichbar, da die Bestimmung der Biomarker im Fruchtwasser und nicht im Vaginalsekret vorgenommen worden ist. Ferner ist die untersuchte Population an Schwangeren nicht an einer nachweisbaren Candidose erkrankt. Allerdings zeigt diese Untersuchung, dass immunologische Prozesse selbst in einem lokal begrenzten Kompartiment, in diesem Fall die Gebärmutter, höchst komplex und miteinander verzahnt sind. Diese Annahme könnte ebenfalls auf eines der größten immunkompetenten Organe, die Haut, an dieser Stelle das mehrschichtige, unverhornte drüsenfreie Plattenepithel der Vagina, übertragbar sein.

Einzelne Biomarker können Prädiktoren für ein lokales entzündliches Geschehen sein. Die Studie von T. Weissenbacher et al. gibt jedoch Hinweise darauf, dass es komplexere Mechanismen gibt, in denen Kombinationen unterschiedlichster Biomarker als mögliche Prädiktoren für im Zuge intrauteriner Infektionen ausgelöste Frühgeburten zukünftig von hohem Nutzen sein können. [167]

7.2.3. Zytokinexpression bei Schwangeren und Nichtschwangeren im Vergleich

Eine weitere Frage nach der Ursache der signifikant verminderten proinflammatorischen Interleukine IL-1 α , IL-1 β und IL-12 bei den Schwangeren könnte in einer Koinfektion, einer sogenannten Doppelinfection mit *Candida albicans* und einem anderen bakteriellen Erreger gleichzeitig oder in einer Mischinfektion mit mehr als zwei Erregern gleichzeitig liegen.

Die Forschungsgruppe Sobel, Subramanian, Foxman, Fairfax und Gyax beschreibt in ihrer aktuellen Studie das Phänomen der Mischinfektion der Vagina im Gegenzug zu einer Koinfektion. All diese Erreger können zu einem abnormalen Milieu in der Vagina und in der Folge zu symptomatischen Erscheinungen einer Vaginitis

beitragen. Die Wissenschaftler stellten fest, dass Mischinfektionen in der Vagina eher selten vorkommen (Häufigkeit: <5%). Hingegen sind Koinfektionen in der Vagina häufig anzutreffen. Circa 20-30 % der Frauen mit BV sind zusätzlich mit einer Candidaspezies infiziert. Am häufigsten (circa 60-80 %) ist eine durch den Erreger *Gardnerella vaginalis* verursachte bakterielle Vaginose mit *Trichomonas vaginalis*, einem obligat pathogenen Parasiten, vergesellschaftet.

Die Tatsache einer bestehenden genitalen Ko- bzw. Mischinfektion hat therapeutische Konsequenzen. In beiden Fällen bedarf es einer spezifischen Therapie zur Ausmerzungen des jeweiligen Erregers. [142,58]

Eine weitere, fast zeitgleich publizierte Studie von Fan et al. aus China kommt zu dem Ergebnis, dass die aerobe Vaginitis eine weit verbreitete Scheideninfektion ist und in vielen Fällen mit anderen Infektionen, beispielsweise einer vulvovaginalen Candidose (VVC), einer bakteriellen Vaginose (BV) und einer *Trichomonas*-Vaginitis (TV) vergesellschaftet ist. Da die klinischen Zeichen und Symptome dieser Mischinfektionen häufig atypisch sind, ist es aus therapeutischen Gründen notwendig, eine aerobe Vaginitis von einer Mischinfektion der Vagina genau zu unterscheiden. [52]

Im Jahr 2007 untersuchten Cauci und Culhane den Einfluss von Koinfektionen auf die angeborene und erworbene lokale Immunantwort in der Vagina sowie die Aktivität von Enzymen in Erregern bei BV-positiven schwangeren Frauen. Die höchsten Konzentrationen der Interleukine IL-1 β und IL-8 wurden mit Abstand in der Vaginalflüssigkeit von Patientinnen mit einer Koinfektion mit *Trichomonas vaginalis* gemessen. Patientinnen mit einer Koinfektion mit Pilzen hatten lediglich hohe IL-8-Werte. Die IL-1 β -Konzentration hingegen stieg nicht an. Koinfektionen mit den Erregern *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria Gonorrhoe* hatten keine Wirkung auf die Zytokine im Vaginalsekret. [31]

Im Vergleich zu einer Monoinfektion mit *Candida albicans* kann die Zytokinexpression spezifischer proinflammatorischer Signalstoffe wie IL-1 β bei Vorliegen einer Koinfektion auf dem Boden dieser Erkenntnis unterschiedlich ausfallen. Der Einfluss endogener und exogener Faktoren auf das "Ökosystem" der Vagina und somit auf das Immunsystem im Hinblick auf die Zytokinproduktion sollte

bei den Messungen berücksichtigt werden. Dies hatte bereits Mårdh in seiner Arbeit *“The vaginal ecosystem“* aus dem Jahr 1991 postuliert. [94]

Basierend auf der Annahme, dass bestimmte Sekrete aus dem Genitaltrakt der Frau während der Schwangerschaft eine bakterizide Wirkung auf *Escherichia coli* (*E. coli*) zeigen, verglichen Gharvey et al. 70 Schwangere im dritten Trimenon mit 35 nichtschwangeren Frauen, die alle im Genitaltrakt mit *E. coli* kolonisiert waren. Die Ergebnisse veranschaulichen bei den Schwangeren eine erheblich stärkere bakterizide Wirkung und höhere Konzentrationen an proinflammatorischen Zytokinen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Ergebnisse bestätigen, dass das Immunsystem in der Vagina unter dem Einfluss der Schwangerschaft verändert wird. Diese Veränderung könnte dem Schutz vor kolonisierenden Keimen und aufsteigenden Infektionen in der Schwangerschaft dienen. [62]

Walter et al. verglichen in ihrer 2011 publizierte Querschnittsstudie 39 immunmodulatorische Faktoren im zervicovaginalen Sekret bei 21 schwangeren und 24 nichtschwangeren Frauen bezüglich der lokalen Immunität gegenüber HIV. Sie gingen der Frage nach, welche immunologischen Prozesse ein höheres Risiko für Schwangere darstellen, an einer HIV-Infektion zu erkranken. Bei den schwangeren Frauen wurde im Vergleich zu den nichtschwangeren eine dreifach geringere Konzentration des Chemokins CCL-22 im zervicovaginalen Sekret gemessen.

Die CCL-22-Konzentration korrelierte negativ mit dem Gestationsalter, mit der Zeitspanne seit dem letzten Koitus sowie mit einer vorliegenden Zervixektomie [49]. Sie korrelierte hingegen positiv mit dem Lebensalter.

Niedrige CCL-22-Werte könnten Einfluss auf die erhöhte Ansteckungsgefahr bei Schwangeren mit dem HIV-Virus haben. [160]

2007 verglichen Beigi, Yudin, Cosentino, Meyn und Hillier 99 schwangere und 99 nichtschwangere Frauen mit einer bakteriellen Vaginose hinsichtlich bestimmter proinflammatorischer Zytokine in der Endozervix.

Mithilfe von ELISA gemessenen Interleukine IL1- β , IL-6 und IL-8 waren bei den Schwangeren signifikant höher als in der Vergleichsgruppe.

Entsprechend diesen Ergebnissen ist das Milieu der proinflammatorischen Zytokine in der Endozervix in der Schwangerschaft deutlich erhöht. In diesem Fall könnte der Terminus Schwangerschaft mit einem immungeschwächten Zustand, welcher auf spezifische anatomische Bereiche begrenzt ist, gleichgesetzt werden. [13]

Ein direkter Vergleich mit schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen, die an einer VVC leiden, ist an dieser Stelle leider nicht möglich.

In einer Studie von Nowakowska et al. aus dem Jahr 2009 verglichen die Wissenschaftler vier Gruppen von insgesamt 627 Patientinnen mit dem Ziel, das Vorkommen von Pilzerkrankungen in der Vagina, im Rektum und in der Mundhöhle bei schwangeren und nichtschwangeren Patientinnen, jeweils mit und ohne Diabetes auszuwerten.

Das Ergebnis zeigt eine deutlich geringere Häufigkeit von Pilzen in der Scheide bei gesunden schwangeren Patientinnen verglichen mit gesunden nichtschwangeren Patientinnen. Dies könnte auf eine protektive Wirkung des Faktors Schwangerschaft auf das Risiko einer Vulvovaginalcandidose deuten.

Hingegen haben die Faktoren Schwangerschaft und Diabetes unabhängig voneinander keinen Einfluss auf die Häufigkeit von Pilzen in der Mundhöhle und im Rektum. [107]

7.3. Einfluss des pH-Wertes

In unserer Arbeit verglichen wir die Höhe des pH-Wertes im Scheidensekret zwischen den Schwangeren und Nichtschwangeren. Der durchschnittliche pH-Wert im Vaginalsekret bei den Schwangeren ist mit 5,9 deutlich erhöht. Im Vergleich zu einer physiologisch gesunden Vaginalflora im sauren Bereich mit einem pH-Wert zwischen 3,8 und 4,4 herrscht bei den Schwangeren mit einem pH-Wert von 5,9 auf den ersten Blick ein dysbiotisches Verhältnis in der Vagina. Wenn man dabei berücksichtigt, dass die Schwangeren auch bei einem normalen Schwangerschaftsverlauf keine homogene Gruppe darstellen, kann das Urteil über die Qualität der Vaginalflora relativiert werden. Bei Frauen mit einer Zervixinsuffizienz, vorzeitigen Wehen, einem vorzeitigen Blasensprung und Geburtswehen ist der pH-Wert allein aufgrund von möglichem Abgang von Fruchtwasser oder Blut alkalisiert.

Es stellt sich die Frage, ob in diesem Fall ein hoher pH-Wert mit dem Faktor Schwangerschaft vergesellschaftet ist. Einige genitale Infektionen in der Schwangerschaft, wie die bakterielle Vaginose oder eine Infektion mit B-Streptokokken, werden häufig mit einem erhöhten pH-Wert in der Vagina begleitet

und können zu vorzeitigen Wehen, einem vorzeitigen Blasensprung und einer Frühgeburt führen.

In einer aktuellen retrospektiven Studie von Ovalle et al. aus Chile kamen die Forscher zum Ergebnis, dass aufsteigende Infektionen am häufigsten mit spontanen Frühgeburten in Verbindung stehen. Die am häufigsten vorkommenden Erreger, die im Zusammenhang mit einer durch aufsteigende Keime ausgelösten vorzeitigen Geburt stehen, sind Streptokokken der Gruppe B. [111]

Die meisten Mikroorganismen entwickeln sich pH-Wert-abhängig in ihrer Umgebung und können aufgrund ihrer strukturellen Eigenschaften nur in bestimmten pH-Bereichen überleben. *E. coli*, ein im Darm zahlreich vorkommender Keim, bevorzugt im Vergleich zu *Candida albicans* neutrale Medien. Aufgrund seiner morphologischen Beschaffenheit unter normalen Bedingungen ist dieses Bakterium nicht in der Lage, saure und extrem alkalische Bereiche zu tolerieren. [16]

Candida albicans hingegen ist ein sehr anpassungsfähiger Erreger, der sowohl saure als auch alkalische pH-Werte toleriert. Über seine dimorphe Eigenschaft ist er fähig, sich an seine entsprechende Umwelt anzupassen. Der pH-Wert ist einer der entscheidendsten exogenen Faktoren, welche die Zellmorphologie dieses Hefepilzes maßgeblich beeinflussen. In einer sauren Umgebung erscheint *Candida albicans* als unizellulärer Sprosspilz, während er bei neutralen pH-Werten und einer Umgebungstemperatur von 37 °C die filamentöse Form annimmt. [25]

Für diese phänotypischen Eigenschaften sind auch präzise Veränderungen in der Genexpression spezifischer Zellwandproteine notwendig. Ramon und Fonzi haben im Jahr 2003 den Transkriptionsfaktor Rim101p für die Regulation der pH-Wert-abhängigen Expression bestimmter Zellwandproteine beschrieben. [123,125,126]

Im Falle einer VVC liegt der vaginale pH-Wert sogar häufig im Normbereich (pH: 3,8 – 4,4). Die Information über die Höhe des pH-Wertes allein ist also bei einer Diagnoseabklärung nicht zielführend. [171,21]

Allerdings ist die Bestimmung des pH-Wertes eine additive diagnostische Möglichkeit, um eine Candidavaginitis von einer bakteriellen Vaginose abzugrenzen. [86]

Mania-Pramanik et al. untersuchten den Nutzen der Bestimmung des vaginalen pH-Wertes bei der Diagnose von Infektionen und ihre Zusammenhänge mit deren Folgeerscheinungen. 78,6 % der Frauen mit einem erhöhten pH-Wert hatten eine BV, hingegen wiesen lediglich 4,1% der Frauen mit einem hohen pH-Wert eine Chlamydieninfektion auf. Die Forscher schlossen aus den Ergebnissen, dass hohe pH-Werte der Scheide mit dem Vorliegen einer bakteriellen Vaginose korrelieren und somit die pH-Wert-Messung als einfaches Werkzeug zur Diagnose genutzt werden sollte. [91]

2012 veröffentlichten Danby, Boikov, Rautemaa-Richardson und Sobel aus den USA ihre Forschungsergebnisse, in welchen sie die Zusammenhänge zwischen dem Einfluss des pH-Wertes auf die Empfindlichkeit von *Candida glabrata* und *Candida albicans* gegenüber antimykotischen Mitteln und deren Nutzen für den klinischen Gebrauch darstellten. Diese Arbeit ist von besonderem Interesse bezüglich der häufigen Resistenzen von *Candida-Glabrata*-Stämmen gegenüber handelsüblichen Antimykotika.

Es wurde die Wirkung von elf Antimykotika auf 40 Fluconazol resistente *Candida-Glabrata*-Isolate mit der Wirkung auf jeweils fünfzehn Stämme von *Candida albicans*, die gegenüber Fluconazol empfindlich sind sowie jeweils zehn Fluconazol resistente *C.albicans*-Stämme, unter In-Vitro-Bedingungen miteinander verglichen. (Die Empfindlichkeit der Candidaspezies gegenüber bestimmten Antimykotika ändert sich mit der Höhe des pH-Wertes in vitro.) Die Sensitivität unter In-Vitro-Bedingungen gegenüber herkömmlichen Präparaten wie Flucytosin, Fluconazol und Amphotericin ist mit einem speziellen Sensitivitäts-Test für Pilze ermittelt worden. Alle Testmedien wurden in die pH-Bereiche 4, 5, und 7 gepuffert. *Candida glabrata* reagierte bei niedrigem pH-Wert empfindlich gegenüber Flucytosin und Caspofungin. Es wurde eine erhöhte minimale Hemmkonzentration für Amphotericin B und alle getesteten Azole gemessen. Das bedeutet, dass der Erreger nur eingeschränkt sensibel auf die Medikamente reagiert. *Candida-albicans*-Stämme mit einer Resistenz gegenüber Fluconazolen wiesen bei einem pH-Wert von 4 ebenso eine gewisse Resistenz gegenüber Amphotericin und allen Azolen auf. Unter alkalischeren Bedingungen bei einem pH-Wert von 7 reagierten dieselben Stämme jedoch empfindlich auf bestimmte Azole. Im Gegensatz hierzu blieben die Fluconazol-sensitiven Isolate von *C. albicans* auch bei niedrigen pH-Werten empfindlich gegenüber Azolen. Der pH-

Wert eines Milieus kann in vielen Fällen die Wirksamkeit eines Antimykotikums beeinflussen. Bei der Auswahl der Präparate für eine therapeutische Behandlung einer rezidivierenden durch *C. glabrata* verursachten Vaginitis sollten die Grenzen einer Empfindlichkeitsprüfung in vitro im pH-Bereich von 7,0 berücksichtigt werden. [35]

Hoyme und Huebner wiesen in ihrer Arbeit von 2010 darauf hin, dass sowohl eine dysbiotische Vaginalflora als auch eine bakterielle Vaginose ein signifikantes relatives Risiko zwischen 1,4% und 6,9 % für eine Fehl- bzw. Frühgeburt bergen. [76]

7.4. Reinheitsgrad des Vaginalsekretes

Das Ergebnis unserer Arbeit bezüglich des Reinheitsgrades (RHG) zeigt einen deutlichen Unterschied zwischen beiden Gruppen. Der RHG bei den Schwangeren liegt mit II-III deutlich höher als bei den Nichtschwangeren (I-II). Dies gibt einen Hinweis auf eine hohe Besiedelung der Vaginalflora mit Bakterien in Begleitung von Leukozyten bei wenigen bis keinen Lactobazillen. [164]

Diese Tatsache stützt die Vermutung, dass bei den Schwangeren, im Gegensatz zu den Nichtschwangeren, überwiegend eine Ko- bzw. Mischinfektion mit verschiedenen Keimen oder eine quantitativ höhere Besiedelung mit bestimmten Keimen vorliegt.

Die Bestimmung des Reinheitsgrades ist bei der Diagnosefindung vaginaler Infektionen ein zusätzliches probates Mittel. Bereits 1977 haben Weissenbacher und Frank in ihrer Studie bei 159 an Mykoplasmen erkrankten Patientinnen den Reinheitsgrad der Vaginalflora bestimmt. Sie fanden heraus, dass keine der Patientinnen einen RHG I aufwies. Die Frauen hatten insgesamt keine physiologisch reine Vaginalflora (Döderleinflora).

Diese Erkenntnis wurde mit einem möglichen pathologischen Einfluss der Mykoplasmen im Urogenitaltrakt in Zusammenhang gebracht. [166]

Eine randomisierte, doppelblinde, aktiv-kontrollierte multizentrische Studie aus dem Jahr 2002 von Petersen, Weissenbacher, Hengst, Spitzbart et al. hatte die lokale

Behandlung von Infektionen in der Vagina unterschiedlichster Herkunft mit den Antiseptika Dequaliniumchlorid und Povidon-Iod zum Thema. Insgesamt wurden 180 Frauen mit einer bakteriellen Vaginose, einer vulvovaginalen Candidose, einer Trichomonadeninfektion und einem Fluor vaginalis beobachtet. Genaueste beschreibende Analysen der Sekundärparameter wie der Scheiden-pH-Wert, der Reinheitsgrad der Vaginalflora und die Anzahl der Lactobazillen bestärkten die vergleichbare Wirksamkeit der beiden Therapieanwendungen, um das Scheidenmilieu zu regenerieren.

Die Wirksamkeit der beiden Antiseptika wurde sowohl von den Forschern als auch von den Patientinnen mit gut bewertet. Die Ergebnisse der Studie ermöglichte eine sehr gute Einstufung bezüglich der Wirksamkeit der therapeutischen Maßnahmen.

An dieser Stelle wird deutlich, wie wichtig eine präzise Analyse erhobener Sekundärparameter, wie z.B. der Reinheitsgrad, zur Bestimmung effektiver therapeutischer Maßnahmen ist. [116]

Eine Studie von Ozkiney et al. von 2005 beschäftigte sich ebenfalls mit der Wiederherstellung einer physiologischen Vaginalflora bei Frauen mit unterschiedlichen Arten von Scheideninfektionen. Dabei wurden zwei Gruppen bestehend aus insgesamt 360 Patientinnen mit einer bakteriellen Vaginose, einer Candidavaginitis, einer Trichomonadeninfektion und dem Fluor vaginalis beobachtet. Die Studiengruppe bestand aus 240 Frauen, welche mit Lactobazillen und Gynoflor, einem schwach dosierten Östriol, behandelt wurde. Die Kontrollgruppe setzte sich aus 120 Frauen zusammen, welche ein Placebo erhielt. Ein Hauptzielkriterium war der Index einer normalen Vaginalflora (NFI), bestehend aus der Anzahl der Lactobazillen, pathogenen Mikroorganismen, Leukozyten und dem Scheiden-pH-Wert. Weitere Nebenkriterien schlossen die Auswertung aller Symptome, den Reinheitsgrad der Vaginalflora und die umfassende Bewertung der Behandlung von Seiten der Forscher und der Patientinnen mit ein.

Im Vergleich zur Placebogruppe verbesserten sich sowohl der NFI als auch der Reinheitsgrad der Studiengruppe. Die Forscher schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen eine deutliche Verbesserung der Wiederherstellung einer physiologisch gesunden Vaginalflora unter Verabreichung lebender Lactobazillen und einem niedrig dosierten Östriol. [112]

Auch Karkut befasste sich in seiner 1984 publizierte Studie mit der Wirkung einer Laktobazillus-Immuntherapie auf Genitalinfektionen bei Frauen. Dabei kam der Wissenschaftler zu dem Schluss, dass eine Behandlung mit Laktobazillen in Form des Handelspräparates *Solco Trichovac/ Gynatren* eine positive Wirkung sowohl auf den Reinheitsgrad als auch auf den Scheiden-pH-Wert haben kann. Die Bakterienzahl reduzierte sich und analog dazu erhöhte sich der Anteil der Laktobazillen im Vaginalsekret. [82]

Hughes und Hillier hingegen kamen in ihrer Arbeit von 1990 zu dem Ergebnis, dass eine therapeutische Gabe von Laktobazillen keinen Vorteil zur Verbesserung der Vaginalflora aufweist. Sie schlussfolgerten, dass handelsübliche Laktobazillen nicht geeignet sind, um die Vagina zu rekolonisieren. Darüber hinaus entdeckten sie in 68,75 % der Fälle mit pathogenen Keimen kontaminierte Laktobazillenpräparate. [77]

7.5. Farbe des Vaginalsekretes

Bornstein et al. kamen in ihrer 2001 veröffentlichten Studie zu der Annahme, dass die bisherigen klassischen und zeitaufwändigen Prüfungen keine zuverlässigen diagnostischen Maßnahmen seien. Sie plädierten für eine Weiterentwicklung der aktuellen Diagnosegrundlagen auf der Basis von Studien.

Sie untersuchten 153 Patientinnen mit der Diagnose einer Vulvovaginitis in Begleitung eines Fluor vaginalis. Die Frauen wurden bezüglich der Menge und der Farbe ihres Vaginalausflusses befragt und untersucht. Übliche Maßnahmen wie die pH-Wert-Messung, die Durchführung eines Amintests, eine mikroskopische Untersuchung sowie das Anlegen von Kulturen wurden vorgenommen.

Die Ergebnisse zeigten, dass nur bei 98 Frauen tatsächlich eine Vulvovaginitis vorlag. Von diesen 98 Patientinnen wurde über die bereits erwähnten Methoden bei 61 eine Candidose mit Candidaspezies, bei 15 eine bakterielle Vaginose, bei 9 eine Trichomonadeninfektion und bei 6 eine Mischinfektion diagnostiziert. Die restlichen 55 Frauen hatten eine normale Scheidenflora.

Das bedeutet, dass in dieser Studie Candidaspezies als hauptsächliche Erreger für eine Vulvovaginitis nachgewiesen wurden.

Die Forscher konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem pH-Wert des Scheidensekretes und des entsprechenden Erregers darstellen. Die durch *Candida* spp. verursachten Vulvovaginitiden korrelierten positiv mit einem pH-Wert < 4,5.

Bei den BV-positiven Patientinnen konnten nur in 53,3% der Fälle Clue Cells im mikroskopischen Präparat nachgewiesen werden. Ebenso war der Amintest bei den Frauen mit einer BV nur in 6,3 % der Fälle positiv.

Basierend auf ihre eigenen Studienergebnisse, beurteilten die Forscher bestimmte diagnostische Maßnahmen wie z.B. die pH-Wert-Messung als unzureichend aussagekräftig. Sie bezogen sich auf Studien, die belegen, dass Candidainfektionen auch bei Vorliegen von alkalischen pH-Werten in der Vagina vorkommen.

Aus diesem Grund sahen die Wissenschaftler trotz der Empfehlungen in der aktuellen Literatur den gezielten Einsatz von Kulturen sowie Gram-Färbungen bei Vorliegen einer Vulvovaginitis als notwendig an. [21]

Bergman und Berg beschäftigten sich bereits zu Beginn der Achtziger Jahre mit der Fragestellung, wie zweckdienlich die Erhebung von Symptomen bei der Diagnose einer Candidavaginitis ist.

Beide Wissenschaftler werteten die Daten von 204 Patientinnen aus, welche zum Teil deutliche Symptome (z.B. vermehrter weißlich-bröckeliger Ausfluss, Juckreiz, Dysurie) und zum anderen keine Symptome einer Candidavaginitis zeigten. Von allen Patientinnen wurden Kulturen angelegt.

Alle Patientinnen wurden in der Anamnese nach spezifischen Symptomen im urogenitalen System einschließlich Vorhandensein und Qualität (Farbe und Konsistenz) des Ausflusses befragt.

Das Ergebnis erbrachte, dass lediglich 36 von 204 Kulturen *Candida* positiv waren. Vier der 36 positiven Kulturen stammten jedoch aus der Gruppe der asymptomatischen Frauen.

Insgesamt erwiesen sich alle urogenitalen Beschwerden sowohl für sich als auch in Kombination als unzureichende Prädiktoren für eine Diagnose einer genitalen Candidose.

Die Forscher schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, es sei unzureichend, sich bei der Diagnosefindung ausschließlich auf die Symptome zu stützen. [17]

7.6. Altersverteilung

Die Altersverteilung in beiden Gruppen in unserer Studie unterscheidet sich deutlich. Das Durchschnittsalter bei den Nichtschwangeren liegt bei 34,5 Jahren.

Die Schwangeren hingegen liegen mit einem Durchschnittsalter von 29 Jahren deutlich darunter.

Wie bereits erwähnt, befinden sich in der Gruppe der Nichtschwangeren sowohl menopausale als auch postmenopausale Patientinnen.

Laut der statistischen Auswertung hat der Faktor "Alter" keinen signifikanten Einfluss auf die Zytokinexpression.

Hingegen hat der Faktor Alter bei postmenopausalen Frauen eine Bedeutung bezüglich der geringeren Östrogenisierung der Vagina. Aus diesem Grund haben sie eine deutlich niedrigere Disposition für eine VVC als Frauen im fruchtbaren Alter.

Chronisch rezidivierende vulvovaginale Candidosen (CRVVC) sind in diesem Alter eher ungewöhnlich – mit Ausnahme von Frauen mit einer Hormonersatztherapie (HRT), einem Diabetes oder einer Immunschwäche. In diesem Fall ist ein spezifisches therapeutisches Regime obligat. [108]

Die Ergebnisse der Studie von Fischer und Bradford über die Bedeutung der HRT bei postmenopausalen Patientinnen bestätigen, dass Frauen unter Einnahme von Hormonpräparaten eine deutlich höhere Disposition für eine vulvovaginale Candidose haben als diejenigen ohne HRT. [56]

7.7. Bedeutung von Risikoschwangerschaften

7.7.1. Risikoschwangerschaft und Candidose

Im Hinblick auf unser Patientenkollektiv der Schwangeren im dritten Trimenon stellt sich die Frage nach einem Zusammenhang zwischen einer vermehrten Kolonisation mit *Candida albicans* in der Vagina und einer Risikoschwangerschaft.

Entsprechend einer Multicenterkohorten-Studie von Cotch et al. kommt es bei Patientinnen mit leichter bis schwerer vaginaler Kolonisation mit *Candida albicans* und *Candida spp.* zu keinem Anstieg der Frühgeburtenrate, keinem erhöhten Risiko eines intrauterinen Fruchttodes, keiner erhöhten Disposition für einen vorzeitigen Blasensprung und zu keinem niedrigen Geburtsgewicht des Neugeborenen. Die Arbeitsgruppe konnte keine Erhöhung der Prävalenz einer Kolonisation mit *Candida* im 3. Trimenon nachweisen. [34]

7.7.2. Folgen von Risikoschwangerschaften

Grundsätzlich ist eine Schwangerschaft von einem hochkomplexen Zusammenspiel inflammatorischer Geschehnisse, die sowohl über das angeborene als auch über das erworbene Immunsystem geregelt werden, bestimmt.

(...*“Pregnancy is characterized by a complex interplay of inflammatory events regulated by both the innate and acquired immune systems.”* MacIntyre et al.) [88]

Schwangerschaftsrisiken, wie z.B. eine Zervixinsuffizienz, ein vorzeitiger Blasensprung oder vorzeitige Wehen erhöhen das Risiko für Mutter und Kind.

Insbesondere Risiken, die in Verbindung mit einem maternalen Infektionsereignis stehen, können zu erhöhten inflammatorischen Werten im Serum von Mutter und Kind führen.

In einer Studie von McElrath et al. aus Boston, USA, wurden 798 Neugeborene, die vor der 28. Schwangerschaftswoche geboren wurden, im Hinblick auf vergangene Schwangerschaftskomplikationen untersucht.

Alle Frühgeborene, welche im Zusammenhang mit vorzeitigen Wehen, vorzeitigem Blasensprung, einer vorzeitigen Plazentaablösung oder einer Zervixinsuffizienz zur Welt kamen, hatten am Tag der Geburt im Rahmen eines Infektionsgeschehens im Blut erhöhte Konzentrationen an proinflammatorischen Zytokinen, Zytokinrezeptoren, CRP und anderen Proteinen (Chemokine, Adhäsionsmoleküle und Metalloproteinasen).

Bei Frühgeborenen mit einer Wachstumsretardierung und bei jenen, deren Mütter eine Präeklampsie in der Schwangerschaft hatten, wurden keine derartigen Veränderungen im Blut gefunden.

Anhand der bestimmten Muster an Auffälligkeiten im Blut von Frühgeborenen konnten die zu einer vorzeitigen Geburt führenden Schwangerschaftsrisiken in zwei Gruppen eingeteilt werden: eine Gruppe der Schwangerschaftsrisiken in Verbindung mit einer Infektion und eine Gruppe der Schwangerschaftsrisiken ohne Vorliegen einer Infektion. [95]

7.8. Risikoschwangerschaften im Einzelnen

7.8.1. Zervixinsuffizienz

Die Zervixinsuffizienz gilt als Risikofaktor für eine Frühgeburt. Die Inzidenz der Zervixinsuffizienz schwankt zwischen ca. 1% unter normalen Bedingungen und bis zu 13% unter wiederholten Aborten in der Vorgeschichte. [9]

Unter einer Zervixinsuffizienz versteht man eine schmerzfreie Verkürzung des Gebärmutterhalses (lat.: cervix uteri) im mittleren Trimenon ohne vorzeitige Wehentätigkeit. [147]

Als Hauptursache der perinatalen Sterblichkeit stellt die Frühgeburt eine enorme Herausforderung in der Geburtshilfe dar. Die genauen pathophysiologischen und pathobiochemischen Zusammenhänge sind bis dato nur unzulänglich bekannt, obwohl bereits beträchtliche Forschungsgelder aufgewendet wurden.

Maternale Risikofaktoren wie Frühgeburt und Zervixinsuffizienz können in vielen Fällen aus immunologischer Sicht mit einem inflammatorischen Ereignis verglichen werden, bei dem vermehrt intrauterine (pro)inflammatorische Zytokine sezerniert werden. Polymorphismen, d.h. Genveränderungen, können hingegen die Produktion des IL-10, ein antiinflammatorisches Zytokin, erheblich beeinträchtigen mit entsprechenden Auswirkungen auf das klinische Ergebnis. [11]

Diesen Zusammenhängen sind Warren et al. in ihrer 2009 publizierten Studie nachgegangen. Die Forscher untersuchten Genveränderungen in der Promoter-Region des für das antiinflammatorische Interleukin IL-10 verantwortlichen Gens. Veränderungen spezifischer Allele (z.B. Allel G13) fanden die Forscher häufiger bei Frauen mit einer Zervixinsuffizienz als in der Kontrollgruppe. Eine Variante des

Interleukin-10-Gens könnte laut der Wissenschaftler eine Ursache für eine Zervixinsuffizienz sein. [162]

Zeitgleich publizierten Baxter et al. eine sachliche Auseinandersetzung mit dem Thema Zervixinsuffizienz in Form einer Diskussion auf der Grundlage von Warrens Studie. Dazu moderierte Jason K. Baxter, während sich vier weitere Gynäkologen kritisch mit seinen Fragen auseinandersetzten.

Sie hielten die Fall-Kontroll-Studie als eine unkomplizierte und kosteneinsparende Methode, um festzustellen, ob eine Genveränderung ein Risikofaktor für das Erscheinungsbild Zervixinsuffizienz sein kann.

Fragwürdig fanden die Beteiligten, dass die Forscher in der Studie den Focus lediglich auf den Polymorphismus des IL-10-Gens setzten und nicht zeitgleich die Werte von IL-10 und anderen Zytokinen, vorzugsweise im Fruchtwasser und im zervicovaginalen Sekret gemessen haben. [11]

Ergänzend dazu beschäftigten sich Macones et al. mit dem Zusammenhang von Polymorphismus der Promoterregion des TNF- α , einer bakteriellen Vaginose und dem Risiko einer Frühgeburt. [89]

In Anbetracht dessen, dass Frühgeburten einen multifaktoriellen Prozess darstellen, vermissten die diskutierenden Gynäkologen die Rolle des Fetus dabei.

Eine größere Bedeutung der Studie von Warren et al. räumten sie für praktizierende Gynäkologen nicht ein. Die meisten Ergebnisse der Vergleiche im IL-10-Gen waren negativ. Die Forscher entschieden sich aber dafür, das Hauptaugenmerk auf das positive Ergebnis zu setzen.

Allerdings erkannten die beratenden Experten die Studie als einen ersten wichtigen Schritt in diesem Metier und honorierten die Arbeit von Warren et al. . Laut Baxter sei es noch ein langer Weg, um die genauen Zusammenhänge zwischen einer Zervixinsuffizienz und einer Genveränderung des IL-10-Gens zu verstehen. [11]

Mit dem höheren Durchschnittsalter der werdenden Mütter und deutlich zunehmenden reproduktionsmedizinischen Eingriffen in der westlichen Welt steigt die Zahl der Frühgeburten und stellt im Bereich der Geburtshilfe eine der größten medizinischen Herausforderungen dar. Desweiteren wird angenommen, dass auch

genetische Faktoren eine Rolle bei Frühgeburten spielen können. Eine abweichende Funktion der Zervix wie es bei einer Zervixinsuffizienz der Fall ist, kann als entscheidende Ursache für eine Frühgeburt angesehen werden.

Eine genetische Prädisposition für eine Zervixinsuffizienz wird diskutiert. Bestimmte Gene, die im Zusammenhang mit dem Bindegewebestoffwechsel und entzündlichen Prozessen stehen, wurden mit einer Zervixinsuffizienz in Verbindung gebracht. [163]

7.8.2. Vorzeitiger Blasensprung

Unter einem vorzeitigen Blasensprung (englisch: PROM) versteht man, wenn es, unabhängig vom Gestationsalter, bereits vor Eintritt der Geburtswehen durch einen Riss des Amnions zum Austritt von Fruchtwasser kommt. Ein früher vorzeitiger Blasensprung (englisch: pPROM) hingegen wird als spontaner Blasensprung vor der 37. Schwangerschaftswoche vor Einsetzen der Geburtswehen definiert. [155,23]

Insgesamt sind ca. 30-40 % der Frühgeburten auf einen vorzeitigen Blasensprung zurückzuführen. [84]

Je nach Schwangerschaftswoche stellt ein vorzeitiger Blasensprung ein deutliches Risiko für Mutter und Kind dar. In vielen Fällen kommt es zu aufsteigenden Infektionen mit einem daraus resultierenden Amnioninfektionssyndrom (AIS). Das AIS ist definiert als eine intrauterine Infektion, welche die Eihäute, die Plazenta selbst, das Fruchtwasser und das Ungeborene miteinschließt.

Laut Briese haben 80 % der Amnioninfektionssyndrome einen vorzeitigen Blasensprung als Ursache. [24]

Der vorzeitige Blasensprung wird je nach Gestationsalter analog der diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen in vier Stadien eingeteilt. [8]

Eine aktuell publizierte retrospektive Studie von Goya et al. aus Spanien beschäftigte sich mit den Risikofaktoren einer frühen vorzeitigen Geburt vor der 34. Schwangerschaftswoche. Dabei wurden die Daten von 216 Schwangeren aus den Jahren 2006 bis 2010 mit einem pPROM ausgewertet. Schwangere Patientinnen mit positiven Erregerkulturen auf dem Boden von endozervikalem und vaginalem Sekret,

einem Oligohydramnion und einer verkürzten Zervix hatten ein deutlich geringeres Gestationsalter zum Zeitpunkt der Geburt.

Die Forscher schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, dass ein normaler Fruchtwasserindex (Amnion Fluid Index = AFI), eine Zervixlänge > 25mm sowie auf Erreger negativ getestete Kulturen eine protektive Wirkung haben können. [65]

Briese berichtete, dass vor allem die durch eine lokale zervicovaginale Infektion freigesetzten Zytokine IL-1, IL-6, IL-8 sowie TNF- α eine zentrale Rolle spielen. [24]

Mit der Frage nach dem Zusammenhang zwischen der Höhe der Zytokinkonzentration im zervicovaginalen Sekret und einem vorzeitigen Blasensprung haben sich bereits einige Forscher beschäftigt.

Torbé et al. untersuchten die Bedeutung von proinflammatorischen Zytokinen im Vaginalsekret im Hinblick auf eine frühe Neugeboreneninfektion bei pPROM. Zwei Gruppen wurden verglichen. Zum einen eine Gruppe von Frauen, deren Kinder an einer Neugeboreneninfektion litten und die andere Gruppe mit gesunden Neugeborenen. Bei denjenigen Frauen, die ein Neugeborenes mit einer Infektion zur Welt brachten, waren alle Werte der vier Zytokine erhöht. Die Forscher folgerten daraus, dass die Werte aller proinflammatorischen Zytokine im Vaginalsekret nach einem frühen vorzeitigen Blasensprung als angemessene Prädiktoren dafür angesehen werden können, ob ein Neugeborenes eine frühe Sepsis entwickelt oder nicht. [154]

Auch die australischen Wissenschaftler Athayde, J.Wang, X.Wang und Trudinger setzten sich insbesondere im Hinblick auf den Fötus mit den Risiken eines frühen vorzeitigen Blasensprungs auseinander. Dabei wurden HUVEC-Standardkulturen sowohl mit dem Plasma der Föten direkt nach einer normalen Geburt und nach der Geburt nach einem frühen vorzeitigen Blasensprung inkubiert. Die Wissenschaftler stellten fest, dass bei den Frauen mit einem frühen vorzeitigen Blasensprung (pPROM) eine höhere Expression an IL-6-mRNA als Antwort auf das fetale Plasma in den Endothelzellkulturen vorlag als bei den Frauen mit einer normalen vaginalen Geburt. Laut der Aussage der Forscher gibt es bei Föten, die nach einem frühen vorzeitigen Blasensprung geboren wurden, einen Faktor im Serum, der in der Lage

ist, die Zytokinexpression von IL-6 in den Endothelzellen der Nabelschnur zu stimulieren. [3]

Auf der Suche nach einem nicht-invasiven diagnostischen Werkzeug zur zuverlässigen Voraussage eines VBS untersuchten Ni et al. aus China die Vaginalsekrete von 43 Schwangeren mit PROM und von 38 Schwangeren mit einer intakten Fruchtblase im dritten Trimenon bezüglich der Faktoren Humanes Choriongonadotropin (hCG), Alpha-Fetoprotein (AFP) und Interleukin-6 (IL-6).

Dabei stellten sie fest, dass AFP im Vaginalsekret mit einer Sensitivität von 97,7% und einer Spezifität von 100% ein geeigneter Marker für die Diagnose PROM ist. [106]

Die im Jahr 2002 publizierte japanische Studie von Fukuda et al. untersuchte die Bedeutung des proinflammatorischen IL-6 und des antiinflammatorischen IL-1-Rezeptorantagonisten bei vorzeitigem Blasensprung. Dazu verglich er Schwangere mit VBS, Schwangere mit einer normalen vaginalen Entbindung und Schwangere mit einem elektiven Kaiserschnitt in Bezug auf die beiden oben erwähnten Zytokine sowohl im Fruchtwasser als auch im Blut der Nabelschnurvene.

Die IL-6-Konzentrationen im Fruchtwasser waren bei Schwangeren mit VBS signifikant erhöht im Vergleich zu den im Nabelschnurblut gemessenen Werten.

Bei den Frauen mit einer normalen vaginalen Geburt waren die IL-6 Werte im Fruchtwasser ebenfalls deutlich höher als bei den Schwangeren nach einem elektiven Kaiserschnitt. Die Konzentration von IL-1Ra im Nabelschnurblut war bei den Schwangeren mit VBS signifikant höher als bei den Normalgebärenden. Entsprechend schlussfolgerten die Forscher, dass hohe IL-6-Werte im Fruchtwasser eine intrauterine Infektion prognostizieren können. Die hohen IL-1Ra-Werte sowohl im Fruchtwasser als auch im Nabelschnurblut unterstützten die Vermutung, dass das anti-inflammatorische Zytokin vor einem inflammatorischen Prozess schützen kann. [59]

Zwei Studien aus dem Jahr 2000 und eine aus dem Jahr 2001 wurden von Poniedziałek-Czajkowska et al. aus Polen veröffentlicht.

In der im Jahr 2000 veröffentlichten Studie untersuchten Poniedziałek-Czajkowska et al. proinflammatorische Zytokine (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) und das antiinflammatorische Zytokin IL-4 im maternalen Serum bei Schwangeren mit VBS im

Vergleich zu gesunden Schwangeren in der 24.-34. Schwangerschaftswoche. Die Konzentrationen von IL-1 β , IL-8 und TNF- α sowie die CRP-Werte im Blut der Schwangeren mit einem VBS waren signifikant erhöht.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Ursache eines vorzeitigen Blasensprungs in Veränderungen innerhalb des Immunsystems liegt. [120]

Zeitgleich publizierten Poniedziałek-Czajkowska et al. eine weitere Arbeit mit der Frage nach der Beziehung zwischen den Konzentrationen der im maternalen Serum gemessenen Zytokine IL-6 und TNF- α und den Faktoren Fruchtbarkeit und Status der Frauen mit einem Schwangerschaftsrisiko für einen VBS. Es wurde eine positive Übereinstimmung zwischen den TNF- α -Konzentrationen, der Fruchtbarkeit und bestimmter Eigenschaften der Patientinnen mit VBS gefunden. Mehrgebärende mit VBS wiesen einen höheren TNF- α -Wert auf. Die IL-6 Werte bei Schwangeren ab der vierten Geburt waren signifikant erhöht im Vergleich zu Frauen mit drei oder weniger Geburten. Die Forscher resümierten, dass Frauen, die in der Vergangenheit mindestens einmal schwanger waren, einem höheren Risiko für einen VBS in zukünftigen Schwangerschaften ausgesetzt sind. Ein Verdacht auf eine intrauterine Infektion oder das Vorhandensein von anderen infektassoziierten Risikofaktoren sollten sorgfältig überprüft werden. [121]

In der im Jahr 2001 publizierten Studie von Poniedziałek-Czajkowska et al. wurde das Verhältnis zwischen den im maternalen Serum gemessenen proinflammatorischen Zytokinkonzentrationen IL-1 β , IL-6 und TNF- α und dem Fruchtwasserindex (Amniotic Fluid Index : AFI) bei Schwangeren mit einem vorzeitigen Blasensprung untersucht. Die Wissenschaftler fanden heraus, dass die Konzentration von IL-6 im mütterlichen Serum bei Risikoschwangeren mit einem AFI < 50mm signifikant höher war als bei der Gruppe von Risikoschwangeren mit einem AFI \geq 50mm. Es wurde eine signifikante Korrelation zwischen den IL-6-Konzentrationen im maternalen Serum und den AFI-Werten beobachtet. Bei IL-1 β und TNF- α hingegen nicht. Der Amnion Fluid Index ist laut der Forscher eine probate Methode zur Früherkennung einer intrauterinen Infektion bei Risikoschwangerschaften mit einem vorzeitigen Blasensprung. [122]

Eine israelische Arbeit aus dem Jahr 2006 von Bornstein et al. befasst sich mit der Bewertung einer einfachen diagnostischen Methode zum Nachweis eines möglichen vorzeitigen Blasensprungs. Diese Methode basiert auf einem neuartigen Polymer,

einem Verbund mehrerer niedermolekularer, reaktionsfähiger Moleküle, das in einer Slipeinlage eingearbeitet ist. Schwangere Frauen sind über diesen Selbsttest in der Lage, mithilfe eines Farbumschlags zu erkennen, ob es zu einem vorzeitigen Blasensprung gekommen ist.

Dazu wurden 103 Frauen, die eine Geburtsstation einer Klinik aufsuchten, in drei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe von Schwangeren mit Austreten von Flüssigkeitsansammlungen in die Scheide, eine Gruppe von Schwangeren mit einem offensichtlichen vorzeitigen Blasensprung sowie eine dritte Gruppe von Schwangeren ohne Austreten von Flüssigkeitsansammlungen in die Scheide.

Die Ergebnisse des "AL-Sense Strip-Tests" waren zu 82,35% deckungsgleich mit den Ergebnissen der körperlichen Untersuchung und der diagnostischen Tests der Mediziner. Die klinische Diagnose basierte auf der genauen Betrachtung der hinteren Scheide inklusive Fornix und Zervix sowie einem Kristallisations- und einem Nitrazin-Test.

Laut der Ermittlungen der Forscher hat der neuartige Selbsttest in Form einer Slipeinlage eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 75%. Sie empfehlen diesen Selbsttest als zuverlässige Methode, um einen vorzeitigen Blasensprung zu erkennen und von einem Urinabgang sowie von einer vulvovaginalen Candidose zu unterscheiden. [22]

7.8.3. Vorzeitige Wehen

Vorzeitige Wehen, deren Ätiologie bisher unzureichend bekannt ist, sind ein weiterer wesentlicher Risikofaktor während der Schwangerschaft. Sie sind die häufigste Ursache für eine Krankenhausaufnahme von Schwangeren und stellen eine multifaktorielle Herausforderung in der Geburtshilfe dar. [15,135,2]

Entsprechend der Krankenhausstatistik des Statistischen Bundesamtes in Deutschland sind vorzeitige Wehen der häufigste Grund für eine stationäre Behandlung bei Frauen zwischen 15 und 45 Jahren. [26]

Unter vorzeitigen Wehen versteht man muttermundwirksame Kontraktionen des Uterus vor der 37. Schwangerschaftswoche. [2,114]

Der Geburtsvorgang kann als ein bereits vor Beginn der Wehen einsetzender komplexer Prozess aktivierender inflammatorischer Kaskaden angesehen werden, welcher zu Zervixreifung und Uterusaktivität führt. Eine frühzeitige Aktivierung dieser Signalwege, z.B. infolge einer Infektion, kann zu frühzeitigen Wehen und einer Frühgeburt führen. [88]

Einige Forscher haben sich bereits in den Achtziger und Neunziger Jahren mit den Ursachen der vorzeitigen Wehen beschäftigt. Sie fanden Zusammenhänge zwischen genitalen Infektionen, der Gegenwart spezifischer Erreger und vorzeitigen Wehen.

1986 erschien die Studie von Gravett et al., in der sie einen Zusammenhang zwischen bakteriellen Infektionen im Fruchtwasser, vorzeitigen Wehen und Frühgeburten entdeckten. Sie vermuteten, dass die bakterielle Vaginose eine mögliche Ursache für Frühgeburten darstellt. In 24 % der Fälle wurden Erreger nach einer Amniozentese entdeckt. Von diesen Erregern wurden in 11% *Candida albicans* und Bakterien sowie in 13 % Mycoplasmen gefunden. Im Vergleich zu den Frauen mit sterilem Fruchtwasser, wurde bei denjenigen, deren Fruchtwasser mit *Candida albicans* oder anderen Bakterien infiziert war, eine kürzere Zeitspanne zwischen den einsetzenden vorzeitigen Wehen und der Geburt festgestellt. [66]

In einer Longitudinalstudie aus dem Jahr 1989 wurden die Zusammenhänge zwischen dem Scheiden-pH-Wert, der Besiedelung mit Kommensalen in der Vagina (*E. coli*, Lactobazillen und *Candida albicans*) und Schwangerschaftsrisiken wie vorzeitige Wehen sowie Frühgeburten erforscht. Laut der Wissenschaftler gingen höhere Scheiden-pH-Werte mit dem Eintreten vorzeitiger Wehen einher.

Es ist jedoch kritisch zu bemerken, dass die Fallzahlen (n= 30) in dieser Studie sehr gering und die Ergebnisse daher wenig aussagekräftig sind. [63]

In der Studie von Chaim, Mazor und Wiznitzer wurde die Häufigkeit und klinische Bedeutung intraamniotischer Infektionen in Assoziation mit Candidaspezies bei Schwangeren mit vorzeitigen Wehen erforscht.

Sie gingen der Frage nach, warum ein in der Vagina derart häufig anzutreffender Keim wie *Candida* relativ selten vorzeitige Wehen auslösen kann.

Sie verglichen 773 Amnion-Kulturen von Schwangeren mit vorzeitigen Wehen mit 625 Amnion-Kulturen von Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung.

Bei 9,9% der Schwangeren mit vorzeitigen Wehen wurden positive Kulturen getestet und bei 6,5 % wurden *Candida* spp. entdeckt. 28% der Schwangeren mit einem vorzeitigen Blasensprung wiesen positive Kulturen auf, lediglich 2,2% hatten eine Candidainfektion.

Obwohl Mycoplasmen und Ureaplasmen ähnlich häufig wie *Candida* spp. im vaginalen Milieu gefunden werden, stellen vorzugsweise diese beiden Erreger eine entscheidende Ursache für Amnioninfektionen dar, *Candida albicans* hingegen nicht. Interessanterweise ist der am häufigsten isolierte Keim, der in Zusammenhang mit vorzeitigen Wehen gebracht wurde, das recht selten in der Vagina vorkommende *Fusobakterium*.

Auch wenn durch *Candida* verursachte intrauterine Infektionen selten sind, ist das Risiko bei Vorliegen einer *candida*-assoziierten Infektion hoch, dass die Schwangerschaft schwierig verläuft und der Fetus zerebrale Infektionen davonträgt. Um den Schwangerschaftsverlauf zu verbessern, plädieren die Forscher für ein entsprechendes therapeutisches Regime bei einer Candidainfektion von Schwangeren. [33]

Van Winter et al. berichteten 1994 über einen seltenen Fall einer Schwangeren mit vorzeitigen Wehen, welche durch eine von *Candida* ausgelöste Chorioamnionitis verursacht worden waren. [156]

Mittlerweile hat sich ein großer Teil der Forscher mit dem Thema vorzeitige Wehen befasst. Es gibt zahlreiche aktuelle Studien, in denen die Wissenschaftler exogene (z.B. Erreger) und endogene (z.B. Biomarker wie Zytokine, Zytokinrezeptoren, Prostaglandine und Metalloproteinasen) Risikofaktoren für vorzeitige Wehen untersuchten.

Die Erforschung der Bedeutung von Matrix-Metalloproteinasen (MMP) im Zusammenspiel von Gewebeumbauprozessen, beispielsweise innerhalb infektiöser Prozesse, konnte sich in den letzten Jahren auch im Bereich der Geburtshilfe durchsetzen.

Unter Matrix-Metalloproteinasen versteht man einen in allen Lebewesen vorkommenden Verband ähnlich wirkender Enzyme. Sie katalysieren die Spaltung von Peptidbindungen innerhalb eines Proteins und prozessieren Signalmoleküle, welche das Verhalten der Zellen steuern. [131]

Eine weitere wesentliche Aufgabe der MMP ist der Abbau von Bindegewebsstrukturen, die einst von mesenchymalen Zellen synthetisiert worden waren. Unter anderem wirken IL-1, TNF- α und Prostaglandine induzierend auf Metalloproteinasen. [71]

Die Arbeit von Becher et al. untersuchte die Konzentrationen verschiedener Matrix-Metalloproteinasen im Schleimpfropf des Gebärmutterhalses im Zusammenhang mit vorzeitigen Wehen. Die Forschungsgruppe stellte fest, dass die Anwesenheit hoher Konzentrationen zweier Metalloproteinasen, MMP-8 und MMP-9 sowie IL-8 im Zervixschleimpfropf für eine Beteiligung an einer intrauterinen Infektion sprechen kann. [12]

In der 2011 herausgegebenen Arbeit von Marconi, de Andrade Ramos, Peraçoli, Donders und da Silva wurden die Korrelationen zwischen einer intraamnialen Infektion, dem Erreger *Mycoplasma hominis* sowie den im Fruchtwasser gemessenen Zytokinen IL-1 β , IL-6, IL-8 und TNF- α in Bezug auf vorzeitige Wehen beschrieben.

Schwangere mit vorzeitigen Wehen, die innerhalb von sieben Tagen zur Niederkunft kamen, waren häufig von einer meist durch *M. hominis* ausgelösten Infektion des Amnions betroffen. Diese Tatsache korrelierte mit hohen IL-1 β - und IL-6-Konzentrationen im Fruchtwasser. [93]

MacIntyre et al. beschreiben den "Nuclear factor kappa B (NF- κ B)" als einen Schlüsselmodulator der immunologischen Signalwege, die sowohl bei vorzeitigen Wehen (< 37.SSW) als auch bei termingerechten Wehen (> 37.SSW) vorkommen. Diese Signalwege regeln die Ausschüttung von Prostaglandinen, Chemokinen und proinflammatorischen Zytokinen. [88]

Der Transkriptionsfaktor NF- κ B wurde 1986 von Sen und Baltimore als ein im Zellkern reifer Lymphozyten vorkommendes Protein beschrieben. Sie fanden heraus, dass dieser Faktor an eine DNA-Sequenz des Transkriptionsverstärkers für die notwendige κ -Kette der Immunglobuline bindet. [138]

Mittlerweile ist bekannt, dass NF- κ B ein aus mehreren Proteinen bestehendes Molekül ist. Es kommt fast in allen Zellen vor und hat bei inflammatorischen und infektiösen Prozessen eine große Bedeutung in der Immunantwort. [81, 88]

Eine aktuelle Studie von Park et al. aus Korea befasste sich mit nicht invasiven Methoden, um eine intrauterine Infektion bei vorzeitigen Wehen voraussagen zu können.

Unter den im zervicovaginalen Sekret gemessenen Interleukinen IL-1 β , IL-6 und IL-8 ist laut der Wissenschaftler IL-6 der beste nicht invasive Marker für eine intrauterine Infektion bei Schwangeren mit vorzeitigen Wehen. [113]

7.8.4. Terminüberschreitung und Übertragung

Eine übliche Schwangerschaftsdauer beträgt 40+0 Wochen bzw. 280 Tage und wird nach dem ersten Tag der letzten Regelblutung berechnet. In deutschsprachigen Ländern wird üblicherweise für den Zeitraum von 40+1 bis 41+6 Schwangerschaftswochen die Bezeichnung Terminüberschreitung verwendet. [5]

Definitionsgemäß ist eine Übertragung erreicht, wenn der errechnete Geburtstermin um mehr als 14 Tage überschritten wird. Bei 95 % der Geburten kommen die Kinder innerhalb eines Zeitraumes von 14 Tagen vor bis 14 Tagen nach dem errechneten Geburtstermin zur Welt. [84]

International gelten die Begriffe “prolonged pregnancy” für den Zeitraum $\geq 41(+0)$ SSW und “post-term pregnancy“ für den Zeitraum $\geq 42(+0)$ SSW. Aktuell liegt die Inzidenz der Übertragung in Europa und den USA etwa zwischen 0,5 % und 10 %. [127,157]

Die genaue Ätiologie der Übertragung im Vergleich zur Frühgeburt ist unzureichend bekannt. Diskutiert werden Faktoren wie Primigravidität, niedriger sozioökonomischer Status, ein Body-Mass-Index (BMI) der Mutter von >35 und das männliche Geschlecht des Ungeborenen.

Eine Schwangerschaftsübertragung ist mit einem erheblichen Risiko für Mutter und Kind verbunden. Laut Berle, Misselwitz und Scharlau steigt bei adipösen Müttern das Risiko eines erhöhten Geburtsgewichts des Kindes mit ≥ 4500 g ab der 42. SSW auf das 6,6 fache im Vergleich zur Termingeburt. [18]

Aufgrund des erhöhten Geburtsgewichts kann es zu einem verlängerten Geburtsverlauf, damit einhergehenden Weichteilverletzungen der Mutter sowie

erschweren Kindsentwicklungen (z.B. Schulterdystokie) oder einer vaginal-operativen Entbindung kommen. [5]

Die ungünstigen Prognosen einer Übertragung schließen eine erhebliche perinatale Mortalität und Morbidität ein. [127]

Bei einer übertragenen Schwangerschaft ist die fristgemäße Einleitung des Geburtsvorgangs gestört. Rath studierte in seiner 1994 publizierten Arbeit intrinsische Faktoren, die eine Geburt auszulösen vermögen. Ein Beispiel eines solchen auslösenden Faktors benennt die zentrale Bedeutung von Prostaglandinen, welche vorrangig im Amnion und in der Dezidua gebildet und freigesetzt werden. Weitere Faktoren können in der veränderten hormonellen Synthese sowohl in fetalen und maternalen Membranen, in latenten Infektionen unter Aktivierung von zytokinfreisetzenden Makrophagen und in einer Immuntoleranz von Seiten der Mutter liegen. Auch der Fetus selbst hat eine große Bedeutung bei der Auslösung der Geburt. Ist die Funktion der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse des Ungeborenen gestört, können die zur Geburt notwendigen Reize ausbleiben. [128]

In der aktuellen Cochrane-Studie aus dem Jahr 2012 von Gülmezoglu, Crowther, Middleton und Heatley wurden 22 Studien an insgesamt 9383 Frauen ausgewertet. Die Wissenschaftler kommen zu dem Schluss, dass die Strategie in der Geburtshilfe, eine Geburt rechtzeitig auszulösen, mit weniger perinatalen Todesfällen und Fieber sowie mit geringeren Fallzahlen an Kaiserschnitten einhergeht. Darüber hinaus wurden unter dieser Methode Erkrankungen wie das Mekonium-Aspirationssyndrom reduziert.

Auch wenn die Anzahl der perinatalen Todesfälle gering ist, ist es als Arzt ratsam, die Schwangeren mit einer drohenden Übertragung rechtzeitig hinsichtlich der medizinischen Möglichkeiten zu beraten. Sie haben die Wahl zwischen einer geplanten Geburtseinleitung oder einer Betreuung unter Beobachtung ohne bzw. mit einer verzögerten Einleitung. [69]

In einigen Studien werden die zum Einsatz kommenden Medikamente bei einer Übertragung diskutiert. In einer prospektiven Studie aus dem Jahr 2012 verglichen die Wissenschaftler Dasgupta und Singh die Wirkung von vaginal aufgetragenem Misoprostol, einem Prostaglandin (PGE_2), mit einer Kombination aus vaginal aufgetragenem Misoprostol und Östradiol zur Geburtseinleitung. Die Ergebnisse

zeigten, dass eine lokal in der Vagina angewandte Kombination aus Misoprostol und Östradiol synergistisch wirkt und somit den Fortgang der Zervixreifung, der Geburtseinleitung und einer vaginalen Geburt deutlich verbessert. [36]

Bei Zustand nach Sectio caesarea oder anderen operativen Eingriffen am Uterus sind weheneinleitende Medikamente wie Oxytocin und Prostaglandine (PGE_1 und PGE_2) kontraindiziert, da das Rupturrisiko des Uterus erheblich steigt. [5]

Vermulich liegen die Ursachen einer Übertragung in einer gestörten Abfolge der aktivierenden inflammatorischen Kaskaden, die zur Einleitung der Geburt führt.

7.8.5. Geminischwangerschaft

Mehrlingsschwangerschaften sind Risikoschwangerschaften mit einem deutlich erhöhten Risiko für Mutter und Kind.

Beim Kind selbst machen sie 10 % der perinatalen Morbidität und Mortalität aus. Die Schwangere ist in einem höheren Maß gefährdet, eine Präeklampsie, eine vorzeitige Ablösung der Plazenta, eine Hypertonie sowie eine postpartale Blutung zu bekommen.

Beim Kind liegt die Mortalitätsrate in Zwillingschwangerschaften zweifach, die postnatale Mortalität um das sechsfache höher als in Schwangerschaften mit nur einem Fötus. Insbesondere monozygote monochoriale Zwillinge haben ein hohes Risiko für Fehlbildungen, z.B. einem fetofetalen Transfusionssyndrom. Insgesamt sind Zwillinge einem höheren Risiko, als Frühchen zur Welt zu kommen, ausgesetzt. [145]

Die Inzidenz der Zwillingsgeburten insgesamt ist aufgrund der Reproduktionsmedizin deutlich angestiegen, allerdings ist die Inzidenz monozygoter Zwillinge bei 0,4 % aller Geburten relativ konstant. [67]

Die Zwillingsrate erhöhte sich in Europa von 1,2% in den sechziger Jahren auf 1,4 % in den Neunziger Jahren. In Deutschland stieg die Zwillingsrate bezogen auf alle Geburten im Jahr 2009 auf 1,7 %. In den USA lag sie im Jahr 2003 bei Frauen unter 30 Jahren bei 0,6 % und bei Frauen gegen Ende Dreißig bei 1,3 %. [50,149]

Ca. 68 % aller Zwillinge sind dizygot, d.h. sie stammen aus zwei verschiedenen befruchteten Eizellen. Ca. 32 % sind monozygot und entwickeln sich aus einer

Eizelle, die sich innerhalb weniger Tage nach der Befruchtung teilt. Erfolgt die Teilung der Eizelle bis zum 3. Tag, so spricht man von dichorial- diamnialen, zwischen vier bis acht Tagen von monochorial-diamnialen, zwischen acht und dreizehn Tagen von monochorial-monoamnialen Gemini. Vollzieht sich die Trennung erst nach dem dreizehnten Tag, so kommt es zu einer Pagusbildung. Dies ist eine Doppelfehlbildung, welche umgangssprachlich als "siamesische Zwillinge" bekannt ist. [145]

Eine im Jahr 1998 erschienene Studie von Wennerholm et al. aus Schweden untersuchte die Zytokine IL-1 α , IL-6 und IL-8 im cervicovaginalen Sekret für ein Frühgeburten-Screening in Zwillingsschwangerschaften.

Von insgesamt 121 Schwangeren mit Zwillingen kam es bei 36 zu einer spontanen Frühgeburt und bei 65 zu einer Termingeburt.

Die Forscher fanden heraus, dass erhöhte IL-8-Werte im cervicovaginalen Sekret mit einer Frühgeburt korrelierten. Allerdings ist die Korrelation zu gering, um eine Aussagekraft in der Prognose von Frühgeburten bei Zwillingen zu haben. Darüber hinaus wurden hohe IL-1 α - und IL-8-Konzentrationen in Verbindung mit einer bakteriellen Vaginose gefunden. [168]

Eine Arbeit der Forschungsgruppe Perni, Kalish, Hutson, Karasahin, Bongivanni, Ratushny, Chasen und Witkin prüfte die unterschiedliche Expression von Biomarkern im Fruchtwasser von Frauen im zweiten Trimenon mit Einlings- und Zwillingsschwangerschaften.

Ihre Ergebnisse zeigten, dass die medianen Konzentrationen von IL-1 β , TNF- α , IL-4, das im Bronchialepithel gebildete Clara-Zellprotein 16 (CC16), das Proteohormon Leptin und das für die Neuvaskularisierung zuständige Protein Angiogenin im Fruchtwasser der Zwillinge erhöht waren. Diese erhöhten Werte der Immunaktivatoren können zu einem erhöhten Risiko eines vorzeitigen Blasensprungs und einer spontanen Frühgeburt bei Zwillingen beitragen. [115]

In der Literatur gibt es kaum Berichte über Zwillingsschwangerschaften mit einer Candidainfektion.

Donders et al. schrieben 1991 über eine Zwillingsschwangerschaft und zwei Einlingsschwangerschaften mit einer durch *Candida albicans* verursachten Amnioninfektion. Die Zwillinge kamen als Frühgeburt zur Welt und überlebten.

Bei den beiden anderen mit *Candida* infizierten Feten kam es in zwei hintereinanderfolgenden Schwangerschaften von ein und derselben Mutter im zweiten Trimenon zu einem Abort. Die Schwangere trug eine intrauterine Spirale.

Da von *Candida albicans* ausgelöste Amnioninfektionen sehr selten vorkommen, gingen die Wissenschaftler der Frage nach, wie es zu einer solch manifesten Infektion durch diesen Hefepilz kommen konnte. Dabei wurden potentielle Auslöser wie z.B. eine intrauterine Spirale und Cerclage-Nähte, die Einnahme von Antibiotika und das zeitgleiche Vorliegen multipler Erreger für ein derart invasives Geschehen diskutiert. [46]

Schwesinger berichtet 1999 von einem Fall in Deutschland, bei dem frühgeborene Zwillinge an einer disseminierten Candidiasis erkrankt waren. Sie litten an einer schweren Pilzinfektion der inneren Organe, insbesondere der Nieren. In den Inselzellen des Pankreas wurden ebenso Erreger gefunden. Ein Zwilling verstarb an den Folgen der Infektion, der andere überlebte. [137]

Obwohl der Anteil zervicovaginaler Candidainfektionen in Schwangerschaften zwischen 20 und 25 % liegt, beträgt die Inzidenz der durch diesen Erreger verursachten aufsteigenden Infektionen lediglich 0,8%. Eine durch *Candida* verursachte Amnionitis ist äußerst selten. Friebe-Hoffmann und Mitarbeiter beschrieben in ihrer im Jahr 2000 veröffentlichten Arbeit einen Fall eines mit *Candida albicans* infizierten Zwillings.

In der 33. SSW kam er unter vorzeitigen Wehen seiner diabeteskranken Mutter als "plötzlicher intrauteriner Fruchttod" zur Welt. Der andere Zwilling war unbeeinträchtigt. In diesem Fall vermuteten die Forscher, dass eine durch *Candida albicans* verursachte Amnionitis mit einem "plötzlichen intrauterinen Fruchttod" (sudden intrauterine fetal demise [IUFD]) vergesellschaftet ist. [57]

Pineda et al. berichten in ihrer im Jahr 2012 publizierten Arbeit von einem Fall, in welchem eine Schwangere mit Zwillingen eine durch *Candida kefyr*

(*C.pseudotropicalis*) ausgelöste Chorioamnionitis entwickelte. Während der Schwangerschaft ernährte sie sich von biologischen Milchprodukten, die *Candida kefyr* enthielten. Die Pilze lösten bei der Mutter im Zusammenhang mit einer Sepsis eine Chorioamnionitis aus. Dies führte zu einer kongenitalen Infektion der beiden Feten.

Sie kamen mit einem akuten respiratorischen Distress-Syndrom (ARDS) zur Welt. Sowohl in der Plazenta, in der Fruchtblase als auch in der Nabelschnur wurden zahlreiche Kolonien von *C. kefyr* nachgewiesen. [119]

Die 2012 veröffentlichte randomisierte Kontroll-Studie von Dodd et al. aus Australien verglich eine Gruppe von 116 Frauen mit einer Zwillingsschwangerschaft, bei welchen in der 37. SSW eine elektive Geburtseinleitung vorgenommen wurde mit einer Gruppe von 119 Frauen mit einer Zwillingsschwangerschaft unter einer normalen termingerechten Entbindung in der 38. SSW. Alle ausgewählten 235 Schwangeren waren in der 36. (+6) SSW und erlebten eine unkomplizierte Schwangerschaft.

Die Gruppe der Frauen, bei welcher die Geburt in der 37. Woche eingeleitet worden war, zeigte eine deutliche Reduzierung der Risiken für mögliche Folgeschäden der Kinder. Das Geburtsgewicht der Zwillinge bei den elektiven Geburten lag unterhalb der 3. Perzentile im Vergleich zu Einzelschwangerschaften. Hingegen war das Geburtsgewicht bei den termingerecht geborenen Zwillingen um 10 % vermindert im Vergleich zu Einzelschwangerschaften.

Diese Ergebnisse stützen die Empfehlung, bei unkomplizierten Verläufen von Zwillingsschwangerschaften in der 37. SSW die Geburt einzuleiten, um somit die Gefahr von Morbidität und Mortalität der Kinder deutlich zu senken. [43]

7.8.6. Geburtswehen

Die Geburtswehen bilden einen Theil der die Frucht austreibenden Muskelthätigkeit der mütterlichen Geburtsorgane. Diese Thätigkeit ist nämlich einerseits eine, während des ganzen Geburtsverlaufs andauernde und fortschreitend zunehmende Spannung des Muskelapparates der Geburtswege, anderseits eine über diese bloße Spannung hinausgehende, aber nur auf Zeitabschnitte beschränkte, und daher nach zwischenlaufenden Ruhezeiten wiederkehrende Contraction der toxischen Muskeln. Hiernach unterscheidet man die permanente mäßige Spannung als Geburtsspannung, und die periodische Verstärkung dieser Spannung bis zur deutlichen, gewöhnlich schmerzhaften Zusammenziehung als Geburtswehe.

Vergleichen läßt sich dieses Verhalten mit der Ausdehnung der Venen, welche eine einfach permanente ist, und mit der Ausdehnung der Arterien, welche ebenfalls ununterbrochen andauert, aber sich periodisch verstärkt, und so eine Erweiterung und Verlängerung des Gefäßrohrs bewirkt, die als Puls erscheint.

Die periodisch verstärkte toxische Muskelthätigkeit, welche sich als Geburtswehe darstellt, kann ohne die andauernde Muskelspannung, aus der sie hervorgeht, nicht begriffen werden. Die Verengerung der Gebärmutter während der Geburt ist der Gegensatz zur Ausdehnung derselben während der Schwangerschaft. Ausdehnung und Verengerung des Fruchthälters sind daher zwei Hauptverrichtungen dieses Organs für das Fortpflanzungsgeschäft, welche sich einander in gehörigem Zeitlaufe folgen müssen, und unter denen ein Zusammenhang als nothwendig vorauszusetzen ist.

Abbildung: 23

Ausschnitt aus der Originalschrift der Inauguralabhandlung „Über den Mechanismus der Geburtswehen“ von Friedrich Jakob Ackermann aus dem Jahr 1850 [1]

„ Die Geburtswehen bilden einen Teil der die Frucht austreibenden Muskeltätigkeit der mütterlichen Geburtsorgane. Diese Tätigkeit ist nämlich einerseits eine, während des ganzen Geburtsverlaufs andauernde und fortschreitende zunehmende Spannung des Muskelapparates der Geburtswege, andererseits eine über diese bloße Spannung hinausgehende, aber nur auf Zeitabschnitte beschränkte, und daher nach zwischenlaufenden

Ruhezeiten wiederkehrende Kontraktion der tokischen Muskeln. Hiernach unterscheidet man die permanente mäßige Spannung als Geburtsspannung, und die periodische Verstärkung dieser Spannung bis zur deutlichen, gewöhnlich schmerzhaften Zusammenziehung als Geburtswehe.“

(Zitat aus: „Über den Mechanismus der Geburtswehen“ von Friedrich Jakob Ackermann von 1850. Inauguralabhandlung der medizinischen Fakultät Gießen zur Erlangung der Doktorwürde. [1])

Geburtswehen (lat.: Labores parturientium) werden als schmerzhaftes, unwillkürliche Kontraktionen der Gebärmutter, durch welche die Frucht und Nachgeburt ausgetrieben werden, bezeichnet. [48]

Die exakten Ursachen der Geburtsauslösung sind derzeit noch nicht vollständig geklärt. Man geht davon aus, dass Regelkreise zwischen Mutter und Kind eine große Rolle spielen.

Gegen Ende der Schwangerschaft wird im Hypothalamus von Mutter und Fetus vermehrt Oxytocin gebildet. Gleichzeitig nehmen die Oxytocinrezeptoren im Uterus der Mutter deutlich zu und sensibilisieren das Myometrium. Damit steigt auch die Konzentration an Kreatinsulfat, ATP, ADP sowie Aktin und Myosin an, die für die Muskelkontraktionen notwendig sind. Die Erregungsbildung und die Signalübertragung in der Uterusmuskulatur entsprechen den Abläufen innerhalb der quergestreiften Muskulatur. Es kommt zu einer tetanischen Kontraktion der Einzelzelle sowie in der Uterusmuskulatur selbst. Einzelne Muskelfasern bzw. Gruppen von Muskelfasern sind in der Lage, eine isolierte Erregungsbildung zu erzeugen.

Die Erregung der Muskelfaser selbst wird über bestimmte maternale und fetale Signalfaktoren über einen humoralen und vegetativen Regelkreis initiiert.

Gegen Ende des letzten Trimenons dienen Dehnungs- und Reifungsprozesse sowohl im Uterus der Mutter als auch im Fetus als Reiz zur Oxytocin- und Prostaglandinsynthese. Im Wesentlichen werden die Wehen durch die Wechselwirkung von Oxytocin, ein im Hypothalamus synthetisiertes und in der Neurohypophyse gespeichertes Proteohormon, und dem Gewebshormon Prostaglandin ausgelöst. Die Prostaglandine PGF₂ α und PGE₂ übernehmen eine wichtige Funktion für den Beginn und Verlauf der Geburtswehen. Aber auch

Östrogen, Progesteron, α -Stimulatoren wie Noradrenalin und mechanische Faktoren, als Beispiel der steigende intraamniotische Druck, wirken wehenauslösend.

Die Oxytocinkonzentration im fetalen Kompartiment nimmt im Laufe der Schwangerschaft zu und steigt zum Geburtstermin bis auf das 50-fache des Basiswertes an. Das vom Fetus ab der 14. SSW in der Neurohypophyse sezernierte Oxytocin trägt entscheidend zur Auslösung der Wehen bei. Aber auch das im Hypothalamus gebildete und sezernierte Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) sowie das in den Nebennieren gebildete Cortisol des Fetus tragen zur Einleitung der Geburt bei. [38,87]

Sind die immunologischen Vorgänge zur Auslösung vorzeitiger Wehen als Folge einer stillen intrauterinen Infektion ähnlich wie bei termingerechten Wehen?

Winkler und Rath beschäftigten sich in ihrer Abhandlung von 1996 mit der Bedeutung der Zytokine bezüglich der Auslösung von Wehen, Zervixreifung und Blasensprung.

Bei Vorliegen einer intrauterinen Infektion aktivieren Bestandteile von Bakterien und anderen Erregern Makrophagen, die in der Dezidua, in der Plazenta und in der Fruchtblase ansässig sind. Und genau diese gewebsständigen Zellen setzen, nachdem sie durch die Antigene aktiviert worden sind, eine Reihe von proinflammatorischen Zytokinen wie z.B. IL-1 α , IL-1 β und TNF- α frei. Gleichzeitig wurden auch antiinflammatorische Zytokine, beispielsweise IL-4 und IL-10, die vorwiegend von TH2-Zellen stammen, im intrauterinen Gewebe nachgewiesen.

Ein Großteil jener im intrauterinen Gewebe und im Fruchtwasser nachgewiesenen Zytokine ist in der Lage, die Prostaglandinsynthese im Amnion, dem Chorion und der Dezidua zu stimulieren. Wie bereits erwähnt, sind diese Gewebshormone neben dem Oxytocin nachweislich ausschlaggebend für die Auslösung von Wehen.

Die Signale werden über Rezeptoren der Zielzellen (z.B. IL1-R1), welche vorwiegend durch Interleukin-Rezeptorantagonisten (z.B. IL-1Ra) geregelt werden, weitergeleitet. Bei Frauen in einer normal verlaufenden Schwangerschaft wurden hohe Konzentrationen spezifischer IL-1Ra im Fruchtwasser nachgewiesen.

Das komplexe Zytokinnetzwerk befindet sich in einer sensiblen Balance zwischen proinflammatorisch und antiinflammatorisch wirkenden Eigenschaften, was als günstige Voraussetzung für einen "risikoarmen" Schwangerschaftsverlauf angesehen werden kann.

Kommt es nun zu einer systemischen oder lokalen Infektion oder zu einem Gewebeschaden, so wird die Kaskade der Prostaglandinsynthese über eine vermehrte Zytokinausschüttung in Gang gesetzt, um den Schaden für die Schwangerschaft möglichst gering zu halten.

Es ist anzunehmen, dass Zytokine auch an der Zervixreifung beteiligt sind. Die Reifung geht mit Veränderungen der mechanischen Eigenschaften einher. Das bedeutet, es wird weniger Kollagen zur Verfügung gestellt, und somit verändern sich die Eigenschaften der Glykosaminoglykane innerhalb der extrazellulären Matrix der Zervix.

An dieser Stelle kommt die Funktion der Zytokine ins Spiel. IL-1 beispielsweise ist in der Lage, die Kollagensynthese zu stimulieren. Das Chemokin IL-8 reguliert die Invasion von neutrophilen Granulozyten in das Gewebe der Zervix und setzt spezifische Proteasen frei.

Die durch Zytokine angeregte vermehrte Produktion an Kollagenasen in der Fruchtblase ist verantwortlich für eine verminderte Zugfestigkeit und kann mit einem vorzeitigen Blasensprung verbunden sein.

Das Zytokinnetzwerk ist ein hochkomplexes und äußerst sensibles System. Als Immunmediatoren haben sie die Aufgabe, Signale zwischen der angeborenen und erworbenen Immunantwort auf schnellstem Weg weiterzuleiten. Sowohl exogene (z.B. eine bakterielle Infektion) als auch endogene (z.B. Dehnung und Wachstum des Fetus) Faktoren können als Auslöser einer immunologischen Kettenreaktion angesehen werden, die in der Folge zu einer Einleitung der Geburt führen kann.

Das bedeutet, das körpereigene Immunsystem erkennt in beiden Fällen die Situation als „Störung“ an und reagiert mit einer gezielten Abfolge von Kaskaden, die im Falle einer Schwangerschaft zu Wehen, Zervixreifung und einem Blasensprung führt. [170]

Steinborn et al. untersuchten die Annahme, dass die Aktivierung des fetalen Immunsystems bezüglich der Einleitung der Wehen eine bedeutende Rolle einnimmt. Dazu untersuchten sie bestimmte Muster der Zytokinproduktion verschiedener im Nabelschnurblut vorkommender Zellen von Neugeborenen. Die Neugeborenen wurden in vier Gruppen eingeteilt: nach spontaner termingerechter vaginaler Entbindung, nach vaginaler Entbindung unter Wehen induzierenden Maßnahmen, nach Frühgeburt und nach elektiver Kaiserschnittentbindung.

Ihre Ergebnisse zeigten bei spontanen Geburtswehen hohe Konzentrationen an IL-6 im Nabelschnurblut. IL-6 wurde aus den vom Knochenmark stammenden Monozyten

sezerniert. Bei vaginalen Geburten nach induzierten Wehen und bei Frühgeburten hingegen waren die IL-6-Konzentrationen nicht erhöht. Die Ergebnisse der Wissenschaftler deuten darauf hin, dass eine erhöhte Freisetzung von IL-6 aus fetalen Monozyten mit einem Mechanismus verknüpft ist, der normale Geburtswehen, jedoch keine vorzeitigen Wehen, begünstigt. Darüber hinaus stellten sie fest, dass die Mechanismen bei induzierten Wehen und bei vorzeitigen Wehen völlig unterschiedlich sind. [148]

In der im Jahr 1999 publizierte Studie untersuchten die japanischen Forscher Ishihara et al. Mediatoren aus der Gruppe der IL-1-Familie im Fruchtwasser von Frauen mit einem normalen Schwangerschaftsverlauf ohne das Vorliegen einer intrauterinen Infektion mithilfe einer neuartigen Methode zur Verbesserung der ELISA-Messungen.

Die Messungen ergaben, dass die Konzentrationen von Interleukin-1 α , Interleukin-1 β und dem Rezeptorantagonisten Interleukin-1ra im Fruchtwasser der Schwangeren mit einer vaginalen Geburt unter normalen Umständen signifikant erhöht waren.

Die Konzentrationen von Interleukin-1 α waren bei Schwangeren mit vorzeitigen Wehen ohne Vorliegen einer intrauterinen Infektion ebenfalls erhöht. Gleichzeitig ergaben die Messungen der Urinproben der Neugeborenen höhere IL-1Ra-Werte bei Frühgeborenen als bei termingerecht geborenen Kindern.

Die Studie liefert wissenschaftliche Erkenntnisse im Hinblick auf mögliche Zusammenhänge zwischen den zur IL-1-Familie gehörenden Mediatoren bei Schwangeren mit Wehen ohne Vorhandensein intrauteriner Infektionen. Die Messungen im Urin der Neugeborenen deuten darauf hin, dass das antiinflammatorische IL-1Ra im Fruchtwasser vom Fetus selbst generiert wird. Es ist davon auszugehen, dass die im Fruchtwasser gemessenen proinflammatorischen Zytokine Interleukin-1 α und Interleukin-1 β hingegen eher vom mütterlichen Gewebe stammen. [80]

Der Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist war ebenfalls ein Thema der im Jahr 2008 veröffentlichten Arbeit von Heng et al. aus Australien. Sie erkundeten bei Schwangeren die IL-1Ra-Konzentrationen im zervikovaginalen Sekret gegen Ende des dritten Trimenons und bei Wehenbeginn.

Die Forscher erhielten erniedrigte Werte von IL-1Ra bei Frauen mit spontanen Wehen um den Geburtstermin im Vergleich zur Gruppe von Frauen 15-21 Tage bzw. 22-28 Tage vor der Geburt. Die Schwangeren mit einem vorzeitigen Blasensprung

am Geburtstermin hatten 6-fach niedrigere IL-1Ra-Werte als Schwangere mit spontanen Wehen und einer intakten Fruchtblase bereits 8-14 sowie 15-21 Tage vor der Geburt.

Die Forscher sahen die niedrigen IL-1Ra-Konzentrationen im zervicovaginalen Sekret als mögliche Voraussetzung für einen Umbau der Bindegewebsstrukturen der Fruchtblase an, was zu einem Einreißen derselben führt. [70]

Imai et al. erforschten die Bedeutung von fetalem Fibronectin (fFN) und Zytokinen im zervicovaginalen Sekret bei 122 Frauen gegen Ende des dritten Trimenons, um termingerechte Wehen und eine Schwangerschaftsübertragung prognostizieren zu können.

Die fFN-Konzentrationen im zervicovaginalen Sekret waren drei Wochen vor der Geburt erhöht. Das ebenso im zervicovaginalen Sekret gemessene Interleukin-1 β war drei bis vier Wochen vor der Entbindung angestiegen.

Laut der Wissenschaftler können termingerechte Wehen (37.SSW-40.SSW) und Schwangerschaftsübertragungen innerhalb von sieben Tagen nach Probeentnahme und Messung der fFN- und Interleukin-1 β -Werten aus dem zervicovaginalen Sekret vorausgesagt werden. [79]

Weitere Studien der komplexen wehenauslösenden Mechanismen in der Schwangerschaft könnten das Verständnis auch in Bezug auf durch Störfaktoren ausgelöste vorzeitige Wehen sowie einem vorzeitigen Blasensprung mit der möglichen Folge einer Frühgeburt vertiefen.

Im Hinblick auf das steigende Lebensalter werdender Mütter und eine Zunahme reproduktionsmedizinischer Eingriffe wird der Einsatz verlässlicher Prädiktoren für eine Frühgeburt bei einer Risikoschwangerschaft in Zukunft eine erhebliche Rolle spielen.

7.9. Prävention der vulvovaginalen Candidose

Neben dem Augenmerk auf eine sachgerechte Befunderhebung einer vulvovaginalen Candidose bei nichtschwangeren und schwangeren Frauen und einer gezielten antimykotischen Therapie sollte das Bewusstsein für präventive Maßnahmen von Ärzten und Patientinnen geschult werden. Ferner ist eine voreilige Gabe eines Breitspektrumantibiotikums bei harmlosen lokalen Infekten kritisch zu hinterfragen. Ein Verzicht auf antibiotische Maßnahmen kann in vielen Fällen das immunologische Gleichgewicht im Vaginalepithel der Frau bewahren und somit eine übermäßige Kolonisation von *Candida* spp. verhindern. Dies sind gute Voraussetzungen, um Infektionen erst gar nicht entstehen zu lassen. [28,86]

Auch die Patientin selbst kann einen Beitrag dazu leisten, falls sie anfällig für vulvovaginale Candidosen ist. Mit dem Verzicht auf den natürlichen Vaginal-pH-Wert verändernde Intimpflegeprodukte, kunststoffbeschichtete Slipeinlagen, den permanenten Gebrauch von Tampons (sie haben die Eigenschaft, die Vaginalhaut auszutrocknen, was wiederum zu feinsten Rhagaden und somit zu einer Angriffsfläche für eine potentielle Pilzinvasion führen kann) und das Tragen hautenger Jeans kann *Candida albicans* und deren Subspezies bereits Einhalt geboten werden. [7,86]

Mehrere Studien belegen, dass eine antimykotische Behandlung nicht auf einer Selbstdiagnose der Patientin gründen soll. [74,14,54,155]

Erst nach einer gründlichen gynäkologischen Untersuchung mit einem Vaginalabstrich für die Mikroskopie und einer möglichen Pilzkultur (bei Schwangeren und bei rezidivierenden Vulvovaginalcandidosen) sollte eine Diagnose erhoben werden und eine therapeutische Maßnahme entsprechend den Leitlinien erfolgen. Dies verhindert unnötige Resistenzen unter den *Candida*spezies und verringert das Risiko einer aufsteigenden Infektion bei Schwangeren. [7,100,101,86]

8. Zusammenfassung

Die Vulvovaginalcandidose ist die zweithäufigste Genitalinfektion bei Frauen im gebärfähigen Alter. In der Gynäkologie und insbesondere in der Geburtshilfe nimmt sie hinsichtlich einer vermehrten Resistenzbildung bei *Candida albicans* und *Candida* spp. an Bedeutung zu. Eine fachgerechte medizinische Betreuung ist im Hinblick auf eine ausführliche Anamnese, eine angemessene körperliche Untersuchung, eine solide Befunderhebung sowie eine für die Patientin geeignete leitliniengerechte Therapie unerlässlich.

Wir untersuchten das Vaginalsekret von 74 nichtschwangeren Patientinnen und 52 schwangeren Patientinnen mit einer VVC hinsichtlich proinflammatorischer Zytokine, pH-Wert, Reinheitsgrad und Fluorfarbe des Vaginalsekretes. Zudem wurden die Gruppen hinsichtlich der Altersverteilung miteinander verglichen.

Darüber hinaus wurde ein Teil der Schwangeren in sechs Risikogruppen unterteilt (Zervixinsuffizienz, vorzeitiger Blasensprung, vorzeitige Wehen, Terminüberschreitung, Geminischwangerschaft und Geburtswehen) und im Hinblick auf das Verhalten der Zytokine im Vaginalsekret und die Höhe des Entzündungswertes im Serum (CRP) zum Vergleich herangezogen.

Die nichtschwangeren Frauen wurden je nach Erregernachweis in die Untergruppen *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* sowie in die Untergruppe der Mischinfektion mit *Candida albicans* und *Candida glabrata* eingeteilt. Auch diese Gruppen wurden hinsichtlich der Zytokinexpression im Vaginalsekret miteinander verglichen.

Die Interleukin-Werte IL-1 α , IL-1 β und IL-12 bei den Nichtschwangeren sind signifikant höher als bei den Schwangeren. Bei TNF- α hingegen liegt kein signifikanter Unterschied vor.

Der Scheiden-pH-Wert liegt bei den Schwangeren mit durchschnittlich 5,9 deutlich höher als bei den nichtschwangeren Frauen mit einem pH-Wert von 4,2.

Bei den Schwangeren beträgt der Reinheitsgrad nach Weissenbacher und Richter [164] II-III und ist demnach deutlich schlechter als bei den nichtschwangeren Frauen mit einem RHG von I-II.

Die Fluorfarbe ist in beiden Gruppen mehrheitlich weiß. Bei den Nichtschwangeren ist sie annähernd so häufig grün wie bei den Schwangeren braun. Die Anzahl der Patientinnen mit gelbem Fluor ist in beiden Gruppen nahezu identisch.

Das Durchschnittsalter bei den Nichtschwangeren ist mit 34,5 Jahren im Vergleich zu den Schwangeren mit 29 Jahren deutlich höher.

Unter allen Risikoschwangerschaften wurde die höchste signifikante Zytokinexpression bei der Gruppe von Schwangeren während der Geburtswehen bei IL-1 α gemessen. Der Mittelwert von IL-1 α innerhalb der Gruppe beträgt 3647,6 pg/ml.

Das arithmetische Mittel der CRP-Werte im Serum aller Schwangeren liegt bei 1,44 mg/dl und befindet sich somit noch im Bereich des Normwertes (Referenzwerte: CRP < 0,5-1 mg/dl). Innerhalb der Risikogruppen zeigten Schwangere mit vorzeitigen Wehen mit einem CRP-Wert von 3,1 mg/dl die höchsten Entzündungswerte.

Von insgesamt 74 nichtschwangeren Patientinnen mit einer positiven Pilzkultur konnten bei 51 ausschließlich *Candida albicans*, bei 4 sowohl *Candida albicans* als auch *Candida glabrata*, bei 15 ausschließlich *Candida glabrata* und bei 4 ausschließlich *Candida krusei* über eine Anzüchtung auf Chromagar nachgewiesen werden.

Die höchsten Werte bei Patientinnen mit einem positiven Nachweis von *Candida krusei* wurden sowohl bei IL-1 α mit 1272,6 pg/ml und IL-1 β mit 163,6 pg/ml gemessen.

Unsere Ergebnisse bei den Schwangeren mit einer signifikant verminderten Zytokinexpression von IL-1 α , IL-1 β und IL-12 im Vergleich zur Gruppe der Nichtschwangeren unterstützt die These, dass der Faktor Schwangerschaft einen erheblichen Einfluss auf die Intensität der Immunantwort hat.

Bei lokalen Infektionen in der Schwangerschaft scheinen komplexe immunologische Prozesse einzusetzen, die zum Schutz des mütterlichen Organismus und des ungeborenen Kindes ein Überschießen der Immunreaktion verhindern.

Die Tatsache, dass das arithmetische Mittel des Entzündungswertes CRP im Blut der Schwangeren im Durchschnitt bei 1,44 mg/dl liegt, bekräftigt diese Annahme. Eine

signifikante CRP-Erhöhung hingegen spräche für ein überschießendes Infektionsgeschehen. Dies kann in unseren Untersuchungen deutlich ausgeschlossen werden.

Des Weiteren könnte die Messung signifikant erhöhter Werte von IL-1 α bei den Schwangeren während der Geburtswehen auf einen möglichen naturgemäßen Prozess aktivierender inflammatorischer Kaskaden im Organismus der Mutter zur Auslösung der Geburt hindeuten. [88]

Für weitere Untersuchungen sollten ebenfalls die Konzentrationen an IL1-Rezeptoren und IL1-Rezeptorantagonisten gemessen werden, um deren Einfluss sowie deren Wechselwirkung auf die IL-1-Expression bei lokalen Infektionen wie die vaginale Candidose hinreichender beurteilen zu können.

9. Tabellen

Tabelle 1: Systematik von *Candida albicans*

[Quelle: C.P. Robin Berkhout, 1923]

Tabelle 2: Funktionen der spezifischen Mediatoren in der lokalen Immunantwort

[Quelle: Schema modifiziert aus: Janeway's Immunobiology, von Kenneth P. Murphy, 8. Auflage 2012, S.101 [103]]

Tabelle 3: Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für IL-1 α

Tabelle 4: Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für IL-1 β

Tabelle 5: Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für IL-12

Tabelle 6: Standardkonzentration und OD (Optische Dichte) für TNF- α

Tabelle 7: Mediane und Standardabweichungen der IL-1 α -Konzentration

Tabelle 8: Mediane und Standardabweichungen der IL-1 β -Konzentration

Tabelle 9: Mediane und Standardabweichungen der IL-12-Konzentration

Tabelle 10: Arithmetisches Mittel und Standardabweichung der TNF- α -Konzentration

Tabelle 11: Arithmetisches Mittel und Standardabweichung des pH-Wertes

Tabelle 12: Arithmetisches Mittel und Standardabweichung des Reinheitsgrades

Tabelle 13: Farbe des Vaginalsekretes im Vergleich nach Anzahl der Patientinnen (n)

Tabelle 14: Farbe des Vaginalsekretes im Vergleich nach Häufigkeit in Prozent

Tabelle 15: Arithmetisches Mittel und Standardabweichung der Altersverteilung

Tabelle 16: Einteilung der einzelnen Candidaspezies in Anzahl und Prozent

Tabelle 17: Kenngrößen der Zytokine aus der Patientinnen-Gruppe mit *C.albicans*

Tabelle 18: Kenngrößen der Zytokine aus der Patientinnen-Gruppe mit *C.albicans* und *C. glabrata*

Tabelle 19: Kenngrößen der Zytokine aus der Patientinnengruppe mit *C.glabrata*

Tabelle 20: Kenngrößen der Zytokine aus der Patientinnengruppe mit *C.krusei*

Tabelle 21: Arithmetisches Mittel und Standardabweichung des CRP-Wertes

Tabelle 22: Korrelationskoeffizienten (r) zwischen Zytokinen und CRP

Tabelle 23: Vergleich der Mittelwerte der Zytokine als diagnostische Marker in sechs Gruppen mit spezifischer Risikoschwangerschaft

Tabelle 24: Vergleich weiterer diagnostischer Marker in sechs Gruppen mit spezifischer Risikoschwangerschaft

10. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: OUROBOROS

[Quelle: Eleazaris, R. Abrahami. Uraltes Chymisches Werk. Kessinger Legacy Reprints, 1760.

(<http://www.amazon.de/Abrahami-Eleazaris-Uraltes-Chymisches-Werk/dp/1166369390>)

Sekundärquelle Karl Scherf (1965), S.176.

Abbildung 2: Schematische Darstellung des Vaginalepithels

[Quelle: Medizinische Hochschule Hannover

(<http://www.mh-hannover.de/19199.html>)]

Abbildung 3: Drüsenfreies, unverhorntes, mehrschichtiges Plattenepithel der Vagina

[Quelle: Uni Freiburg (<http://portal.uni-freiburg.de/zfn/histo/daten/thema19/64b/10.jpg>)]

Abbildung 4: Vaginalepithel (HE-Färbung)

[Quelle: Medizinische Hochschule Hannover

(<http://www.mh-hannover.de/19199.html>)]

Abbildung 5: Mikroskopische Aufnahme von Candida albicans

[Quelle: Sammlung Mikroskopischer Aufnahmen, Professor Mendling, Hannover]

Abbildung 6: Strukturmolekül von IL-1

[Quelle : Zylka-Menhorn, V. Zytokinforschung:

Interleukin 1 ist im Visier. MEDIZINREPORT.Dtsch Arztebl 2013; 110(16): A-775 / B-675 / C-675]

Abbildung 7: Pathogenese einer Candidavaginitis

[Quelle: Cassone A, de Bernardis F, Santoni G. "Anticandidal Immunity and Vaginitis": Novel Opportunities for Immune Intervention, Minireview, Infection and Immunity, Oct. 2007; p. 4675–4686. [29]]

- Abbildung 8:** Kompartimente intrauteriner Infektionen in der Schwangerschaft
- Abbildung 9:** Standardkurve für IL-1 α
- Abbildung 10:** Standardkurve für IL-1 β
- Abbildung 11:** Standardkurve für IL-12
- Abbildung 12:** Standardkurve für TNF- α
- Abbildung 13:** Mediane von IL-1 α bei Nichtschwangeren und Schwangeren
- Abbildung 14:** Mediane von IL-1 β bei Nichtschwangeren und Schwangeren
- Abbildung 15:** Mediane von IL-12 bei Nichtschwangeren und Schwangeren
- Abbildung 16:** Mittelwerte von TNF- α bei Nichtschwangeren und Schwangeren
- Abbildung 17:** Graphische Darstellung des pH-Wertes im Vaginalsekret
- Abbildung 18:** Graphische Darstellung des Reinheitsgrades im Vaginalsekret
- Abbildung 19:** Farbe des Vaginalsekretes bei Nichtschwangeren und Schwangeren in prozentualen Anteilen
- Abbildung 20:** Graphische Darstellung der Altersverteilung in beiden Gruppen
- Abbildung 21:** Vorkommen der Candidaspezies bei den nichtschwangeren Patientinnen in Prozent
- Abbildung 22:** Zytokinwerte in den Risikogruppen im Vergleich
- Abbildung 23:** Ausschnitt aus der Originalschrift der Inauguralabhandlung „Über den Mechanismus der Geburtswehen“ von Friedrich Jakob Ackermann aus dem Jahr 1850 [1]

11. Abkürzungen

α	Alpha
ADP	Adenin-Diphosphat
AFI	Amnion Fluid Index
AFP	Alpha-Fetoprotein
APCs	Antigen-Presenting Cells
Aqua a.i.	Aqua ad injectabilia
ARDS	Akutes-Respiratorisches-Distress-Syndrom
ATP	Adenin-Triphosphat
β	Beta
B-Zellen	Bone-Marrow-Cells
BMI	Body Mass Index
BV	bakterielle Vaginose
C.	Candida (z.B. Candida albicans)
Candida spp.	Candidaspezies (Candidaarten)
CC16	Clara-Zellprotein 16
CCL-22	Chemokin der Gruppe CCL
CD4	cluster of differentiation 4
CD4-T	cluster of differentiation 4-T-Cell
CD8	cluster of differentiation 8
CD14	cluster of differentiation 14
CI	Cervical Insufficiency (Zervixinsuffizienz)
CRH	Corticotropin-Releasing Hormon
CRP	C-reaktives Protein
CRVVC	Chronisch rezidivierende vulvovaginale Candidose
CTL Maturation Faktor	Cytotoxic Lymphocyte Maturation Factor
CXCL-8	Chemokin der Gruppe CXCL: ehemals als IL-8 bezeichnet
E. coli	Escherichia coli
ELISA	Enzyme-linked-immuno-sorbent-assay
et al.	Lateinisch: et alii (maskulinum), et aliae (femininum) Deutsch: und andere
fFN	Fetales Fibronectin

GM-CSF	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor; Wachstumsfaktor aus der Reihe der Zytokine
gro-α	Growth-regulated Oncogene α entspricht CXCL-1, Chemokin der Klasse CXCL
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
h-IL	Humanes Interleukin
H-Test	Hypothesen-Test; Abkürzung für Kruskal-Wallis-Test
IgG	Immunglobulin G
IUFD	sudden intrauterine fetal demise
HRP	Horseradish-Peroxidase
HRT	Hormonersatztherapie
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cells Humane Endothelzellen aus der Umbilicalvene (Nabelschnurvene)
IFN-γ	Interferon-Gamma, Protein aus der Reihe der Zytokine
IL	Interleukin
IL-1α	Interleukin-1-alpha
IL-1β	Interleukin-1-beta
IL1-R1	Interleukin-1-Rezeptor 1
IL1-R2	Interleukin-1-Rezeptor 2
IL1-Ra	Interleukin-1-Rezeptorantagonist
IL-4	Interleukin 4
IL-6	Interleukin 6
IL-6-mRNA	Messenger-Ribonucleinsäure des Interleukin 6
IL-8	veraltet: Interleukin 8 aktuell: CXCL-8 (Chemokin)
IL-10	Interleukin-10
IL-12	Interleukin-12
IL-15	Interleukin-15
IL-17	Interleukin-17
IL-18	Interleukin-18
IL-37	Interleukin-37
IP-10	Interferon γ -induzierendes Protein (Chemokin: CXCL-10)

IUFD	intrauterine fetal death
kDA	Kilodalton (Maßeinheit)
LIF	Leukämie inhibierender Faktor
MAPK	Mitogen activated protein kinase
MIF	Macrophage migration inhibitory (Zytokin)
MIP 1α	Macrophage inflammatory protein-1 α entspricht CCL-3, C-C motif ligand 3, Chemokin der Klasse CCL
MIP1β	Macrophage inflammatory protein-1 β entspricht CCL-4, C-C motif ligand 4, Chemokin der Klasse CCL
MMP	Matrix-Metalloproteinase
MMP-8	Matrix-Metalloproteinase-8
MMP-9	Matrix-Metalloproteinase-9
N	Number (Anzahl)
NFI	Normal Fluid Index
NF-κB	Nuclear factor kappa B
OD	Optical density; Optische Dichte
PBS	Phosphate-Buffered-Saline
pg/ml	Pikogramm pro Milliliter
PID	Pelvic inflammatory disease
pPROM	Preterm Premature of the membranes
PROM	Premature of the membranes (=VBS)
proIL1β	Vorläuferprotein von IL-1 β (inaktiv)
RHG	Reinheitsgrad
SD	Standard Deviation
SSW	Schwangerschaftswoche
TACE	TNF- α -Converting-Enzym
TEA-Rim101p	Transkriptionsfaktor Rim101p
TMB	Tetramethylbenzidin (stabilisiertes Chromogen)
TNF-α	Tumornekrosefaktor-alpha
VBS	Vorzeitiger Blasensprung
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factors
VVC	Vulvovaginalcandidose

12. Glossar

Abstrich: (Vaginalabstrich)	Entnahme von Untersuchungsmaterial von Schleimhäuten, Wunden oder anderen Oberflächen des Körpers mit dem Ziel der mikrobiologischen, zytologischen und/oder mikroskopischen Untersuchung.
AL-SENSE-Strip-Test:	Selbsttest zur Ermittlung eines VBS in Form einer Slipeinlage mithilfe einer Farbreaktion
Amniotic fluid index (AFI):	Der Amniotic fluid index (AFI), zu Deutsch Fruchtwasserindex, bezeichnet eine semiquantitative sonographische Meßmethode zur Bestimmung der Fruchtwassermenge.
autokrin: (gr. autos: selbst; gr. krinein: wirken auf)	Bildung von Hormonen und hormonähnlichen Substanzen, die auf die produzierende Zelle selbst zurückwirken
Candidose:	Sammelbezeichnung für eine lokale Infektion durch Hefepilze der Gattung Candida
ELISA: (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay)	Antikörperbasiertes Nachweisverfahren mithilfe einer Farbreaktion
endokrin: (gr. endo: innerhalb)	Bildung von Hormonen und hormonähnlichen Substanzen, die über die Blutbahn abgegeben werden, z.B. Hypothalamus, Schilddrüse, Pankreas
Histone:	Im Zellkern vorkommende basische Proteine als Bestandteil des Chromatins
Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC):	Humane Endothelzellen aus der Umbilicalvene (Nabelschnur)
Infektion:	<ol style="list-style-type: none">1. Eindringen des Erregers ins Gewebe2. Vermehrung des Erregers im Gewebe3. Reaktion des Wirts auf das Geschehen

Koinfektion:	Eine Koinfektion ist die gleichzeitige Infektion einer Zelle bzw. eines Organismus mit zwei unterschiedlichen Krankheitserregern oder zwei unterschiedlichen Stämmen desselben Erregers.
MAPK: (mitogen activated protein kinase)	Ein von Candida albicans produziertes Enzym.
Minimum Inhibitory Concentration (MIC): zu Deutsch: Minimale Hemmkonzentration (MHK)	Niedrigste Konzentration einer Substanz, bei der die Vermehrung von Bakterien mit bloßem Auge nicht wahrgenommen werden kann. z.B. MHK50 von Penicillin
Mischinfektion:	Als Mischinfektion bezeichnet man die gleichzeitige Infektion mit zwei oder mehreren pathogenen Mikroorganismen
parakrin: (gr. para: neben)	Bildung von Hormonen und hormonähnlichen Substanzen, die auf die unmittelbar umgebenden Zellen wirken
Präeklampsie:	Schwangerschaftshypertonie mit den Leitsymptomen Hypertonie und Proteinurie
Reinheitsgrad: (RHG)	Qualitative Beschaffenheit des Vaginalsekretes entsprechend RHG 0-III
Schwangerschaftsübertragung:	Dauer/Schwangerschaft: ≥ 42 . SSW
Soor: (altdeutsch: "sohren", wundmachen)	Infektion an Haut- und Schleimhäuten durch Hefepilze der Gattung Candida; gebräuchlich als "Mundsoor" bei Säuglingen
Terminüberschreitung:	Dauer/Schwangerschaft: Zeitraum von 40. SSW +1 bis 41. SSW +6
Transkriptionsfaktor: z.B. Rim101p	Der Transkriptionsfaktor Rim101p ist für die Regulation der Gene PHR1 und PHR2 zuständig. Diese Gene kodieren essentielle Zellwandproteine für das Wachstum von C. albicans in neutralem sowie saurem Milieu.
Virulenz:	Ausmaß der pathogenen Eigenschaften im Vergleich zu anderen Stämmen der gleichen Spezies.

Vulvovaginalcandidose (VVC):
(Synonyme: vulvovaginale
Candidamykose, Candidavaginitis)

Bezeichnung für eine vulvovaginale
Infektion durch Hefepilze der Gattung
Candida

Zervixektomie:

Hauchfeines, jedoch unpathologisches
Zylinderepithel auf der Portio uteri (in die
Vagina hineinreichender Teil der
Gebärmutter)

Zervixinsuffizienz (CI) :

Unter einer CI versteht man eine
schmerzfreie Verkürzung
des Gebärmutterhalses (lat.:cervix uteri)
im mittleren Trimenon ohne vorzeitige
Wehentätigkeit.

Zytokine:
(gr. Zyt-: Zelle und kinein: bewegen)

Niedermolekulare Proteine
(Peptidmediatoren), die von Zellen wie
z.B. Monozyten, Dendritischen Zellen
gebildet werden und sowohl autokrine,
endokrine als auch parakrine Wirkungen
zeigen.

13. Literaturverzeichnis

1. Ackermann, JF. Über den Mechanismus der Geburtswehen. Inauguralabhandlung der medizinischen Fakultät Gießen zur Erlangung der Doktorwürde. Druckverlag Wilhelm Keller 1850. S.3.
2. Agrawal V, Hirsch E. Intrauterine infection and preterm labor. Semin. Fetal Neonatal Med. USA 2012 Feb; 17(1):12-9.
3. Athayde N, Wang J, Wang X, Trudinger B. Fetuses delivered following preterm prelabor rupture of the membranes are capable of stimulating a proinflammatory response in endothelial cells. J Soc Gynecol Investig. Australia 2005 Feb; 12(2):118-22.
4. Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, Dinarello CA. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. Proc Natl Acad Sci USA. 1984 Dec; 81(24):7907-11.
5. AWMF-Leitlinie » Vorgehen bei Terminüberschreitung und Übertragung«. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), Arbeitsgemeinschaft Maternofetale Medizin (AGMFM). S.1-12. Stand Februar 2010.
6. AWMF-Leitlinie »bakterielle Vaginose in Gynäkologie und Geburtshilfe«. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), Arbeitsgemeinschaft Infektiologie und Infektionsimmunologie in der Gynäkologie und Geburtshilfe (AGII); S.1-6. Stand Juni 2008.
7. AWMF-Leitlinie »Die Vulvovaginalkandidose«. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), Arbeitsgemeinschaft für Infektionen und Infektionsimmunologie in der Gynäkologie und Geburtshilfe (AGII), Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG), Deutschsprachige Mykologische Gesellschaft (DMyKG); S.1-23. Stand August 2010.
8. AWMF-Leitlinien, »Empfehlungen zum Vorgehen beim Vorzeitigen Blasensprung
» Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), S.1-5; Stand Juni 2006.
9. Baltzer J, Friese K, Graf M, Wolff F. Praxis der Gynäkologie und Geburtshilfe. Das komplette Praxiswissen in einem Band. 1. Auflage 2004. Georg Thieme Verlag KG. S.204-206.
10. Barousse MM, Van Der Pol BJ, Fortenberry D, Orr D, Fidel PL Jr. Vaginal yeast colonisation, prevalence of vaginitis, and associated local immunity in adolescents. Sex Transm Infect. 2004 Feb; 80(1):48-53.
11. Baxter JK, Berghella V, Rafael T, Baylson A, Moroz L. Discussion: 'the interleukin-10 gene and cervical insufficiency' by Warren et al. Am J Obstet Gynecol. 2009 Oct; 201(4):e1-4.

12. Becher N, Hein M, Danielsen CC, Uldbjerg N.
Matrix metalloproteinases in the cervical mucus plug in relation to gestational age, plug compartment, and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol*. 2010 Sep 24; 8:113.
13. Beigi RH, Yudin MH, Cosentino L, Meyn LA, Hillier SL. Cytokines, pregnancy, and bacterial vaginosis: comparison of levels of cervical cytokines in pregnant and nonpregnant women with bacterial vaginosis.
J Infect Dis. 2007 Nov 1; 196(9):1355-60.
14. Beigi RH, Meyn LA, Moore DM, Krohn MA, Hillier SL. Vaginal yeast colonization in nonpregnant women: a longitudinal study. *Obstet Gynecol*. 2004 Nov; 104(5 Pt 1):926-30.
15. Beller FK. Behandlung von vorzeitigen Wehen. Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologist. ACOG PRACTICE BULLETIN NR. 43, USA MAI 2003. 2003, FRAUENARZT 44 Nr. 11; S.1200-1205.
16. Berg, HC. E.coli in Motion. Biological and medical physics. Biomedical engineering. Springer-Verlag New York. 2004. S.105-108.
17. Bergman JJ, Berg AO. How useful are symptoms in the diagnosis of Candida vaginitis? *J Fam Pract*. 1983 Mar; 16(3):509-11.
18. Berle P, Misselwitz B, Scharlau J. Maternal risks for newborn macrosomia, incidence of a shoulder dystocia and of damages of the plexus brachialis. *Z Geburtshilfe Neonatol*. 2003 Jul-Aug;207(4):148-52.
19. Black RA, Kronheim SR, Cantrell M, Deeley MC, March CJ, Prickett KS, Wignall J, Conlon PJ, Cosman D, Hopp TP, et al. Generation of biologically active interleukin-1 beta by proteolytic cleavage of the inactive precursor. *J Biol Chem*. 1988 Jul 5;263(19):9437-42.
20. Blaschke-Hellmessen R. : Experimentelle Untersuchungen zur Epidemiologie der Hefepilzerkrankungen bei Säuglingen und Kleinkindern. *Mykosen* 15 , Seiten 23-26 (1972).
21. Bornstein J, Lakovsky Y, Lavi I, Bar-Am A, Bramovici H.
The classic approach to diagnosis of vulvovaginitis: a critical analysis.
Infect Dis Obstet Gynecol. 2001; 9(2):105-11.
22. Bornstein J, Geva A, Solt I, Fait V, Schoenfeld A, Shoham HK, Sobel J.
Noninvasive diagnosis of premature ruptured amniotic membranes using a novel polymer. *Am J Perinatol*. Israel 2006 Aug; 23(6):351-4. Epub 2006 Jul 13.
23. Breckwoldt M., Kaufmann M., Pfeleiderer A. Gynäkologie und Geburtshilfe. 5.Auflage 2008. Georg Thieme Verlag KG. S.448-449.
24. Briese V. Amnioninfektionssyndrom. *Der Gynäkologe*. Springer-Verlag 1999; 35:507-511.

25. Buffo J, Herman MA, Soll DR.
A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*.
Mycopathologia. 1984 Mar 15;85(1-2):21-30.
26. Bundesministerium für Familie, Senioren, Frauen und Jugend [BMFSFJ] (Hrsg.)
Bericht zur gesundheitlichen Situation von Frauen in Deutschland. Stuttgart 2001.
27. Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung (BZgA)
Schwangerschaftserleben und Pränataldiagnostik. Forschung und Praxis der
Sexualaufklärung und Familienplanung. Broschüre zu den
Repräsentativbefragungen Januar-Oktober 2004, Silber Druck Niestetal, Köln,
2006; S. 5-60.
28. Calderone RA, Fonzi WA. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends
Microbiol*. 2001 Jul; 9(7):327-35.
29. Cassone A, de Bernardis F, Santoni G. "Anticandidal Immunity and Vaginitis":
Novel Opportunities for Immune Intervention, Minireview , *Infection and Immunity*,
Oct. 2007; p. 4675–4686.
30. Cauci S, Vaginal Immunity in Bacterial Vaginosis. *Curr Infect Dis Rep.*,
Italy, 2004 Dec; 6(6):450-456.
31. Cauci S, Culhane JF, Modulation of vaginal immune response among pregnant
women with bacterial vaginosis by *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia
trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and yeast. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 Feb;
196(2):133.e1-7.
32. Cauci S, Culhane JF, Di Santolo M, McCollum K. Among pregnant women with
bacterial vaginosis, the hydrolytic enzymes sialidase and prolidase are positively
associated with interleukin-1beta. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Jan;
198(1):132.e1-7.
33. Chaim W, Mazor M, Wiznitzer A. The prevalence and clinical significance of
intraamniotic infection with *Candida* species in women with preterm labor. *Arch
Gynecol Obstet*. 1992; 251(1):9-15.
34. Cotch MF, Hillier SL, Gibbs RS, Eschenbach DA. Epidemiology and outcomes
associated with moderate to heavy *Candida* colonization during pregnancy.
Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Am J Obstet Gynecol*. 1998 Feb;
178(2):374-80.
35. Danby CS, Boikov D, Rautemaa-Richardson R, Sobel JD. Effect of pH on in vitro
susceptibility of *Candida glabrata* and *Candida albicans* to 11 antifungal agents
and implications for clinical use. *Antimicrob Agents Chemother*. USA, 2012 Mar;
56(3):1403-6.
36. Dasgupta E, Singh G. Vaginal Misoprostol vs Vaginal Misoprostol With Estradiol
for Labor Induction: A Prospective Double Blind Study. *J Obstet Gynaecol India*.
2012 Feb; 62(1):47-51.

37. Dechen TC, Sumit K, Ranabir P. Correlates of Vaginal Colonization with Group B Streptococci among Pregnant Women. *J Glob Infect Dis.*, India, 2010 Sep; 2(3):236-41.
38. Diedrich K, Holzgreve W, Jonat W, Schultze-Mosgau A, Schneider KTM, Weiss JM. *Gynäkologie & Geburtshilfe*. 2. Auflage 2007. Springer Medizin Verlag; S. 370-385.
39. Dinarello CA. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. *J Endotoxin Res.* 2004; 10(4):201-22.
40. Dinarello CA. Blocking IL-1 in systemic inflammation. 2005, *J Exp Med*; 201:1355-9.
41. Dinarello CA, Cannon JG, Wolff SM, Bernheim HA, Beutler B, Cerami A, Figari IS, Palladino MA Jr, O'Connor JV. Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1. *J Exp Med.* 1986 Jun 1; 163(6):1433-50.
42. Discacciati MG, Simoes JA, Silva MG, Marconi C, Brolazo E, Costa ML, Cecatti JG. Microbiological characteristics and inflammatory cytokines associated with preterm labor. *Arch Gynecol Obstet. Brazil* 2011; 283(3):501-8.
43. Dodd JM, Crowther CA, Haslam RR, Robinson JS; Twins Timing of Birth Trial Group. Elective birth at 37 weeks of gestation versus standard care for women with an uncomplicated twin pregnancy at term: the Twins Timing of Birth Randomised Trial. *BJOG. Australia* 2012 Jul; 119(8):964-73.
44. Döğen A, Durukan H, Güzel AB, Oksüz Z, Kaplan E, Serin MS, Serin A, Emekdaş G, Aslan G, Tezcan S, Kalkancı A, Ilkit M. Genotyping of Vaginal *Candida glabrata* Isolates Using Microsatellite Marker Analysis and DNA Sequencing to Identify Mutations Associated with Antifungal Resistance. *Mikrobiyol Bul. Turkey* 2013 Jan; 47(1):109-21.
45. Donders GG, Vereecken A, Bosmans E, Spitz B. Vaginal cytokines in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Nov; 189(5):1433-8.
46. Donders GG, Moerman P, Caudron J, Van Assche FA. Intra-uterine *Candida* infection: a report of four infected fetuses from two mothers. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1991 Feb 25; 38(3):233-8.
47. Doerr W, Seifert G (Hrsg.). *Spezielle pathologische Anatomie. Ein Lehr- und Nachschlagewerk.* Lönning T, Riethdorf L. (Autoren). Pathologie der weiblichen Genitalorgane III: Pathologie des Uterus, der Vagina und Vulva. Springer-Verlag, Berlin, 2000; S. 212-213.
48. Duden. *Wörterbuch medizinischer Fachbegriffe*. 8. Auflage 2007. Dudenverlag. Bibliographisches Institut & F.A. Brockhaus AG.
49. Dudenhausen JW, Schneider HPG, Bastert G. *Frauenheilkunde und Geburtshilfe*. 2. Auflage 2003. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG. S. 351-352.

50. Dudenhausen JW. Praktische Geburtshilfe mit geburtshilflichen Operationen. 20. Auflage 2008. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG. S. 249-257.
51. Eschenbach DA, Hillier S, Critchlow C, Stevens C, DeRouen T, Holmes KK. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 819-828.
52. Fan A, Yue Y, Geng N, Zhang H, Wang Y, Xue F. Aerobic vaginitis and mixed infections: comparison of clinical and laboratory findings. *Arch Gynecol Obstet.*, China, 2013 Feb; 287(2):329-35.
53. Ferenčík M, Rovenský J, Ma`tha V, Herold M. Kompendium der Immunologie. 2006 Springer-Verlag Wien; S. 33-88.
54. Ferris DG, Nyirjesy P, Sobel JD, Soper D, Pavletic A, Litaker MS. Over-the-counter antifungal drug misuse associated with patient-diagnosed vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol.* 2002 Mar; 99(3):419-25.
55. Fidel PL Jr. Immunity in vaginal candidiasis. *Curr Opin Infect Dis.* 2005 Apr; 18(2):107-11.
56. Fischer G, Bradford J. Vulvovaginal candidiasis in postmenopausal women: the role of hormone replacement therapy. *J Low Genit Tract Dis. Australia* 2011 Oct; 15(4):263-7.
57. Friebe-Hoffmann U, Bender DP, Sims CJ, Rauk PN. *Candida albicans* chorioamnionitis associated with preterm labor and sudden intrauterine demise of one twin. A case report. *J Reprod Med. USA* 2000 Apr; 45(4):354-6.
58. Friesen K, Schäfer A, Hof H: Infektionskrankheiten in der Gynäkologie und Geburtshilfe, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2003.
59. Fukuda H, Masuzaki H, Ishimaru T. Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in amniotic fluid and cord blood in patients with pre-term, premature rupture of the membranes. *Int J Gynaecol Obstet. Japan* 2002 May; 77(2):123-9.
60. Gery I, Gershon RK, Waksman BH. Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. I. The responding cell. *J Exp Med.* 1972 Jul 1; 136(1):128-42.
61. Gery I, Waksman BH. Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. II. The cellular source of potentiating mediator(s). *J Exp Med.* 1972 Jul 1; 136(1):143-55.
62. Gharbey JP, Carpenter C, Gialanella P, Rising C, McAndrew TC, Mhatre M, Tugetman J, Einstein MH, Chazotte C, Herold BC. Association of bactericidal activity of genital tract secretions with *Escherichia coli* colonization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Oct; 207(4):297.e1-8.
63. Gleeson RP, Elder AM, Turner MJ, Rutherford AJ, Elder MG. Vaginal pH in pregnancy in women delivered at and before term. *Br J Obstet Gynaecol.* 1989 Feb; 96(2):183-7.

64. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*. 2000 May 18; 342 (20):1500-7.
65. Goya M, Bernabeu A, García N, Plata J, Gonzalez F, Merced C, Llurba E, Suy A, Casellas M, Carreras E, Cabero L. Premature rupture of membranes before 34 weeks managed expectantly: maternal and perinatal outcomes in singletons. *J Matern Fetal Neonatal Med*. Spain 2013 Feb; 26(3):290-3.
66. Gravett MG, Hummel D, Eschenbach DA, Holmes KK. Preterm labor associated with subclinical amniotic fluid infection and with bacterial vaginosis. 18. *Obstet Gynecol*. 1986 Feb; 67(2):229-37.
67. Graw J. Genetik. 5. Auflage 2010. Springer-Verlag; S. 614-618.
68. Gressner AM, Arndt T. Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Band I, Klinische Chemie. 1. Auflage 2007. Springer- Medizin Verlag Heidelberg; S.4.
69. Gülmezoglu AM, Crowther CA, Middleton P, Heatley E. Induction of labour for improving birth outcomes for women at or beyond term. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Jun 13; 6:CD004945.
70. Heng YJ, Di Quinzio MK, Permezel M, Rice GE, Georgiou HM. Interleukin-1 receptor antagonist in human cervicovaginal fluid in term pregnancy and labor. *Am J Obstet Gynecol*. Australia 2008 Dec; 199(6):656.e1-7.
71. Herouy Y, Vanscheidt W, Schöpf E, Norgauer J. Gene and protein family of matrix metalloproteinases. Structure, function and expression in the skin. *Hautarzt*. 1999 Nov; 50(11):825-36.
72. Hettiarachchi N, Ashbee HR, Wilson JD. Prevalence and management of non-albicans vaginal candidiasis. *Sex Transm Infect*. UK 2010 Apr; 86(2):99-100.
73. Hillier S, Holmes KK. Bacterial vaginosis. In: Holmes KK, Sparling PF, Mardh P-A, Lemon SM, Stamm WE, Wasserheit JN, eds. Sexually transmitted diseases. McGraw-Hill, New York; 1999: 563-586.
74. Hoffstetter SE, Barr S, LeFevre C, Leong FC, Leet T. Self-reported yeast symptoms compared with clinical wet mount analysis and vaginal yeast culture in a specialty clinic setting. *J Reprod Med*. 2008 Jun; 53(6):402-6.
75. Hoyme UB, Eschenbach DA. bakterielle Vaginose. Mikrobiologie, Diagnostik, Therapie und mögliche Komplikationen. *Dtsch Med Wochenschr* 1985; 110: 349-352.
76. Hoyme UB, Huebner J. Prevention of preterm birth is possible by vaginal pH screening, early diagnosis of bacterial vaginosis or abnormal vaginal flora and treatment. *Gynecol Obstet Invest*. 2010; 70(4):286-90.
77. Hughes VL, Hillier SL. Microbiologic characteristics of Lactobacillus products used for colonization of the vagina. *Obstet Gynecol*. USA, 1990 Feb; 75(2):244-8.

78. Ilkit M, Guzel AB. The epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of vulvovaginal candidosis: a mycological perspective. *Crit Rev Microbiol.* 2011 Aug; 37(3):250-61.
79. Imai M, Tani A, Saito M, Saito K, Amano K, Nisijima M.
Significance of fetal fibronectin and cytokine measurement in the cervicovaginal secretions of women at term in predicting term labor and post-term pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* Japan 2001 Jul; 97(1):53-8.
80. Ishihara O, Saitoh M, Kinoshita K, Takanashi H, Arai Y, Kitagawa H. Frigen II improves the reliability of measurement of interleukin-1 related substances in amniotic fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand.* Japan 1999 Apr; 78(4):321-5.
81. Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa] B activity. *Annu Rev Immunol.* 2000; 18:621-63.
82. Karkut G. Effect of lactobacillus immunotherapy on genital infections in women (Solco Trichovac/Gynatren). *Geburtshilfe Frauenheilkd.* Germany, 1984 May; 44(5):311-4.
83. Kirchner H, Kruse A, Neustock P, Rink L. Cytokine und Interferone. Botenstoffe des Immunsystems. 1. korrigierter Nachdruck 1994. Spektrum Akademischer Verlag GmbH. S. 30-73.
84. Kirschbaum M., Münstedt K. Checkliste Gynäkologie und Geburtshilfe. 2. Auflage 2005; Georg Thieme Verlag KG; S. 272-275.
85. Kunzelmann V, Tietz HJ, Rossner D, Czaika V, Hopp M, Schmalreck A, Sterry W. Prerequisites for effective therapy of chronic recurrent vaginal candidiasis. *Mycoses.* 1996; 39 Suppl 1:65-72.
86. Ledger WJ, Witkin SS. Vulvovaginal Infections. Manson Publishing Ltd., UK 2007; p 5-32.
87. Maass N, Schiessl B. Gynäkologie und Geburtshilfe in 5 Tagen. 2012 Springer Medizin Verlag; S. 200-202.
88. MacIntyre DA, Sykes L, Teoh TG, Bennett PR. Prevention of preterm labour via the modulation of inflammatory pathways. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Apr; 25 Suppl 1:17-20.
89. Macones GA, Parry S, Elkousy M, Clothier B, Ural SH, Strauss JF 3rd. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 . Discussion 3A. Jun;190(6):1504-8.
90. Male D. Immunologie auf einen Blick. 1. Auflage 2005 Elsevier GmbH München; S.1-165.
91. Mania-Pramanik J, Kerkar SC, Mehta PB, Potdar S, Salvi VS.
Use of vaginal pH in diagnosis of infections and its association with reproductive manifestations. *J Clin Lab Anal.* 2008; 22(5):375-9.

92. March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V, Gillis S, Henney CS, Kronheim SR, Grabstein K, et al. "Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs". Aug 1985 .Nature 315 (6021): 641–7.
93. Marconi C, de Andrade Ramos BR, Peraçoli JC, Donders GG, da Silva MG. Amniotic fluid interleukin-1 beta and interleukin-6, but not interleukin-8 correlate with microbial invasion of the amniotic cavity in preterm labor. Am J Reprod Immunol. 2011 Jun; 65(6):549-56.
94. Mårdh PA. The vaginal ecosystem. Am J Obstet Gynecol. Sweden, 1991 Oct; 165(4 Pt 2):1163-8.
95. McElrath TF, Fichorova RN, Allred EN, Hecht JL, Ismail MA, Yuan H, Leviton A; ELGAN Study Investigators. Blood protein profiles of infants born before 28 weeks differ by pregnancy complication. Am J Obstet Gynecol. 2011 May;204(5):418.e1-418.e12.
96. Mendling W, Brasch J; Guideline vulvovaginal candidosis (2010) of the German Society for Gynecology and Obstetrics, the Working Group for Infections and Infectimmunology in Gynecology and Obstetrics, the German Society of Dermatology, the Board of German Dermatologists and the German Speaking Mycological Society. Mycoses. 2012 Jul; 55 Suppl 3:1-13.
97. Mendling W, Seebacher C. Arbeitsgemeinschaft für Infektionen und Infektionsimmunologie (AGII) der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe und Deutschsprachige Mykologische Gesellschaft e.V. Guideline for vulvovaginal candidiasis. 6 November 2002 status. Professional Society of Infections and Infection Immunology of the German Society of gynecology and obstetrics and German Language Mycologic Society e.V]. J Dtsch Dermatol Ges. 2004 Feb;2(2):149-52.
98. Mendling W, Niemann D, Tintelnot K. Vaginal Colonisation with Candida Species with Special Focus on Candida dubliniensis. A Prospective Study. Geburtshilfe Frauenheilkunde, 2007, Germany, 67: 1132-1137.
99. Mendling W. Vulvovaginal mycoses. Z Arztl Fortbild Qualitatssich. Germany 1998 Apr; 92(3):175-9.
100. Mendling W, Spitzbart H. Empfehlungen zur antimykotischen Therapie der vaginalen Hefepilz-Kolonisation der Schwangeren zur Verhütung von Candidamykosen beim Neugeborenen. 1994 Germany. Frauenarzt; 1:35-36.
101. Mendling W, Spitzbart H. Antimykotische Therapie der vaginalen Hefepilz-Kolonisation von Schwangeren zur Verhütung von Kandidamykosen beim Neugeborenen. AWMF-Guideline 015/042 (S1) 2008.
102. Mosley B, Urdal DL, Prickett KS, Larsen A, Cosman D, Conlon PJ, Gillis S, Dower SK. The interleukin-1 receptor binds the human interleukin-1 alpha precursor but not the interleukin-1 beta precursor. J Biol Chem. 1987 Mar 5; 262(7):2941-4.

103. Murphy KP. Janeway's Immunobiology. 8th edition 2012. Garland Science. Taylor and Francis Group. p. 1-868.
104. Naglik JR, Moyes DL, Wachtler B, Hube B. *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes Infect.* 2011; 13:963–976.
105. Nakae S, Asano M, Horai R, Iwakura Y. Interleukin-1 beta, but not interleukin-1 alpha, is required for T-cell-dependent antibody production. *Immunology.* 2001 Dec; 104(4):402-9.
106. Ni CY, Jia WX, Yi WM, Feng LH, Yu LZ. Practicability of using vaginal fluid markers in detecting premature rupture of membranes. *Ann Clin Biochem. China* 2003 Sep;40(Pt 5):542-5.
107. Nowakowska D, Gaj Z, Nowakowska-Głab A, Wilczyński J. Occurrence of fungal infections in pregnant women and non-pregnant women with diabetes and without diabetes. *Ginekol Pol.* 2009 Mar; 80(3):207-12.
108. Nwokolo NC, Boag FC. Chronic vaginal candidiasis. Management in the postmenopausal patient. *Drugs Aging.* 2000 May; 16(5):335-9.
109. Odds FC. Pathogenesis of *Candida* infections. *J Am Acad Dermatol. Belgium,* 1994 Sep; 31(3 Pt 2):S2-5.
110. Odds FC (Author), Saunders WB (Publisher). *Candida and Candidosis. A review and bibliography.* 2nd ed. Baillière Tindall, England 1988.
111. Ovalle A, Kakarieka E, Rencoret G, Fuentes A, del Río MJ, Morong C, Benítez P. Risk factors for preterm deliveries in a public hospital. *Rev Med Chil.* 2012 Jan; 140(1):19-29.
112. Ozkinay E, Terek MC, Yayci M, Kaiser R, Grob P, Tuncay G. The effectiveness of live lactobacilli in combination with low dose oestriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections. *BJOG. Turkey,* 2005 Feb; 112(2):234-40.
113. Park JW, Park KH, Lee SY. Noninvasive Prediction of Intra-amniotic Infection and/or Inflammation in Women with Preterm Labor: Various Cytokines in Cervicovaginal Fluid. *Reprod Sci. Korea* 2013 Mar; 20(3):262-8.
114. Pedain C, Garcia JH. *Fallbuch Gynäkologie und Geburtshilfe.* 2. Auflage 2012. Georg Thieme Verlag KG; S.16-17.
115. Perni SC, Kalish RB, Hutson JM, Karasahin E, Bongiovanni AM, Ratushny V, Chasen ST, Witkin SS. Differential expression of immune system-related components in midtrimester amniotic fluid from singleton and twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Sep; 193(3 Pt 2): 942-6.

116. Petersen EE, Weissenbacher ER, Hengst P, Spitzbart H, Weise W, Wolff F, Dreher E, Ernst U, Della Casa V, Pohlig G, Graf F, Kaiser RR. Local treatment of vaginal infections of varying etiology with dequalinium chloride or povidone iodine. A randomised, double-blind, active-controlled, multicentric clinical study. *Arzneimittelforschung*. Germany 2002; 52(9):706-15.
117. Petersen EE. Infektionen in Gynäkologie und Geburtshilfe. Lehrbuch und Atlas. Georg Thieme Verlag KG, 2011.
118. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ, Messer SA; SENTRY Participant Group. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol*. 2001 Sep; 39(9):3254-9.
119. Pineda C, Kaushik A, Kest H, Wickes B, Zauk A. Maternal sepsis, chorioamnionitis, and congenital *Candida kefyr* infection in premature twins. *Pediatr Infect Dis J*. 2012 Mar; 31(3):320-2.
120. Poniedziałek-Czajkowska E, Leszczyńska-Gorzelak B, Oleszczuk J. Maternal serum cytokine levels in pregnancies complicated by PROM. *Ginekol Pol*. Poland 2000 Aug; 71(8):746-51.
121. Poniedziałek-Czajkowska E, Leszczyńska-Gorzelak B, Oleszczuk J. The relationship of maternal serum levels of IL-6 and TNF-alpha with fertility and parity of women with pregnancies complicated by PROM. *Ginekol Pol*. 2000 Aug; 71(8):752-7.
122. Poniedziałek-Czajkowska E, Leszczyńska-Gorzelak B, Oleszczuk J. The relationship between the levels of proinflammatory cytokines, and AFI value in pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Ginekol Pol*. 2001 Dec; 72(12):1163-9.
123. Porta A, Ramón AM, Fonzi WA. PRR1, a homolog of *Aspergillus nidulans* palf, controls pH-dependent gene expression and filamentation in *Candida albicans*. *J Bacteriol*. 1999 Dec; 181(24):7516-23.
124. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 2013. 264. Auflage 2012. Verlag Walter de Gruyter GmbH & Co. KG.
125. Ramón AM, Porta A, Fonzi WA. Effect of environmental pH on morphological development of *Candida albicans* is mediated via the PacC-related transcription factor encoded by PRR2. *J Bacteriol*. 1999 Dec; 181(24):7524-30.
126. Ramón AM, Fonzi WA. Diverged binding specificity of Rim101p, the *Candida albicans* ortholog of PacC. *Eukaryot Cell*. 2003 Aug; 2(4):718-28.
127. Rand L, Robinson JN, Economy KE, Norwitz ER. Post-term induction of labor revisited. *Obstet Gynecol*. USA 2000 Nov; 96(5 Pt 1):779-83.
128. Rath W. Prolonged pregnancy- prostaglandins as the cause of labor onset. *Z Geburtshilfe Perinatol*. 1994 Oct-Dec; 198(5-6):207-14.

129. Reiß M, Facharztwissen HNO-Heilkunde. Differenzierte Diagnostik und Therapie. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2009; S. 81-84.
130. Rink L, Kruse D, Haase H. Immunologie für Einsteiger. 2012. Spektrum Akademischer Verlag. S. 119-141.
131. Rodríguez D, Morrison CJ, Overall CM. Matrix metalloproteinases: what do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Jan; 1803(1):39-54.
132. Rubartelli A, Sitia R. Interleukin 1 beta and thioredoxin are secreted through a novel pathway of secretion. *Biochem Soc Trans*. 1991 Apr; 19(2):255-9.
133. Saloga J, Klimek L, Buhl R, Mann W, Knop J, Grabbe S.(Hrsg.) Allergologie-Handbuch: Grundlagen und klinische Praxis. 2. Auflage, 2011, Schattauer Verlag Stuttgart, 2011; S. 3-25.
134. Schäfer B. Immunologie und Immunopathologie. GK2. Original Prüfungsfragen. 6. Auflage 2002. Georg Thieme Verlag. S. 14-16.
135. Schleußner E. The prevention, diagnosis and treatment of premature labor. *Dtsch Arztebl Int*. 2013 Mar; 110(13):227-36.
136. Schütt C, Bröker B. Grundwissen Immunologie. 1. Auflage 2006. Spektrum Akademischer Verlag. Elsevier GmbH. S. 70-88.
137. Schwesinger G. Disseminated candidiasis in premature twins. Case report. *Mycoses*. 1999;42 Suppl 1:60-2.
138. Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell*. 1986 Dec 26; 47(6):921-8.
139. Seña AC, Miller WC, Hobbs MM, Schwebke JR, Leone PA, Swygard H, Atashili J, Cohen MS. *Trichomonas vaginalis* infection in male sexual partners: implications for diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Infect Dis*. USA 2007 Jan 1; 44(1):13-22.
140. Singh RH, Zenilman JM, Brown KM, Madden T, Gaydos C, Ghanem KG. The role of physical examination in diagnosing common causes of vaginitis: a prospective study. *Sex Transm Infect*. New Mexico, USA. 2012 Sep 27; 00:1–6.
141. Singh S, Sobel JD, Bhargava P, Boikov D, Vazquez JA. Vaginitis due to *Candida krusei*: epidemiology, clinical aspects, and therapy. *Clin Infect Dis*. USA 2002 Nov; 35(9):1066-70.
142. Sobel JD, Subramanian C, Foxman B, Fairfax M, Gyax SE. Mixed Vaginitis-More Than Coinfection and With Therapeutic Implications. *Curr Infect Dis Rep*. USA 2013 Apr; 15(2):104-8.
143. Sobel JD. Management of infections caused by *Candida glabrata*. *Curr Infect Dis Rep*. USA 2000 Oct; 2(5):424-428.

144. Sobel JD. Pathogenesis of Candida vulvovaginitis. Curr Top Med Mycol. USA 1989; 3:86-108.
145. Sohn C, Tercanli S, Holzgreve W. Ultraschall in Gynäkologie und Geburtshilfe. 2. Auflage, 2003 Georg Thieme Verlag; S. 343-353.
146. Spitzbart H, Thust U. Problems of vaginal mycoses. Zentralbl Gynakol. Germany 1985; 107(24):1520-4.
147. Stein W, Hawighorst T, Emons G. Frauenheilkunde up2date 2010. Geburtshilfe und Perinatalmedizin. Georg Thieme Verlag KG Stuttgart New York; 4(6): 399-411
148. Steinborn A, Sohn C, Sayehli C, Baudendistel A, Hüwelmeier D, Solbach C, Schmitt E, Kaufmann M. Spontaneous labour at term is associated with fetal monocyte activation. Clin Exp Immunol. Germany 1999 Jul; 117(1):147-52.
149. Stock G, Bertram H, Fürnkranz-Prskawatz A, Holzgreve W, Kohli M, Staudinger UM. Zukunft mit Kindern. Fertilität und gesellschaftliche Entwicklung in Deutschland, Österreich und der Schweiz. 2012 Campus-Verlag GmbH; S. 360-361.
150. Stock I. Fungal diseases of vulva and vagina caused by Candida species. Med Monatsschr Pharm. Germany 2010 Sep; 33(9):324-33.
151. Sudbery PE. Growth of Candida albicans hyphae. Nat Rev Microbiol. 2011 Aug 16; 9(10):737-48.
152. Tang N, Liu L, Kang K, Mukherjee PK, Takahara M, Chen G, McCormick TS, Cooper KD, Ghannoum M. Inhibition of monocytic interleukin-12 production by Candida albicans via selective activation of ERK mitogen-activated protein kinase. Infect Immun. USA 2004 May; 72(5):2513-20.
153. Thomson AW, Lotze MT. The Cytokine Handbook. Volume I and II. Fourth Edition, 2003, Elsevier Science Ltd, UK, USA. Volume I: p 1-638; Volume II: p 643-1396.
154. Torbé A, Czajka R, Kordek A, Rzepka R, Kwiatkowski S, Rudnicki J. Value of vaginal fluid proinflammatory cytokines for the prediction of early-onset neonatal infection in preterm premature rupture of the membranes. J Interferon Cytokine Res. Poland 2007 May; 27(5):393-8.
155. Uhl, B. Gynäkologie und Geburtshilfe compact. Alles für Station, Praxis und Facharztprüfung. 5. Auflage 2013. Georg Thieme Verlag. S. 265-267.
156. Van Winter JT, Ney JA, Ogburn PL Jr, Johnson RV. Preterm labor and congenital candidiasis. A case report. J Reprod Med. 1994 Dec; 39(12):987-90.

157. Vayssière C, Haumonte JB, Chantry A, Coatleven F, Debord MP, Gomez C, Le Ray C, Lopez E, Salomon LJ, Senat MV, Sentilhes L, Serry A, Winer N, Grandjean H, Verspyck E, Subtil D. Prolonged and post-term pregnancies: guidelines for clinical practice from the French College of Gynecologists and Obstetricians (CNGOF). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013 Feb 20. pii: S0301-2115(13)00069-9.
158. Verhelst R, Verstraelen H, Claeys G, Verschraegen G, Delanghe J, Van Simaey L, De Ganck C, Temmerman M, Vanechoutte M. Cloning of 16S rRNA genes amplified from normal and disturbed vaginal microflora suggests a strong association between *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* and bacterial vaginosis. *BMC Microbiol.* 2004 Apr 21; 4:16.
159. Walker PP, Reynolds MT, Ashbee HR, Brown C, Evans EG. Vaginal yeasts in the era of "over the counter" antifungals. *Sex Transm Infect.* 2000 Dec; 76(6):437-8.
160. Walter J, Fraga L, Orin MJ, Decker WD, Gipps T, Stek A, Aldrovandi GM. Immunomodulatory factors in cervicovaginal secretions from pregnant and non-pregnant women: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* 2011 Sep 30; 11:263.
161. Wang YC, Huang SH, Lan CY, Chen BS. Prediction of phenotype-associated genes via a cellular network approach: a *Candida albicans* infection case study. *PLoS One.* 2012; 7(4):e35339.
162. Warren JE, Nelson LM, Stoddard GJ, Esplin MS, Varner MW, Silver RM. Polymorphisms in the promoter region of the interleukin-10 (IL-10) gene in women with cervical insufficiency. *Am J Obstet Gynecol.* 2009 Oct; 201(4):372.e1-5.
163. Warren JE, Silver RM. Genetics of the cervix in relation to preterm birth. *Semin Perinatol.* 2009 Oct; 33(5):308-11.
164. Weissenbacher ER : Fluorpraktikum, 4. Neuauflage, Medifact-Publishing KG, München, 2001.
165. Weissenbacher ER, Spitzbart H: Fluorpraktikum II, Heft 1, 2. Auflage, Medifact-Publishing KG, München, 2001.
166. Weissenbacher ER, Frank S. The purity degree of the vagina containing mycoplasmosis urogenitalis. *Geburtshilfe Frauenheilkd. Germany* 1977 Nov; 37(11):937-8.
167. Weissenbacher T, Laubender RP, Witkin SS, Gingelmaier A, Schiessl B, Kainer F, Friese K, Jeschke U, Dian D, Karl K. Diagnostic biomarkers of pro-inflammatory immune-mediated preterm birth. *Arch Gynecol Obstet.* 2013 Apr; 287(4):673-85.
168. Wennerholm UB, Holm B, Mattsby-Baltzer I, Nielsen T, Platz-Christensen JJ, Sundell G, Hagberg H. Interleukin-1alpha, interleukin-6 and interleukin-8 in cervico/vaginal secretion for screening of preterm birth in twin gestation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1998 May; 77(5):508-14.

169. Whiley RA, Cruchley AT, Gore C, Hagi-Pavli E. Candida albicans strain-dependent modulation of pro-inflammatory cytokine release by in vitro oral and vaginal mucosal models. 2012 Cytokine; 57(1):89-97.
170. Winkler M, Rath W. The role of cytokines in the induction of labor, cervical ripening and rupture of the fetal membranes. Geburtshilfe Neonatol. 1996; 200 Suppl 1:1-12.
171. Workowski KA, Berman S. Division of STD Prevention. National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports. December 17, 2010/ Vol. 59 / No. RR-12; p 1-109.
<http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/STD-Treatment-2010-RR5912.pdf>
172. Zylka-Menhorn, V. Zytokinforschung: Interleukin 1 ist im Visier. Medizinreport. Dtsch Arztebl 2013; 110(16): A-775 / B-675 / C-675.

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Dr. med. habil. Ernst Rainer Weissenbacher danke ich vielmals für die Unterstützung und für die Überlassung meines Dissertationsthemas.

In Memoriam an Herrn Professor Dr. med. habil. Heinz Spitzbart bedanke ich mich für die engagierte und souveräne fachliche Betreuung.

Ich danke Herrn Professor Steven S. Witkin, PhD, für die Aufsicht der im Labor durchgeführten Methoden.

Darüber hinaus danke ich Herrn Dr. med. Tobias Marcus Weissenbacher für seine freundliche und geduldige Unterstützung während des Entstehungsprozesses.

Herzlichen Dank an Frau Dr. Susanne Hoffmann für ihre kontinuierliche und freundliche Begleitung des experimentellen Teils.

Eidesstattliche Versicherung

THORMANN, ANGELIQUE

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

ZYTOKINEXPRESSION BEI SCHWANGEREN
UND NICHTSCHWANGEREN PATIENTINNEN
MIT CANDIDOSE

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

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

München, den 4.11.2013

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand