

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. K. Friese

**Bestimmung der Zytokine MIP-1alpha, MIP-1beta, GROalpha,  
Interleukin-4 und Interleukin-8 im Fruchtwasser von Frauen mit  
Verdacht auf eine intrauterine Infektion**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Vanessa Stephanie Schultz

aus Brüssel

2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

Der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. Udo Jeschke

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. Ernst-Rainer Weißenbacher

Prof. Dr. Thomas Beck

Mitbetreuung durch die promovierten Mitarbeiter: PD Dr. Tobias Weissenbacher

Dekan:

Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung:

01.10.2015

Meinen Eltern gewidmet, durch deren Liebe und Unterstützung alles erst möglich wurde.

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	7
1.1	Die Frühgeburt .....	7
1.1.1	Definition .....	7
1.1.2	Epidemiologie .....	7
1.1.3	Ätiologie .....	7
1.1.4	Folgen der Frühgeburt.....	8
1.2	Intrauterine Infektionen - Amnioninfektionssyndrom.....	9
1.2.1	Erreger .....	9
1.2.2	Ausbreitung der Erreger.....	11
1.2.3	Noninvasive Diagnostik .....	13
1.2.4	Invasive Diagnostik: Amniozentese .....	14
1.3	Fragestellung .....	21
2	Patientinnen, Material und Methode.....	22
2.1	Studiendesign .....	22
2.2	Patientinnen .....	22
2.2.1	Gruppe 1: Amniozentesen (AC) .....	23
2.2.2	Gruppe 2: Sectiones casareae (Sectiones) .....	24
2.2.3	Gruppe 3: Spontangeburten (SG) .....	24
2.2.4	Gruppe 4: Amnioninfektionssyndrom (AIS) .....	25
2.3	Durchführung der Fruchtwasserentnahmen.....	26
2.3.1	Fruchtwassergewinnung durch Amniozentese bei Gruppe 1 und 4 .....	26
2.3.2	Fruchtwassergewinnung während der Geburt bei Gruppe 2 und 3 .....	27
2.4	Material .....	27
2.4.1	Geräte und Materialien .....	27
2.4.2	Reagenzien .....	29
2.4.3	Herstellung der Standardverdünnungsreihe.....	29

2.4.4	Herstellung des MIP-1alpha Standards .....	30
2.4.5	Herstellung des MIP-1beta Standards.....	30
2.4.6	Herstellung des GROalpha Standards .....	31
2.4.7	Herstellung des IL-4 Standards.....	31
2.4.8	Herstellung des IL-8 Standards.....	31
2.4.9	Herstellung der gepufferten Waschlösung .....	31
2.4.10	Herstellung der Substratlösung .....	32
2.5	Enzym-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) .....	32
2.5.1	Funktionsprinzip .....	32
2.5.2	Durchführung der ELISAS .....	33
2.6	Auswertung der Messergebnisse .....	35
2.6.1	Auswertung der ELISA Platten.....	35
2.6.2	Statistische Auswertung.....	35
3	Ergebnisse.....	37
3.1	Anamnestisch und klinisch erhobene Daten.....	37
3.1.1	Daten unseres gesamten Patientinnenkollektivs .....	37
3.1.2	Vergleich der Daten zwischen den vier Gruppen .....	37
3.2	Einfluss der anamnestisch und klinisch erhobenen Parameter auf die Ergebnisse unserer Zytokinbestimmungen .....	41
3.2.1	Einfluss der Faktoren Risikoschwangerschaft, Risikoanamnese und Besonderheiten im Schwangerschaftsverlauf.....	41
3.2.2	Einfluss der Schwangerschaftswoche auf die Zytokinexpression im Fruchtwasser .....	43
3.2.3	Einfluss des maternalen Alters .....	45
3.2.4	Einfluss der Gravidität und Parität .....	46
3.3	Messergebnisse der Zytokinkonzentrationen .....	48
3.3.1	MIP-1alpha .....	48
3.3.2	MIP-1beta .....	52
3.3.3	GROalpha .....	56

3.3.4	Interleukin-4 .....	60
3.3.5	Interleukin-8 .....	63
4	Diskussion .....	68
5	Zusammenfassung .....	84
6	Literaturverzeichnis .....	89
7	Abbildungsverzeichnis .....	95
8	Tabellenverzeichnis .....	97
9	Abkürzungsverzeichnis .....	97
10	Eidestattliche Versicherung .....	98

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Frühgeburt

### 1.1.1 Definition

Die Frühgeburt bezeichnet eine Geburt vor Vollendung der 37. Schwangerschaftswoche (SSW) post menstruationem beziehungsweise eine Geburt, deren Tragezeit 259 Tage unterschreitet [1].

### 1.1.2 Epidemiologie

Für die Geburtsheilkunde ist die Frühgeburtlichkeit ein zentrales und weiterhin sehr aktuelles Thema [2]. Frühgeburten verursachen zum einen große Belastungen für die betroffenen Familien und zum anderen hohe Kosten für das Gesundheitssystem [3]. In den meisten westlichen Ländern Europas beträgt die Frühgeburtenrate zwischen 7% und 8%. Die Rate an unreif geborenen Kindern nimmt weltweit tendenziell nicht ab, sondern trotz medizinischer Fortschritte eher zu. In Hessen beispielsweise stieg die Frühgeburtenrate von 6,72% im Jahr 1990 auf 7,72% im Jahr 2000 an [1, 4]. Dieser Anstieg der Frühgeburtenrate entsteht dabei unter anderem aus vermehrten medizinisch indizierten Beendigungen der Schwangerschaften. Diese sind auf die verbesserten neonatologischen Versorgungsmöglichkeiten der Kinder nach der Geburt zurückzuführen.

Die Frühgeburtenrate ist in den verschiedenen ethnischen Gruppen nicht gleichmäßig verteilt, sondern tritt bei dunkelhäutigen Frauen im Vergleich zu Frauen mit weißer Hautfarbe doppelt so häufig auf [5]. Vermutet werden Allel-Variationen in wichtigen Mediatoren der Amnionflüssigkeit [2]. Weiterhin fand man bei dunkelhäutigen Frauen häufiger eine bakterielle Vaginose, Chorioamnionitis und postpartale Endometritis. Man geht deshalb auch davon aus, dass die vermehrt auftretenden genitalen Infektionen zu der erhöhten Frühgeburtenrate bei afroamerikanischen Schwangeren führen [6-8]. Um die ethnischen Unterschiede in Bezug auf die Frühgeburtlichkeit vollständig zu klären bedarf es allerdings noch weiterer Untersuchungen und Studien.

### 1.1.3 Ätiologie

Frühgeburten werden in drei verschiedene Gruppen eingeteilt und klassifiziert. Erste Gruppe: Frühgeburten, die durch spontanes Einsetzen vorzeitiger Wehen zustande kommen (in etwa 50% der Fälle). Zweite Gruppe: Frühgeburten, die als Folge eines vorzeitigen

Blasensprunges auftreten (in etwa 30% der Fälle). Häufigste Ursache sowohl vorzeitiger Wehen als auch des vorzeitigen Blasensprunges sind dabei Infektionen. Dritte Gruppe: Es können medizinische Indikationen vorliegen, die die Mutter oder das Kind gefährden und eine frühzeitige Beendigung der Schwangerschaft nötig machen. Dieser medizinisch indizierte Anteil an der Gesamtheit der Frühgeburten beträgt etwa 20% [4, 9].

Die wichtigsten Ursachen für eine Frühgeburt stellen vor allem die intrauterinen Infektionen dar. Man nimmt an, dass sie in 40-70% der Frühgeburten ursächlich sind [3, 5, 10-12]. Auch die bakterielle Vaginose ist mit Frühgeburt assoziiert [13-17]. Vermutlich ascendieren die Keime in den Uterus und können dadurch eine Frühgeburt auslösen [18-20].

Zudem können auch extrauterine Infektionen (Pyelonephritis [21], Pneumonie [22] und Parodontalerkrankungen [23]) oder Entzündungsreaktionen ohne Infektion zu Frühgeburten führen, da nicht nur die Infektion selbst, sondern auch die Entzündungsreaktionen des Wirts für Frühgeburten verantwortlich gemacht werden [24-25]. Durch diese Aktivierung lokaler Entzündungsantworten durch Zytokine und Endotoxine können die aktivierten Zellen und die Zytokine durch das Blut in den Uterus gelangen und somit zu Wehen und Frühgeburt führen [5].

Andere Risikofaktoren für eine Frühgeburt stellen unter anderem multiple Schwangerschaften, Plazentalösung und hormonelle Störungen dar [26]. Aber auch eine bereits stattgefundene Frühgeburt in der Anamnese, vor allem wenn sie im zweiten Trimester der Schwangerschaft auftrat, erhöht das Risiko für eine erneute Frühgeburt [27].

#### **1.1.4 Folgen der Frühgeburt**

Die Frühgeburt stellt einen wichtigen Risikofaktor für die kindliche Entwicklung dar. So werden 70% der perinatalen Mortalität und fast die Hälfte aller langfristigen neurologischen Defizite auf die Frühgeburtlichkeit zurückgeführt [2, 28-29]. Dabei wird der Hauptanteil dieser Mortalität und Morbidität von den 1-2% der frühgeborenen Kinder getragen, die noch vor der 32. SSW geboren wurden und weniger als 1500 g wiegen [5]. Obwohl die Anzahl der Frühgeburten, wie bereits erwähnt, nicht abgenommen hat [4], ist die Überlebensrate über die Jahre deutlich angestiegen, so dass heutzutage 80% der unreif geborenen Kinder mit einem Gewicht zwischen 500 g und 1000 g überleben können. Der Anteil an überlebenden

frühgeborenen Kindern, die entsprechende Entwicklungsdefizite aufweisen, hat sich allerdings nur wenig verändert [28, 30].

## 1.2 Intrauterine Infektionen - Amnioninfektionssyndrom

Das Amnioninfektionssyndrom bezeichnet eine intrauterine Infektion der Fruchthöhle und ihres Inhalts. Es umfasst alle prä- und subpartal auftretenden Infektionen der Eihäute, des Fruchtwassers, der Plazenta und auch des Kindes [31].

Die Häufigkeit einer intrauterinen Infektion bei termingerechten Geburten liegt bei 2-4% [32], bei Frühgeburten in etwa bei 40-70% [5, 10]. Das Auftreten von Frühgeburten aufgrund intrauteriner Infektionen in der Schwangerschaft ist zwischen der 34. SSW und 36. SSW eher gering ausgeprägt. Im Gegensatz hierzu ist bei den unreif geborenen Kindern, die vor der 30. SSW zur Welt kommen, meist eine intrauterine Infektion ursächlich [5, 33-34].

Es wird vermutet, dass intrauterine Infektionen relativ früh in der Schwangerschaft auftreten, aber über einige Monate unbemerkt bleiben, da sie oft asymptomatisch ablaufen [5].

Bei einer Normalgeburt sind Nulliparität, das lange Andauern der Geburtswehen und der vorzeitige Blasensprung Risikofaktoren für die Entwicklung eines Amnioninfektionssyndroms [35]. Risikomarker für die Entwicklung einer intrauterinen Infektion, die schon vor der Schwangerschaft erkannt werden können, sind die bakterielle Vaginose und stattgefundene Frühgeburten bei früheren Schwangerschaften der Patientin [5].

Am häufigsten wird das Amnioninfektionssyndrom durch aufsteigende Infektionen aus der Vagina oder der Zervix ausgelöst [36]. Eine hämatologische Verschleppung von Krankheitserregern als Ursache ist selten, ebenso eine Infektion aufgrund von invasiven Eingriffen in die Fruchthöhle (z.B. Amniozentesen) [37].

### 1.2.1 Erreger

Es werden zahlreiche Bakterien und Viren, seltener auch Pilze, für den Pathomechanismus der intrauterinen Infektion und der Frühgeburtlichkeit verantwortlich gemacht. Der Hauptanteil der Infektions-assoziierten Frühgeburten wird durch Bakterien ausgelöst [24]. Physiologischerweise ist die Amnionflüssigkeit steril, weniger als 1% der Frauen ohne Wehentätigkeit haben gegen Ende der Schwangerschaft Bakterien im Fruchtwasser. Deshalb

ist die Isolation von Bakterien im Fruchtwasser pathologisch und wird als „microbial invasion of the amniotic cavity“ (MIAC) bezeichnet [24]. Im Vergleich zu Frauen mit steriler Amnionflüssigkeit und vorzeitigen Wehen oder vorzeitiger Ruptur der Fruchtblase (PPROM = preterm prelabor rupture of membranes) treten bei Patientinnen mit MIAC häufiger klinische Chorioamnionitiden und Frühgeburten mit schlechterem perinatalem Outcome auf [24]. Eine mikrobielle Besiedelung muss aber nicht zwangsläufig eine Infektion mit entsprechender Frühgeburtlichkeit verursachen, so dass auch Anzahl und Erregerart von Bedeutung sind [38-39].

Bei den meisten Frauen mit intrauteriner Infektion konnten mindestens zwei verschiedene Erreger isoliert werden. Es handelt sich also in den meisten Fällen um eine polymikrobielle Infektion. Die Häufigkeit der einzelnen Erreger variierte in den verschiedenen Studien und den unterschiedlichen Materialien (z.B. Plazentapräparate oder Amnionflüssigkeit), die untersucht wurden. Bei der Untersuchung von Plazenten von Frauen mit frühgeborenen Kindern und intrauteriner Infektion konnte Ureaplasma urealyticum (47%) als häufigster Erreger isoliert werden. Auch gramnegative Anaerobier (38.4%), Mycoplasma hominis (30.4%), Bacteroides bivius (29.5%) und Gardnerella vaginalis (24-26%) wurden bei Frauen mit intrauteriner Infektion vermehrt gefunden [10, 40]. Streptokokken der Gruppe B und Escherichia coli wurden hingegen nur selten isoliert. Neisseria gonorrhoeae und Chlamydia trachomatis stellen Organismen dar, die hauptsächlich in nicht schwangeren Frauen mit genitalen Infektionen vorkommen. Bei Schwangeren mit intakter Fruchtblase werden sie hingegen kaum isoliert. Allerdings besteht eine Assoziation der beiden Erreger zu Chorioamnionitis und fetaler Infektion nach der Ruptur der Fruchtblase [5]. Beschrieben wurden weiterhin intrauterine Infektionen durch Methicillin-resistente Staphylococci aureus [41]. Insgesamt stammen die Erreger im Uterus, die mit vorzeitiger Wehentätigkeit assoziiert werden, am häufigsten aus dem Vaginaltrakt [5].

Daten bezüglich Viren-assozierter Frühgeburten sind bisher nur wenige vorhanden. Es konnten jedoch verschiedene Viren aus der Amnionflüssigkeit isoliert werden. Hierbei handelte es sich vor allem um den Zytomegalievirus, den Adenovirus, den Respiratory-Syncytial-Virus, den Epstein-Barr-Virus sowie um Enteroviren [42]. In einer Studie von 2010 wurde gezeigt, dass eine Adenovirusinfektion der Plazenta sowohl mit einem histologisch gesicherten Amnioninfektionssyndrom als auch mit der Frühgeburtlichkeit assoziiert ist [43].

Trotz der Isolierung einiger Viren bei Patientinnen mit Amnioninfektionssyndrom ist weitere Forschung nötig um gezieltere Aussagen über Viren, die das Amnioninfektionssyndrom begünstigen oder auslösen können, machen zu dürfen [37].

### 1.2.2 Ausbreitung der Erreger

Bei einer Infektion können sich Bakterien im Uterus in verschiedenen maternalen und fetalen Geweben ausbreiten. Die Erreger steigen zunächst in den choriodezidualen Raum auf und können dann bei manchen Frauen durch die intakte Membran des Chorioamnions in die Fruchthöhle gelangen und in der Amnionflüssigkeit nachweisbar sein. Die Erreger können somit außer in dem choriodezidualen Raum auch in der Plazenta, im Fruchtwasser und in den fetalen Membranen (zu denen das Amnion und das Chorion zählen) gefunden werden. Bei weiter fortgeschrittenen Infektionen kann auch die Nabelschnur oder sogar der Fetus selbst betroffen sein (Abbildung 1). Eine Infektion der fetalen Membranen bezeichnet man als Chorioamnionitis. Ist die Nabelschnur von der Infektion betroffen, spricht man von einer Funisitis und bei Befall des Fruchtwassers von einer Amnionitis [5].

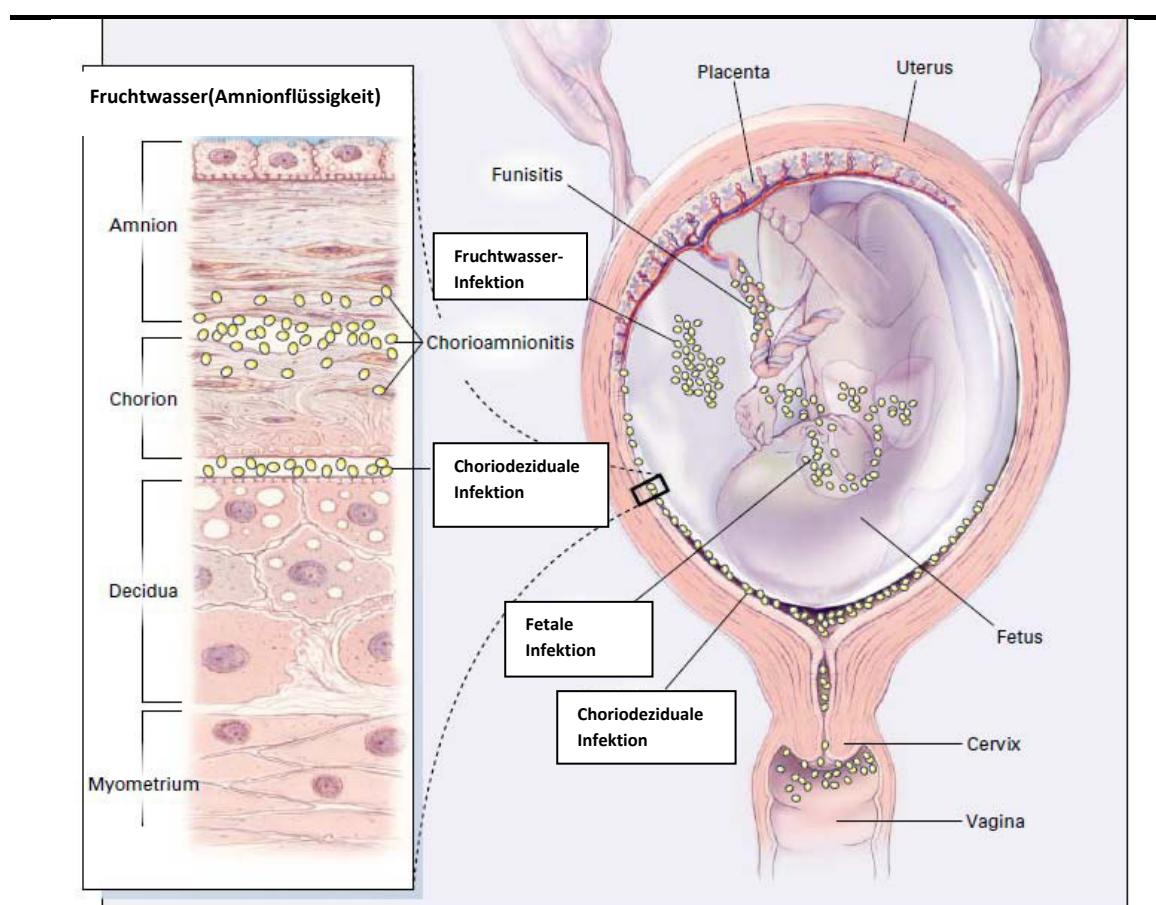


Abbildung 1: Darstellung der verschiedenen Kompartimente, die von einer intrauterinen Infektion betroffen sein können [5]

Die Ausbreitung der Erreger geschieht dabei über an der Zelloberfläche eingebaute Toll-like receptors (TLRs), die fähig sind Pathogene von Bakterien, Viren und Pilzen zu erkennen. TLRs befinden sich auf mononukleären Phagozyten, Deziduazellen und Trophoblastenzellen der Plazenta und leiten über eine proinflammatorische Kaskade die Immunantwort des angeborenen Immunsystems ein [24, 44]. Bei der Regulierung und Abstimmung der einzelnen Bestandteile der Kaskade spielt vor allem der Transkriptionsfaktor NF-KB eine große Rolle [45]. Diese proinflammatorische Kaskade führt zur Modulation von Effektormolekülen wie Zytokinen, Chemokinen [46], Prostaglandinen [47], Proteasen und anderen Enzymen [48]. Sowohl die Zytokine als auch die Endotoxine und Exotoxine stimulieren die Prostaglandinsynthese und führen zur Aktivierung der Neutrophilen sowie deren Chemotaxis und Infiltration in das maternofetale Gewebe. Während Prostaglandine zu Uteruskontraktionen führen, spalten Metalloproteasen Peptidbindungen in der chorioamniotischen Membran und können dadurch die Ruptur der Fruchtblase auslösen. Zudem wird die Zervix aufgelockert und somit dehnbarer, da die Metalloproteasen das Kollagengefüge in der Zervix verändern [49-51].

Zusammenfassend führt dieses Zusammenspiel der einzelnen Moleküle schließlich zu der Auslösung uteriner Kontraktionen, der Ablösung der Plazenta und der Akkumulation von Entzündungszellen im maternofetalen Gewebe. Weiterhin fördern biochemische und strukturelle Veränderungen die Zervixreifung und bedingen dadurch die zunehmende Nachgiebigkeit der fetalen Membranen [24].

Die proinflammatorische Kaskade kann wie bereits beschrieben nicht nur primär durch Infektionen ausgelöst werden [24]. Es gibt Studien, die zeigen, dass die alleinige Anwesenheit der Keime nicht genügt um eine intrauterine Infektion, einen vorzeitigen Blasensprung oder eine Frühgeburt auszulösen. Das Immunsystem des Wirts scheint hier zusätzlich eine entscheidende Rolle zu spielen [39, 52]. So können die Kaskaden auch durch begleitende Entzündungsreaktionen wie der Aktivierung des Komplementsystems [53-54] und der Produktion von Thrombin [48] ausgelöst werden.

Ein weiterer Weg wie eine intrauterine Infektion zu einer Frühgeburt führen kann, betrifft den Fetus selbst. Besteht eine Infektion, wird Cortisol verstärkt in den fetalen Nebennieren gebildet. Dies geschieht sowohl über eine erhöhte Freisetzung von fetalem Corticotropin-

Releasing-Hormon (CRH) aus dem fetalen Hypothalamus als auch durch die vermehrte Freisetzung des plazentaren CRH. Durch die gesteigerte Cortisolbildung wird als Folge vermehrt Prostaglandin produziert. Dessen Wirkungen wurden bereits erläutert [55]. Ist der Fetus selbst infiziert, kommt es außerdem zur Produktion von fetal Zytokinen, die das Einsetzen der Geburtseinleitung fördern [56].

### 1.2.3 Noninvasive Diagnostik

Die Diagnose einer intrauterinen Infektion wird zurzeit noch hauptsächlich klinisch anhand unspezifischer mütterlicher Symptome oder aber CTG-Veränderungen gestellt. Für die klinische Diagnose bedeutsam sind Pyrexie, abdominale Schmerzen, Druckschmerhaftigkeit des Uterus, fötider vaginaler Ausfluss, maternale Tachykardie ( $> 100$  Schläge/min), fetale Tachykardie (anhaltend  $> 160$  Schläge/min) oder aber eine Leukozytose im mütterlichen Blut [57-59]. Die zur Diagnostik verwendete signifikante Höhe des mütterlichen Fiebers variiert in den verschiedenen Studien. Aktuellere Ergebnisse weisen allerdings darauf hin, dass die Temperatur zur Diagnostik des Amnioninfektionssyndroms über  $38^{\circ}\text{C}$  betragen sollte. Hierdurch will man die Patientinnen mit intrauteriner Infektion von gesunden Schwangeren abgrenzen, die zum Teil eine leicht erhöhte Temperatur während der Wehentätigkeit aufzeigen, auch ohne von einer Infektion betroffen zu sein [37].

Intrauterine Infektionen sind jedoch oft asymptomatisch. Symptomatisch wird die Infektion meist nur durch vorzeitig einsetzende Wehen und die Ruptur der Fruchtblase. So stellte der Arbeitskreis um Guzick 1985 fest, dass auch bei histologisch gesicherten Infektionen des Chorioamnions außer der Wehentätigkeit keine anderen Symptome wie etwa Fieber, Abdominalschmerzen oder erhöhte Leukozyten im peripheren Blut nachweisbar waren. In der Regel gab es auch keine Anzeichen einer fetal Tachykardie [60]. Daraus lässt sich ableiten, dass es ausgesprochen schwierig ist, Frauen mit einem Amnioninfektionssyndrom zu identifizieren, da die klinischen Symptome nicht spezifisch für ein intrauterines Infektionsgeschehen sind. Zudem manifestieren sich die Symptome erst relativ spät und können nicht zur frühen Risikoeinschätzung einer Infektions-assoziierten Frühgeburt verwendet werden [61].

Die häufig herangezogenen Laborparameter C-reaktives Protein, Leukozyten und Procalcitoninkonzentration im mütterlichen Serum sind ebenfalls nicht spezifisch und damit

nicht verlässlich für die Diagnose einer intrauterinen Infektion [62-64]. Die Histologie ist zur Diagnosestellung nicht geeignet, da sie erst retrospektiv (das heißt nach der Geburt) den Nachweis einer Chorioamnionitis liefern kann. In der Histologie sind bei Chorioamnionitis entzündlich und nekrotisch veränderte Areale in der gesamten Chorionplatte und dem Amnion typisch [65].

Da weder Klinik noch die genannten Laborparameter spezifisch für eine intrauterine Infektion sind und die Entscheidung für eine Entbindung (mit daraus zum Teil resultierender Frühgeburtlichkeit) von der Diagnose abhängt, ist es wichtig weitere Parameter und Infektionsmarker für die frühe Diagnosestellung einer intrauterinen Infektion zu finden. Etabliert haben sich hier in ausgewählten Fällen die Durchführung einer Amnioxentese und die nachfolgende Untersuchung des gewonnenen Fruchtwassers.

#### **1.2.4 Invasive Diagnostik: Amnioxentese**

Da die Amnionflüssigkeit bei intrauteriner Infektion direkt betroffen ist, können durch die Amnioxentese und die anschließende Analyse des Fruchtwassers aussagekräftigere Ergebnisse in Bezug auf das Vorhandensein einer intrauterinen Infektion im Vergleich zu Serummessungen gewonnen werden. Die Amnioxentese gilt deshalb derzeit noch als Goldstandard in der Diagnostik einer intrauterinen Infektion [37]. Nachteiliger Aspekt der Amnioxentese sind die Komplikationen, die bei dem invasiven Eingriff entstehen können. Hierzu zählen insbesondere der vorzeitige Blasensprung, Blutungen oder das Verschleppen von neuen Keimen in die Fruchthöhle [37].

##### **1.2.4.1 Erregerkulturen aus dem Fruchtwasser**

Es besteht die Möglichkeit eines Keimnachweises durch Kultivierung von Erregern aus dem Fruchtwasser. Jedoch konnten Hampl et al. bei nur 20-25% der Fruchtwasserproben von Frauen mit Frühgeburten Erreger nachweisen [61]. Wie oben bereits beschrieben, können auch inflammatorische Entzündungsreaktionen ohne Erregernachweis zu einer Frühgeburt führen. Weiterhin beweist ein Erregernachweis noch keine intrauterine Infektion, da auch eine Besiedlung mit Bakterien (Kolonisation) ohne Infektion vorliegen kann. Ein weiterer Nachteil des kulturellen Keimnachweises besteht darin, dass man eine Wartezeit von mindestens 48 Stunden für die kulturelle Anzucht in Kauf nehmen muss [37].

#### **1.2.4.2 Infektionsmarker im Fruchtwasser**

Bei Patientinnen mit Amnioninfektionssyndrom konnten unterschiedliche Zusammensetzungen des Fruchtwassers im Vergleich zu gesunden Frauen festgestellt werden. So fand man bei den Frauen mit intrauteriner Infektion zusätzlich zu bakteriellen Erregern (allerdings unspezifisch) auch unter anderem niedrigere Glucosespiegel, höhere Leukozytenkonzentrationen sowie höhere Mengen von Komplement C3 und Zytokinen (u.a. Interleukin-6) [66-68]. Wir wollen in der vorliegenden Arbeit nun näher auf die Zytokine im Fruchtwasser eingehen.

Zytokine sind interzelluläre Signalpeptide, die typischerweise eine Masse zwischen 6 und 70 kDa besitzen und autokrin, parakrin oder endokrin wirken können. Zytokine sind hormonähnliche Stoffe, die an ihrem Zielort pleiotrope Funktionen ausführen [69]. So sind Zytokine an den Prozessen der Immunabwehr und der Entzündung beteiligt, aber auch an der Regulierung der Ontogenese, der Gewebereparatur, der Kontraktilität in Herz und Gefäßen sowie an der Aufrechterhaltung von Körperprozessen und des Zellsterbens [70]. Die Komplexität des Zytokinnetzwerks entsteht zum einen durch die Vielzahl der Funktionen, die die einzelnen Zytokine innehaben und zum anderen aus dem Zusammenspiel der einzelnen Zytokine miteinander. Zytokine können sich gegenseitig beeinflussen und die Aktivität anderer Zytokine verändern. Durch diese gegenseitige Umfunktionierung kann ein durch andere Zytokine modifiziertes Zytokin auch eine entgegengesetzte Funktion entwickeln [71].

Insbesondere im Zusammenhang mit aszendierenden Infektionen haben Zytokine eine große Bedeutung in der Genese der Frühgeburt [72]. Daher beschäftigen wir uns in der vorliegenden Arbeit mit den Zytokinen IL-8, IL-4 sowie MIP-1alpha, MIP-1beta und GROalpha und evaluieren deren Verwendbarkeit in der Diagnostik intrauteriner Infektionen.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Messungen der Zytokinkonzentrationen im Fruchtwasser spezifischere Ergebnisse bezüglich der Diagnostik einer intrauterinen Infektion erbrachten als die bisher verwendeten Parameter. Folglich etablieren sich Zytokine (aktuell v.a. IL-6) zunehmend als wichtige Infektionsmarker für die Diagnose einer intrauterinen Infektion [61, 73].

## Interleukin-6

Von den Zytokinen ist Interleukin-6 aktuell der am besten untersuchte Biomarker. Interleukin-6 zählt wie auch TNF-alpha, IL-1, IL-8, MIP-1alpha und MIP-1beta zu den proinflammatorischen Zytokinen und spielt eine zentrale Rolle in den Prozessen der angeborenen und unspezifischen Immunantwort. Weiterhin gilt IL-6 als wichtige Vermittlersubstanz zwischen dem unspezifischen und dem spezifischen Immunsystem [74-77].

Die IL-6 Konzentration im Fruchtwasser ist der derzeit etablierteste Parameter in der Diagnostik intrauteriner Infektionen [78-80]. Interleukin-6 besitzt einen besseren Vorhersagewert für eine intrauterine Infektion im Vergleich zu den oben genannten Parametern. Beispielsweise ist die Sensitivität der IL-6-Konzentration im Fruchtwasser signifikant höher als die Erstellung einer Kultur aus der Fruchtwasserprobe [73]. Interleukin-6 besitzt bei einer Fruchtwasserkonzentration von über 17 ng/ml eine Sensitivität von 79% und eine Spezifität von 100% für eine akute und histologisch gesicherte Chorioamnionitis [73]. Allerdings ist die klinische Anwendung von Interleukin-6 zur Diagnostik einer intrauterinen Infektion nur bedingt möglich, da man herausgefunden hat, dass die Grenzbereiche der Interleukin-6 Konzentration im Fruchtwasser interindividuell stark variieren können und es somit schwierig ist pathologische Grenzen zu definieren (siehe auch Kapitel 2.2.4). Sowohl Ghidini et al. wie auch Putz et al. beschrieben eine große interindividuelle Spannweite der Interleukin-6 Konzentration [81-82].

Weiterhin wurden aktuell auch mehrere Studien veröffentlicht, in denen IL-6 als ungeeigneter Parameter und als nicht spezifisch genug für die Diagnostik einer intrauterinen Infektion beschrieben wurde [83-86].

Folglich ist Interleukin-6 als alleiniger Parameter zur Diagnostik eines Amnioninfektionssyndroms unzureichend. Kontrovers betrachtet wird ebenfalls, dass Interleukin-6 in vielen Kliniken als Entscheidungshilfe herangezogen wird, wenn es darum geht das Ausmaß der Gefährdung des Fetus durch eine intrauterine Infektion zu evaluieren und gegebenenfalls die frühzeitige Entbindung anzustreben.

## Interleukin-8

IL-8 ist ein Botenstoff aus der Gruppe der CXC-Subfamilie der Chemokine. Gebildet wird IL-8 insbesondere von Makrophagen und Epithelzellen, die zuvor durch proinflammatorische Zytokine wie TNF und IL-1 stimuliert wurden. Da aber auch viele weitere Zellen (beispielsweise auch Fibroblasten und Hepatozyten) in Anwesenheit erhöhter TNF und IL-1 Konzentrationen IL-8 produzieren können, kann IL-8 in allen Geweben vorkommen. Dabei werden Monozyten, alveolare Makrophagen und Endothelzellen zusätzlich durch Lipopolysaccharide (LPS) zur Produktion von IL-8 aktiviert [87-89].

IL-8 ist als Chemokin zur Chemotaxis und Aktivierung neutrophiler Leukozyten befähigt [88, 90-91]. Dabei geht man davon aus, dass IL-8 eine zentrale Signalsubstanz für die lokale Wanderung und Akkumulation von Leukozyten aus dem Blut in das Gewebe darstellt. Weiterhin wird IL-8 in der Literatur eine antiapoptotische Wirkung zugeschrieben [92]. Die Effekte des Interleukin 8 werden durch die Bindung an G-Protein gekoppelte Rezeptoren vermittelt, die zur Auslösung einer Signaltransduktionskaskade führen. Weiterhin entfaltet IL-8 seine Wirkung als Angiogenesefaktor an Endothelzellen und fördert deren Proliferation. Dieser Mechanismus wird durch die IL-8 induzierte Freisetzung von Metalloproteasen aufrecht erhalten, welche Extrazellulärmatrix zersetzen [93-94]. Die Funktion von Interleukin-8 in Bezug auf Schwangerschaft und Geburtseinleitung ist noch nicht vollständig geklärt [95], jedoch verstärkt sich durch mehrere bereits durchgeführte Studien die Annahme, dass IL-8 in dem Pathomechanismus der intrauterinen Infektionen eine wichtige Rolle spielt [96-97]. So kamen mehrere Arbeitsgruppen, unter anderem die Arbeitsgruppe um Romero wie auch um Saji und um Puchner, zu dem Ergebnis, dass intrauterine Infektionen mit erhöhten IL-8 Werten einhergehen [95, 98-100].

Auffällig ist die hohe Variation des Expressionslevels von IL-8. So findet man das Interleukin nur in sehr geringer Konzentration in gesundem Gewebe, jedoch in zehn- bis hundertfach erhöhter Konzentration in Anwesenheit inflammatorischer Zytokine (vor allem TNF oder IL-1), bei dem Vorhandensein bakterieller oder viral er Antigene und bei zellulärem Stress [101].

## Interleukin-4

Interleukin-4 zählt wie Interleukin-8 zu der Familie der Interleukine. Gebildet wird es vorwiegend von Th2-Zellen und Mastzellen. Seine Effekte werden in Form einer Signaltransduktionskaskade vermittelt, die nach Bindung an den IL-4 Rezeptor mit Hilfe einer Januskinase abläuft [102]. Eine Hauptaufgabe von IL-4 besteht in der Aktivierung von T-Zellen und deren Proliferation. So ist IL-4 an dem Differenzierungsschritt der naiven CD4+ T-Zellen (Th0) zu reifen Th2-Zellen beteiligt. Weiterhin führt IL-4 in B-Zellen zu einem Antikörperklassenwechsel mit verstärkter IgE-Bildung in den B-Lymphozyten. IL-4 wird wie IL-10 zu den anti-inflammatorischen Zytokinen gerechnet, da es die Aktivität der Th1-Zellen und die der Makrophagen hemmt. Zusätzlich kommt es dadurch zu einer Downregulierung von IL-2 und IFN- $\gamma$ . Durch die Hemmung der Th1-Zellen und damit der zellvermittelten Immunität verschiebt IL-4 den Schwerpunkt der Immunantwort von der zellulären auf die humorale Abwehr [103-106]. Weiterhin wurde ein antitumoröser Effekt von IL-4 beschrieben [107].

## MIP-1alpha und MIP-1beta

Das „Makrophage Inflammatory Protein 1“ (MIP-1) gehört der Gruppe der Chemokine und der Subklasse der C-C Chemokine an. Das Peptid wird von vielen verschiedenen Zellen ausgeschüttet. Vor allem aktivierte T-Zellen, B-Zellen, Monozyten und Mastzellen sind an seiner Produktion beteiligt [108-109].

MIP-1beta ist in der Amniosäuresequenz zu 65% identisch zu MIP-1alpha. Dies erklärt, dass die beiden Peptide sowohl identische als auch unterschiedliche Funktionen besitzen [110]. Dabei wird die durch MIP-1alpha und MIP-1beta induzierte zelluläre und humorale Immunität durch eine kostimulierte Molekülexpression verstärkt [111]. Sowohl MIP-1alpha als auch MIP-1beta zeigen chemotaktische Aktivität gegenüber Monozyten und können weiterhin T-Lymphozyten anlocken sowie deren Adhäsion fördern [112].

Zusätzlich kann MIP-1alpha chemotaktisch auf B-Zellen wirken [113], eosinophile Leukozyten anlocken und deren Degranulation fördern [114] sowie Basophile anlocken und die Histaminfreisetzung von Basophilen und Mastzellen stimulieren [108, 115].

Weiterhin wurde MIP-1 $\alpha$  als ein Stammzellinhibitor beschrieben, der die Proliferation von hämatopoetischen Stammzellen inhibieren kann. Die Aktivität von MIP-1beta auf diese Zellpopulationen wurde als 20-fach schwächer im Vergleich zu MIP-1alpha angegeben [110].

In der Aktivierung der humoralen Immunantwort lassen sich zwischen MIP-1alpha und MIP-1beta Unterschiede erkennen. So fördert MIP-1alpha vermehrt die IgG- und IgM-Produktion, während MIP-1beta vermehrt die Immunantwort durch IgE und IgA stimuliert [111].

Auch in der Anlockung von CD4+ und CD8+ T-Zellen bestehen zwischen den beiden Chemokinen Unterschiede. So wurde beschrieben, dass MIP-1beta vor allem CD4+ T-Lymphozyten anlockt und eine Präferenz für naive T-Zellen besitzt. MIP-1alpha weist in seiner Funktion als Chemokin ein weiteres Spektrum als MIP-1beta auf, wobei es insbesondere auf B-Lymphozyten und CD8+ T-Lymphozyten wirkt [111, 113].

Die Effekte der beiden Chemokine werden wie die Effekte von IL-8 und GROalpha durch G-Protein gekoppelte Rezeptoren vermittelt [112-113].

Sowohl MIP-1alpha als auch MIP-1beta spielen eine Schlüsselrolle in der Induktion und Modulation von Entzündungsreaktionen und dem Zustandekommen einer Wirtsabwehr [109]. In der frühen Diagnosestellung einer intrauterinen Infektion könnten sich diese beiden Zytokine daher als interessante Infektionsmarker darstellen.

### **GROalpha**

Das „Growth regulated oncogen alpha“ (GROalpha) ist ein strukturell mit IL-8 verwandtes Zytokin, das ebenfalls zur CXC-Familie gezählt wird. Ursprünglich wurde es als „melanoma growth stimulating factor“ bezeichnet. Bei weiteren Untersuchungen entdeckte man, dass es neben wachstumsregulierenden und antiapoptotischen Funktionen [92] genau wie IL-8 einen starken Aktivator der neutrophilen Leukozyten darstellt und zu deren Akkumulation im

Gewebe führt. Diese Funktion von GROalpha wurde auch in Assoziation mit intrauterinen Infektionen beschrieben. So führt GROalpha zu einer Immigration der neutrophilen Leukozyten in die Uterushöhle [116]. GROalpha wird von verschiedenen Tumorzellen wie den Melanom- und Glioblastomzellen, aber auch von normalen Zellen wie Monozyten, Endothelzellen, Fibroblasten und Synoviazellen gebildet. LPS, IL-1 und TNF stimulieren in diesen Zellen die Produktion von GROalpha [117-118].

#### ***1.2.4.3 Infekionsmarker im Schwangerschaftsverlauf***

Vor der 20. SSW sind vor allem die bakterielle Vaginose, hohe Konzentrationen von Fibronektin in Vaginalsekreten [119] und eine kurze Zervixlänge mit einer chronischen Infektion assoziiert. Nach der Hälfte der Schwangerschaftszeit besteht bei Anstieg von Fibronektin und Zytokinen wie IL-6 und IL-8 in den zervikalen und vaginalen Sekreten bei asymptomatischen Frauen eine Gefahr für eine drohende Frühgeburt. Weiterhin besteht das Risiko einer Frühgeburt bei dem Nachweis einer kurzen Zervixlänge mittels Ultraschall und bei erhöhtem Granulozyten-Kolonie stimulierendem Faktor sowie einer erhöhten Ferritinkonzentration im Serum. Zwischen der 20. und 28. SSW sind schließlich die frühzeitigen Wehen selbst ein Hinweis auf eine intrauterine Infektion. Dieser Hinweis verstärkt sich bei zusätzlichem Vorhandensein einer kurzen Zervixlänge, hoher Fibronektin-Konzentrationen in Zervix oder Vagina oder hoher Konzentrationen von IL-6 und IL-8 in Serum, Fruchtwasser sowie in der Zervix- oder Vaginalflüssigkeit [5].

Auch die Zytokinexpression kann im Verlauf der Schwangerschaft Schwankungen unterliegen. So konnten die Ergebnisse mehrerer Studien, unter anderem die der Studien von Wenstrom und Andrews et al., aufzeigen, dass die IL-6 Konzentration im Fruchtwasser mit steigendem Gestationsalter abnahm [66, 120]. Eine positive Korrelation der IL-8 Konzentrationen mit steigendem Gestationsalter konnte unter anderem von den Arbeitsgruppen um Elliott und Neunhoeffer festgestellt werden [121-122]. Cohen et al. publizierten in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen Gestationsalter und den GROalpha Konzentrationen im Fruchtwasser. Ihre Ergebnisse zeigten einen Anstieg der GROalpha Konzentration mit steigendem Gestationsalter [116]. Insgesamt gibt es zu Zytokinen im Schwangerschaftsverlauf wenige Daten und kaum Literatur, weshalb sich bisher keine sichere Aussage zu IL-4, MIP-1alpha und MIP-1beta in Bezug auf eine Assoziation mit dem Gestationsalter treffen lässt. In der vorliegenden Arbeit haben wir

aufgrund der bisher spärlichen Datenlage zu Zytokinen im Schwangerschaftsverlauf unsere Zytokine (IL-8, IL-4, MIP-1alpha, MIP-1beta und GROalpha) zum einen in Bezug auf das Vorhandensein einer intrauterinen Infektion untersucht und zum anderen ihre Konzentrationen im Verlauf der Schwangerschaft analysiert.

### 1.3 Fragestellung

Da die intrauterine Infektion einen wichtigen Risikofaktor für mütterliche und kindliche Morbidität und Mortalität darstellt, ist es von großer Bedeutung spezifische und sensitive Parameter zu finden, die die intrauterine Infektion diagnostisch sichern und eine frühzeitige Therapie mit einem dadurch verbesserten Behandlungserfolg erlauben. Zurzeit wird die Diagnose des Amnioninfektionssyndroms vor allem anhand klinischer Parameter gestellt, da - wie bereits erläutert - noch kein geeigneter Biomarker zur Diagnosestellung einer intrauterinen Infektion gefunden werden konnte, der in der klinischen Praxis anwendbar wäre.

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden in unseren Versuchen die Zytokine IL-8, IL-4 sowie MIP-1alpha, MIP-1beta und GROalpha untersucht. Ziel dabei war, das Zytokinexpressionsmuster von IL-8, IL-4, MIP-1alpha, MIP-1beta und GROalpha im Fruchtwasser bei Patientinnen mit Amnioninfektionssyndrom zu analysieren und deren Bedeutung für die Früherkennung einer intrauterinen Infektion zu evaluieren. Signifikante Unterschiede in der Expression dieser Biomarker im Vergleich zu gesunden Schwangeren könnten in Zukunft der früheren Diagnosefindung des Amnioninfektionssyndroms dienen und das Outcome bei Mutter und Kind verbessern. Außerdem wäre es möglich durch die Messungen der einzelnen Zytokine im Fruchtwasser neue Erkenntnisse bezüglich der Pathomechanismen intrauteriner Infektionen und deren Folgen zu gewinnen.

## **2 Patientinnen, Material und Methode**

### **2.1 Studiendesign**

Für unsere Studie, in der wir die Konzentrationen von fünf Zytokinen (IL-8, IL-4, MIP-1alpha, MIP-1beta und GROalpha) im Fruchtwasser unserer Patientinnen analysierten und im Verlauf der Schwangerschaft verfolgten, wählten wir ein prospektives Studiendesign. Die Ethikkomission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München prüfte unsere Studie und gab ihr Einverständnis zu deren Durchführung. Patientinnen, die in unsere Studie eingebunden wurden, erhielten im Vorfeld eine mündliche Aufklärung über den Ablauf der Studie und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme. In unserer Studie erhobene Daten der Patientinnen wurden anonymisiert gespeichert um einen ausreichenden Datenschutz sicherzustellen.

### **2.2 Patientinnen**

Für die Studie wurden 225 Patientinnen im Zeitraum von 2007 bis 2010 in der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Ludwig-Maximilians-Universität München untersucht. Alle Patientinnen wurden anamnestisch nach Beschwerden, Antibiotikaeinnahme sowie sexuellen und vaginalen Vorerkrankungen befragt. Weiterhin wurde bei ihnen ein Screening auf kindliche Entwicklungsstörungen und kindliche Krankheiten durchgeführt. Die Altersspanne der Patientinnen lag zwischen 19 und 48 Jahren, wobei das Durchschnittsalter der Mütter zum Zeitpunkt der Fruchtwasserentnahme 35 Jahre betrug. Der Zeitpunkt der Fruchtwasserentnahme fand dabei im Median in der 38. SSW (von der 15. SSW bis zur 42. SSW) statt.

Alle Patientinnen wurden über die Studie informiert und gaben Ihr Einverständnis an der Teilnahme und Probengewinnung.

Die Patientinnen wurden von uns in die folgenden vier Gruppen unterteilt:

- Gruppe 1 „Amniozentesen“: Diese Gruppe wurde von Frauen gebildet, bei denen aufgrund verschiedenster medizinischer Indikationen eine Amniozentese durchgeführt wurde

- Gruppe 2 „Sectiones caesareae“: Diese Gruppe bestand aus Frauen, deren Kinder durch eine Sectio caesarea entbunden wurden
- Gruppe 3 „Spontangeburten“: In dieser Gruppe wurden die Spontangebärenden zusammengefasst
- Gruppe 4 „Amnioninfektionssyndrom“: Diese Gruppe beinhaltete die Patientinnen mit Verdacht auf eine intrauterine Infektion im Sinne eines Amnioninfektionssyndroms

### 2.2.1 Gruppe 1: Amnizentesen (AC)

Von 225 Frauen, die wir insgesamt untersucht haben, bezogen wir von 77 Frauen das Fruchtwasser aus einer medizinisch indizierten Amnizentese. Die häufigste Indikation für die Durchführung der Amnizentese stellte das erhöhte Alter ( $> 35$  Jahre) der Patientinnen dar (35%), welches mit einer erhöhten Rate an Fehlbildungen des Fetus assoziiert ist. Die zweithäufigste Entscheidung für diese Intervention stellten sonographisch sichtbare Fehlbildungen des Fetus dar (22%). 8% der Amnizentesen wurden auf Wunsch der Eltern durchgeführt. In der nachfolgenden Abbildung (Abbildung 2) werden die häufigsten Indikationen für die Durchführung der Amnizentese bei Patientinnen dieser Gruppe graphisch veranschaulicht dargestellt.

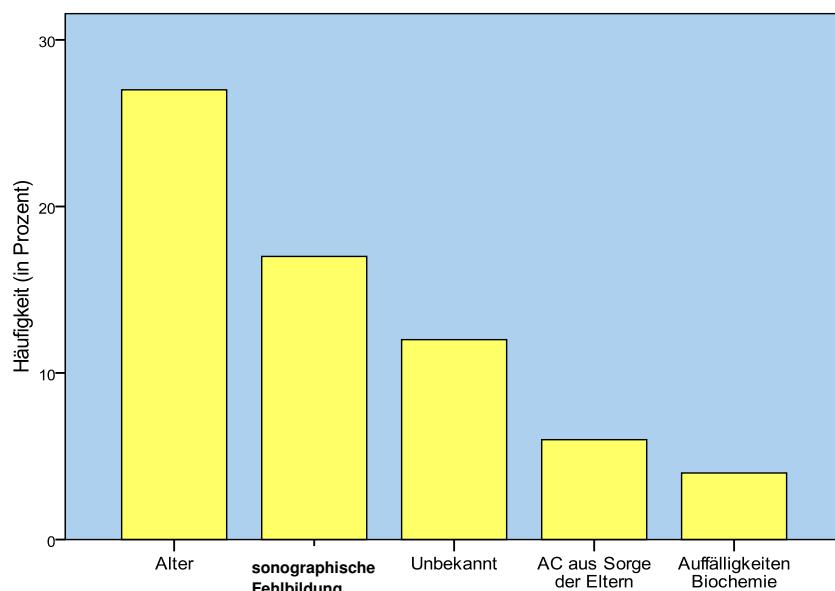


Abbildung 2: Verteilung der Häufigkeit der Indikationen für die Durchführung einer Amnizentese

## 2.2.2 Gruppe 2: Sectiones casareae (Sectiones)

Diese Gruppe umfasste 112 unserer Patientinnen. Dabei handelte es sich in 87,5% um Frauen mit einer primären Sectio caesarea und in 12,5% um Frauen mit einer sekundären Sectio caesarea. Wir achteten darauf, dass nur Patientinnen mit intakter Fruchtblase in unsere Studie aufgenommen wurden um Patientinnen mit Blasensprung ausschließen zu können.

Die Indikation zu einer Sectio caesarea wurde am häufigsten bei Patientinnen gestellt, die bereits eine stattgefundene Sectio caesarea in der Anamnese aufwiesen (38%). Die wichtigsten und häufigsten Indikationen, die zur Entscheidung einer primären Sectio caesarea führten, werden in der folgenden Abbildung (Abbildung 3) dargestellt.

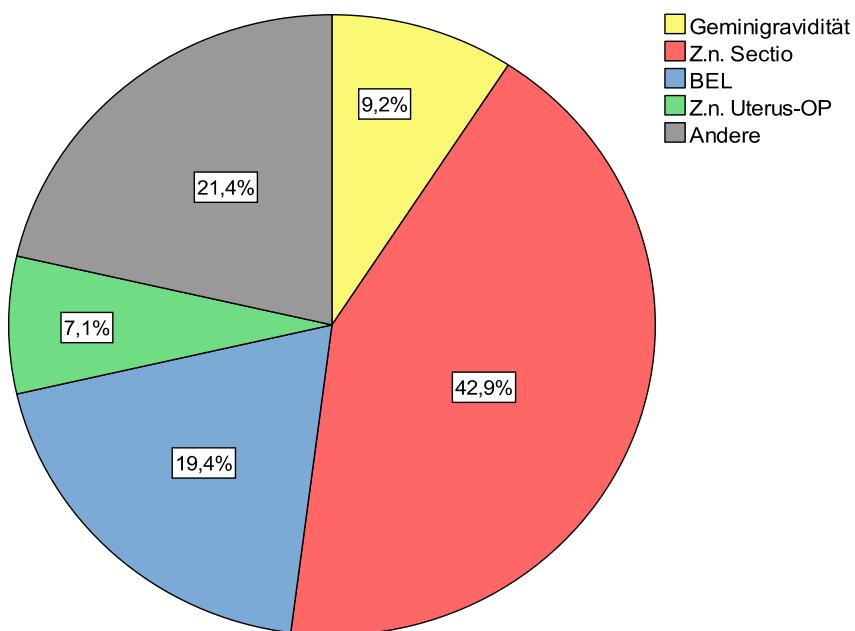


Abbildung 3: Die häufigsten Indikationen für die Durchführung einer primären Sectio

## 2.2.3 Gruppe 3: Spontangeburten (SG)

23 der untersuchten Fruchtwasserproben wurden bei Patientinnen ohne Infektionsanamnese bei der Spontangeburt entnommen. Das Alter lag im Median ebenso wie bei den Patientinnen mit Sectiones caesareae bei 34 Jahren (24-44 Jahre). Bei den Spontangeburten fand die Fruchtwasserentnahme während der Geburt statt, daher stammen die Proben dieser Gruppe von Patientinnen, die bereits in der 34. bis 42. Woche

schwanger waren. Im Median war es die 40. SSW, in der die Geburt und somit auch die Fruchtwasserentnahmen stattgefunden hat.

#### **2.2.4 Gruppe 4: Amnioninfektionssyndrom (AIS)**

Bei 13 Patientinnen bestand der klinische Verdacht auf eine intrauterine Infektion. Dieser Verdacht wurde anhand klinischer Symptome wie mütterliches Fieber, druckdolenter Uterus, vorzeitiges Einsetzen von Wehen und Anstieg von CRP und Leukozyten im maternalen Serum gestellt. Auch wurden Amnionzentesen durchgeführt und erhöhte Werte von IL-6 im Fruchtwasser gemessen. Auf eine retrospektive Chorioamnionitis verzichteten wir hingegen. Bei den Frauen mit Verdacht auf eine intrauterine Infektion wurden im Vergleich zu der Kontrollgruppe (bestehend aus den anderen drei Gruppen ohne Verdacht auf eine intrauterine Infektion: Amnionzentesen, Sectiones caesareae und Spontangeburten) erhöhte Entzündungsparameter festgestellt, auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll. So betrug die Zahl der Leukozyten im Serum der Patientinnen mit intrauteriner Infektion im Median 14.400 Leukozyten/ $\mu$ l (Kontrollgruppe im Median 10.800/ $\mu$ l), siehe auch Abbildung 6. Der CRP-Spiegel im Blut der Patientinnen mit Verdacht auf eine intrauterine Infektion betrug im Median 2,4 mg/dl (Kontrollgruppe im Median 0,6 mg/dl), siehe auch Abbildung 5. Verstärkte sich der Hinweis auf eine intrauterine Infektion anhand der Klinik und der erwähnten Entzündungsparameter, so wurde eine Fruchtwasserprobe entnommen um Erregerkulturen anzulegen und die Interleukin-6 Konzentration (im Labor unserer Frauenklinik) bestimmen zu können. Diese Fruchtwasserentnahmen fanden zwischen der 17. und der 34. SSW statt. Im Median wurden die Fruchtwasserproben in der 27. SSW gewonnen. Bei den 16 abgenommenen Fruchtwasserproben zeigte sich, dass mit Ausnahme einer sterilen Probe alle untersuchten Fruchtwasserproben Keime enthielten. Die Messungen der Interleukin-6 Konzentrationen im Fruchtwasser ergaben einen Median von 3.744 pg/ml. Die Grenze von physiologischen zu pathologischen Konzentrationen von Interleukin-6 im Fruchtwasser ist in der Literatur uneinheitlich. In unserer Klinik betrachten wir Konzentrationen über 10.000 pg/ml als pathologisch und als einen Hinweis auf das mögliche Vorliegen einer intrauterinen Infektion. Die Entscheidung zur Beendigung der Schwangerschaft mittels Kaiserschnitt wurde jedoch nicht alleine von den IL-6-Werten abhängig gemacht, sondern in Zusammenschau mit der entsprechenden Klinik und situationsgerecht getroffen.

## **2.3 Durchführung der Fruchtwasserentnahmen**

Nach einer schriftlichen Einwilligung der Patientinnen wurde den Frauen eine Fruchtwasserprobe entnommen. Die Methode der Fruchtwasserentnahme richtete sich nach der jeweiligen Gruppe, der die Patientin angehörte.

### **2.3.1 Fruchtwassergewinnung durch Amniosentese bei Gruppe 1 und 4**

Die Fruchtwasserproben der Patientinnen der Gruppe 1 („Amniosentesen“) und der Gruppe 4 („Amnioninfektionssyndrom“) wurden durch eine Amniosentese gewonnen. Der Ablauf der Amniosentese war dabei in beiden Gruppen analog. Zur Vorbereitung des invasiven Eingriffes wurden die benötigten Materialien wie sterile Handschuhe, sterile Tupfer und Tücher, sterile Pflaster, eine sterile Spritze (20ml) mit Verschlusskappe und eine sterile Punktionskanüle (20 G x 3,5) zunächst auf einem sterilen Tuch angerichtet. Bei der auf dem Rücken liegenden Patientin wurde nun mittels Ultraschall eine zur Punktion geeignete Stelle ermittelt. Danach erfolgte eine großflächige Desinfektion des Bauches mit anschließendem Abdecken der Punktionsstelle durch sterile Tücher. Dieser Schritt wie auch die nachfolgenden sollten dabei immer mit sterilen Handschuhen durchgeführt werden. Auch der Ultraschallkopf wurde desinfiziert und mit sterilen Tüchern abgedeckt. Unter fortlaufender sonographischer Kontrolle und sterilen Bedingungen wurde die Punktionskanüle in die Amnionhöhle eingeführt. Sobald sich die Kanüle an der gewünschten Stelle befand, wurde der in ihr befestigte Mandrin herausgenommen und die sterile Spritze aufgesteckt. Den Patientinnen wurde dabei etwa 15 bis 20 ml Amnionflüssigkeit entnommen. Nach dem Entfernen der Kanüle wurde auf die Punktionsstelle ein steriles Pflaster geklebt. Nachfolgend wurde zur Kontrolle immer noch einmal eine Sonographie durchgeführt und ein CTG geschrieben. Das Fruchtwasser wurde dann je nach Fragestellung im Labor der Frauenklinik weiter untersucht. Im Fruchtwasser der Patientinnen mit Verdacht auf eine intrauterine Infektion wurden unter anderem die IL-6 Werte bestimmt. Zusätzlich wurden diese Proben in ein mikrobiologisches Labor gebracht um das Fruchtwasser auf pathogene Keime zu untersuchen und Erregerkulturen anzulegen. Amnionflüssigkeit, die nicht zur sofortigen Untersuchung benötigt wurde, wurde mithilfe von Spritzen mit sterilen Aufsätzen zeitnah ins Labor transportiert um unseren Zytokinmessungen zur Verfügung zu stehen. In unserem Labor wurden dann 2 ml Fruchtwasser in Mikroküvetten pipettiert und bis zur Durchführung der ELISAS bei -80 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Weiterhin wurden

die Mikroküvetten mit Nummern versehen, durch die die Fruchtwasserproben den einzelnen Patientinnen weiterhin zugeordnet werden konnten.

### **2.3.2 Fruchtwassergewinnung während der Geburt bei Gruppe 2 und 3**

Bei Patientinnen der Gruppe 2 („Sectiones caesareae“) und der Gruppe 3 („Spontangebärende“) wurden die zu analysierenden Fruchtwasserproben während der Geburt gewonnen.

So wurde Patientinnen mit einer Sectio caesarea (Gruppe 2) und keinem vorzeitigen Blasensprung im Rahmen der Uterotomie und der Eröffnung der Fruchtblase 10 bis 15 ml Fruchtwasser intraoperativ mit einer sterilen Spritze (10 ml) entnommen. Das Pipettieren der Amnionflüssigkeit in die Mikroküvetten und das anschließende Konservieren und Nummerieren erfolgte wie oben beschrieben bei allen Fruchtwasserproben unseres Patientinnenkollektives analog.

Spontangebärenden Patientinnen (Gruppe 3) wurden die Fruchtwasserproben während der Spontangeburt im Zuge einer Amniotomie aus dem hinteren Scheidengewölbe mittels Spekulummeinstellung aus dem hinteren Spekulumballd entnommen. Die Indikationen zur Amniotomie ergaben sich aus dem Geburtsverlauf. Der Ablauf der Probengewinnung und die Aufbewahrung des Fruchtwassers lief analog zur Gruppe der Sectiones caesareae (Gruppe 2) ab.

## **2.4 Material**

### **2.4.1 Geräte und Materialien**

- Kühlschrank „Cooler“ (Siemens AG, München, Germany)
- Eisschrank (-32°C) „Premium NoFrost“ (Liebherr, Kirchdorf, Germany)
- Eisschrank (-80°C) „Forma 900 Series“ (Thermo Fisher Scientific, 81 Wyman Street, Waltham, MA 02454 USA)
- Kühlkammer (Kajetan Hierhammer, München, Germany)
- Eisherstellungsmaschine „AF 80“ (Scotsman Ice Systems, Vernon Hills, USA)
- Vortexgerät „Genie II“ (Bender & Hobein, Zürich)

- Rüttler „Vari-Shaker“ (Dynatech, Guernsey, Great Britain)
- Zentrifuge “MiniSpin” (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Pipettierhilfe „Easypet“ (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Pipettierhilfe-Einsatz „Serological pipet“: 5 ml, 10 ml (Falcon, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA)
- Pipettierhilfe-Einsatz „Serologische Pipette (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany)
- Einkanal-Pipette „Research“: 0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Mehrkanal-Pipette „Research“, 8-fach: 30-300 µl (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Mehrkanal-Pipettier-Reservoir (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Pipettenspitzen „epT.I.P.S. Filter“: 10 µl, 100 µl, 1000 µl (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Pipettenspitzen „epT.I.P.S. Dualfilter“: 300 µl (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Reaktionsgefäße „SafeLock Tubes“: 1,5 ml, 2 ml (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)
- Polypropylen-Röhrchen „Blue Max Conical Tube“: 15 ml, 50 ml (Falcon, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA)
- Glasbehälter 500 ml (Biochrom KG, Berlin, Germany)
- Reaktionsgefäßständer „Tube Rack“ (Microtest Laboratories, Agawam, USA)
- Styropor-Behältnis für Mikroküvetten (Sarstedt, Nümbrecht, Germany)
- Einweghandschuhe puderfrei (Hartmann AG, Heidenheim, Germany)
- Mikroplatten „Quantikine®“ (R&D Systems, Inc., McKinley Place NE, Minneapolis, USA)

- ELISA-Reader „Microplate Reader MRX II“ (Dynex Technologies, Chantilly, USA)
- Auswertungssoftware „Revelation“, Version 4.22 (Dynex Technologies, Chantilly, USA)

#### **2.4.2 Reagenzien**

Die Reagenzien stammen alle aus dem Immunoassay-Kit „Quantikine®“ (R&D Systems, Inc., McKinley Place NE, Minneapolis, USA).

- MIP-1alpha, MIP-1beta, GROalpha, IL-4 und IL-8 Konjugat
- MIP-1alpha, MIP-1beta, GROalpha, IL-4 und IL-8 Standard
- (Proben-)Verdünnungsmittel RD1U (MIP-1alpha und GROalpha), RD-1X (MIP-1beta), RD1-32 (IL-4) und RD1-85 (IL-8),
- Kalibrator Verdünnungsmittel RD6F (MIP-1alpha), RD60 (MIP-1beta), RD6A (GROalpha), RD6-9 (IL-4), RD6Z (IL-8)
- Gepufferte Waschlösung (25 x Konzentrat)
- Farbreagenz A (stabilisiertes Hydrogen Peroxid) und B (stabilisiertes Chromogen; Tetramethylbenzidine)
- Stopplösung
- Klebestreifen

#### **2.4.3 Herstellung der Standardverdünnungsreihe**

Der jeweilige Standard zur Bestimmung der einzelnen Zytokine wurde bei den Immunoassay Kits der Firma R&D Systems als Pulver geliefert. Zur Herstellung der Standardlösung musste dieses Pulver mit einer festgelegten Menge an Standardpuffer (beziehungsweise Kalibrator Verdünnungsmittel) vermischt werden. Da die benötigte Menge an Standardpuffer für jedes Zytokin unterschiedlich war, werden die einzelnen Standards im Folgenden getrennt beschrieben.

Gemeinsam war allen Standards, dass sie nach dem Auflösen mit dem Kalibrator Verdünnungsmittel mindestens 15 Minuten unter leichter Bewegung inkubiert werden mussten, bevor man sie für die Verdünnungsreihe verwenden konnte. Das aufgelöste Standardpulver diente hierbei immer als am höchsten konzentrierter Standard der Verdünnungsreihe und das Kalibrator Verdünnungsmittel wurde als Nullstandard mit einer Konzentration von 0 pg/ml definiert.

#### **2.4.4 Herstellung des MIP-1alpha Standards**

Zur Herstellung des MIP-1alpha Standards wurde zuerst das Standardpulver mit 4 ml Standardpuffer aufgelöst. Dadurch ergab sich eine Konzentration von 1500 pg/ml. Anschließend folgte die Erstellung einer Verdünnungsreihe mit Hilfe von fünf Reaktionsgefäßern. In jedes der fünf Gefäße wurde nun 500 µl Kalibrator Verdünnungsmittel pipettiert. Danach wurde von dem zuvor hergestelltem Standard (1500 pg/ml) 500 µl in das erste Reaktionsgefäß pipettiert, was somit zu einer Mischung von 500 µl des aufgelösten Standards mit 500 µl Standardpufferlösung führte. Daraus ergab sich dann eine Standardkonzentration von 750 pg/ml. Die Verdünnungsreihe wurde fortgesetzt, indem eine weitere Mischung von je 500 µl der vorangegangenen Standardkonzentration mit den je 500 µl Standardpuffer, der zuvor in die Reaktionsgefäße gefüllt wurde, folgte. Dabei musste darauf geachtet werden, dass jede zuvor erstellte Standardkonzentration vor dem Abpipettieren der 500 µl gut durchmischt wurde, was wir mithilfe eines Vortexgerätes taten. Die beschriebenen Schritte wurden so oft wiederholt, bis alle fünf Reaktionsgefäße Standard in unterschiedlichen Konzentrationen enthielten. Die Standardverdünnungsreihe ergab somit folgende Standardkonzentrationen (in pg/ml): 1500 pg/ml (höchster Standard, der dem zuvor hergestellten unverdünnten Standard entspricht), 750 pg/ml (erstes Reaktionsgefäß), 375 pg/ml (zweites Reaktionsgefäß), 187.5 pg/ml (drittes Reaktionsgefäß), 93.8 pg/ml (viertes Reaktionsgefäß), 46.9 pg/ml (fünftes Reaktionsgefäß) und 0 (Nullstandard, der dem reinen Kalibrator Verdünnungsmittel entspricht).

#### **2.4.5 Herstellung des MIP-1beta Standards**

Das Standardpulver von MIP-1beta musste mit 5 ml Kalibrator Verdünnungsmittel aufgelöst werden und diente dann, ebenso wie bei MIP-1alpha beschrieben, als höchster Standard mit einer Konzentration von 2000 pg/ml. Die Verdünnungsreihe wurde wie bei MIP-1alpha hergestellt, mit dem einzigen Unterschied, dass bei MIP-1beta sechs Reaktionsgefäße

benutzt wurden. Somit ergaben sich folgende Standardkonzentrationen (in pg/ml): 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 0. Auch hier diente die Standardpufferlösung als Nullstandard.

#### **2.4.6 Herstellung des GROalpha Standards**

Im Fall des GROalpha, wurde das Standardpulver mit 5 ml Kalibrator Verdünnungsmittel aufgelöst, was eine Standardlösung von 1000 pg/ml herstellte. Auch hier diente diese Standardlösung als höchster Standard und die reine Standardpufferlösung als Nullstandard. Die Verdünnungsreihe wurde nach dem zuvor beschrieben Schema mit fünf Reaktionsgefäßern durchgeführt, was zu folgenden Standardkonzentrationen führte: 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml und Nullstandard (0 pg/ml).

#### **2.4.7 Herstellung des IL-4 Standards**

Zur Herstellung des IL-4 Standards wurde das IL-4 Standardpulver mit 1 ml Kalibrator Verdünnungsmittel vermischt und eine Standardkonzentration von 2000 pg/ml produziert. Mithilfe von sechs Reaktionsgefäßern wurde eine Standardverdünnungsreihe mit Konzentrationen von 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml und 0 pg/ml erstellt.

#### **2.4.8 Herstellung des IL-8 Standards**

Um den IL-8 Standard herzustellen, wurde das Standardpulver mit 5 ml Standardpuffer aufgelöst. Dieser entstandene höchste Standard der Verdünnungsreihe ergab eine Standardkonzentration von 2000 pg/ml. In den sechs benötigten Reaktionsgefäßern wurden Standardkonzentration von: 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml und 0 pg/ml erstellt.

#### **2.4.9 Herstellung der gepufferten Waschlösung**

Die Herstellung der gepufferten Waschlösung unterschied sich bei den einzelnen Zytokinen nicht. Die Waschlösung lag bei der Lieferung 25-fach konzentriert vor und musste dementsprechend mit 24 Einheiten destillierten Wassers vermischt werden. In unserem Fall entsprach das 480 ml destilliertem Wasser, dem 20 ml Waschlösungskonzentrat hinzugefügt wurden. Dies führte zu einem Bestand von 500 ml gepufferter Waschlösung pro ELISA.

#### **2.4.10 Herstellung der Substratlösung**

Vor der Verwendung der Substratlösung mussten gleiche Mengen von Farbreagenz A und B miteinander vermischt werden. Dieser Vorgang sollte maximal 15 Minuten vor Gebrauch der fertigen Substratlösung durchgeführt werden. Wichtig war es, die Substratlösung lichtgeschützt aufzubewahren. In jedes Näpfchen der ELISA Mikrotiterplatte wurde nach dem letzten Waschvorgang 200 µl Substratlösung pipettiert. Diese Menge war bei allen Zytokinen gleich.

### **2.5 Enzym-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA)**

Zur Konzentrationsbestimmung von MIP-1alpha, MIP-1beta, GROalpha, IL-4 und IL-8 in den von uns gesammelten Fruchtwasserproben der Patientinnen führten wir mit jedem Zytokin mehrere ELISAS durch. Für die ELISAS verwendeten wir die Immunoassay-Kits „Quantikine®“ (R&D Systems, Inc., McKinley Place NE, Minneapolis, USA).

#### **2.5.1 Funktionsprinzip**

Das Funktionsprinzip des ELISA-Verfahrens ist das quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassay-Verfahren, das sich in die folgenden Funktionsschritte einteilen lässt:

- 1) Der erste monoklonale AK, der für das entsprechende Zytokin spezifisch ist, ist fest an den Untergrund der Mikrotiterplatte gebunden.
- 2) Der Standard und die Probe mit dem zu bestimmenden Antigen werden in die Näpfchen der Platte pipettiert und anschließend für eine vorgegebene Zeit inkubiert. Es bilden sich Komplexe aus dem in der Probe enthaltenen Antigen und dem fixierten Antikörper.
- 3) Beim anschließenden Waschen der Platte werden die ungebundenen Substanzen aus den Vertiefungen entfernt bis nur noch der Antikörper-Antigen-Komplex vorhanden ist.
- 4) Jetzt werden spezifische polyklonale Antikörper dazugegeben, die an ihrem Ende mit einem Enzym markiert sind und die ebenfalls an den Antigen-Antikörper-Komplex binden.

- 5) Nach erneutem Waschen der Platte pipettiert man eine Substratlösung in die Kavitäten und erhält nun, proportional zur gebundenen Zytokinmenge, eine Farbreaktion.
- 6) Anschließend wird die Farbreaktion gestoppt und die Intensität des Farbumschlages kann als Signal mit Hilfe einer dafür geeigneten Auswertungssoftware gemessen werden.

### 2.5.2 Durchführung der ELISAs

Der Aufbau der einzelnen Arbeitsschritte folgte bei allen Zytokinen dem gleichen Schema, allerdings gab es Abweichungen bezüglich der Inkubationszeit und der verwendeten Volumina. Auf diese Unterschiede wird an den entsprechenden Stellen hingewiesen.

Für die zu untersuchenden Proben wurden Kits mit 12 Mikrotiterstreifen verwendet, die jeweils aus acht Kavitäten bestanden. Ein Kit besaß somit insgesamt 96 Kavitäten, die auch als Wells bezeichnet werden können. Je nach Zytokin wurden sieben oder acht dieser Kavitäten mit der Standardverdünnungsreihe gefüllt um, anhand der bekannten Konzentrationen der Standards, auf die Konzentrationen der Interleukine in den Proben zu schließen. Es konnten also pro ELISA-Kit entweder 88 oder 89 Proben untersucht werden.

Als erster Schritt bei der Durchführung des ELISAs wurde das für das jeweilige Zytokin spezifische Probenverdünnungsmittel in alle Küvetten des Kits pipettiert. Bei MIP-1beta, IL-4 und IL-8 wurden dabei 100 µl des jeweiligen Probenverdünnungsmittel benötigt, bei MIP-1alpha und GROalpha dagegen nur 50 µl.

Im nächsten Schritt wurden Probe und Standard in die dafür vorgesehenen Küvetten pipettiert. Bei MIP-1alpha wurden jeweils 200 µl an Probe und Standard in die Vertiefungen pipettiert, während bei MIP-1beta jeweils 150 µl in die Küvetten gefüllt wurde. Bei IL-4 betrug die jeweils pipettierte Menge an Probe und Standard 50 µl. Wichtig zu beachten war zudem, dass der beschriebene Vorgang im Fall von IL-4 in maximal 15 Minuten abgeschlossen werden musste. Bei GROalpha stellten wir fest, dass die Menge an Standard beziehungsweise Probe von 200 µl, die in der Anleitung von R&D Systems für den Quantikine® Immunoassay vorgeschlagen wurde, keine guten Ergebnisse lieferte. Die gemessenen Werte waren dabei zu häufig außerhalb des Messbereiches. Wir verdünnten die

GROalpha Proben und den Standard deshalb im Verhältnis 1:4. Dementsprechend füllten wir jeweils 50 µl an Probe beziehungsweise Standard und je 150 µl Probenverdünnungsmittel in die dafür vorgesehenen Wells. Ähnliche Erfahrung machten wir auch mit IL-8, weshalb wir vom R&D Systems Skript abweichend, statt 50 µl Probe und Standard nur 25 µl verwendeten. Diese wurden dann im Sinne einer 1:2 Mischung mit 25 µl Verdünnungsmittel vermischt und schließlich in die einzelnen Wells pipettiert.

Nach dem Verteilen von Probe und Standard in die vorgesehenen Küvetten wurde eine abdichtende Klebefolie über die Mikrotiterplatte geklebt und die Platte anschließend für zwei Stunden bei Zimmertemperatur gelagert.

Der nächste Schritt beinhaltete den ersten von zwei Waschvorgängen, die folgendermaßen abliefen: Zunächst wurde der Inhalt der gefüllten Wells verworfen. Dazu klopften wir die ELISA Platte umgedreht auf Papier aus, welches die Flüssigkeit zusätzlich aufsaugte. Nun wurden die Wells mit 400 µl gepufferter Waschlösung aufgefüllt und anschließend erneut durch Klopfen entleert bis alle Reste der Waschlösung entfernt wurden. Dieser Vorgang wurde bei allen Zytokinen analog dreimal durchgeführt. Eine Ausnahme war IL-8, hier umfasste ein Waschvorgang vier Durchgänge. Der Waschvorgang diente dabei dem Entfernen der nicht gebundenen Antikörper.

Anschließend wurden 200 µl des für jedes Zytokin spezifischen Konjugats in die dafür vorgesehenen Wells pipettiert. Nur im Fall von IL-8 wurde lediglich 100 µl Konjugat pro Mikroküvette benötigt.

Danach wurde die Mikrotiterplatte erneut mit einer Klebefolie bedeckt und bei Raumtemperatur inkubiert. Die Ausnahme stellte GROalpha dar, dessen Immunoassay Platten bei 2-8 °C (im Kühlschrank) gelagert werden mussten. Die Inkubationszeit betrug bei MIP-1alpha und MIP-1beta sowie bei GROalpha und IL-4 zwei Stunden. Interleukin-8 hingegen musste nur eine Stunde inkubiert werden.

Anschließend folgte der zweite Waschvorgang, der wie oben bereits beschrieben durchgeführt wurde.

Als nächstes wurde analog bei allen Zytokinen 200 µl Substratösung in jedes Well des Kits gefüllt und der Testansatz anschließend für 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die einzige Abweichung stellte hier IL-8 dar, dessen Inkubationszeit 30 Minuten betrug. Allerdings war die Inkubationszeit nicht strikt vorgeschrieben, sondern musste von dem ELISA-Reader und dessen oberer Messgrenze bezüglich der oberen Dichte abhängig gemacht werden. Wichtig bei der Inkubation war aber darauf zu achten, dass die Mikrotiterplatten lichtgeschützt gelagert wurden.

Um die stattgefundene blaue Farbreaktion zu beenden und mit den Messungen beginnen zu können, wurde bei allen Zytokinen analog 50 µl Stopplösung in die Wells pipettiert. Es erfolgte ein Farbumschlag von blau nach gelb.

## 2.6 Auswertung der Messergebnisse

### 2.6.1 Auswertung der ELISA Platten

Zur Auswertung der Messergebnisse konnten wir die aus unserer Standard-Verdünnungsreihe bekannten Konzentrationen für die einzelnen Verdünnungsstufen in die Auswertungssoftware „Revelation“, Version 4.22 (Dynex Technologies, Chantilly, USA) eingeben. Diese bekannten Konzentrationen in den Wells der Standard-Verdünnungsreihe fungierten als Referenzwerte für die Auswertung der Wells, die die verschiedenen Fruchtwasserproben enthielten. Ausgelesen wurden die Microplates durch den ELISA-Reader „Microplate Reader MRX II“ bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 540 oder 570 nm. Mithilfe der Auswertungssoftware „Revelation“ konnte anhand der Messergebnisse der optischen Extinktion in den einzelnen Kavitäten der Verdünnungsreihe eine Kalibrierungskurve erstellt werden, durch die es möglich wurde, jedem gemessenen optischen Dichtewert (OD) eine bestimmte Zytokinkonzentration in pg/ml zuzuordnen.

### 2.6.2 Statistische Auswertung

Zu Beginn der Studie erstellten wir eine Datenbank in dem Statistikprogramm SPSS (Version 16.0), welche alle erhobenen anamnestischen und klinischen Angaben der einzelnen Patientinnen enthielt. Die aus den ELISA Messungsergebnissen hervorgegangenen Konzentrationen der untersuchten Zytokine (MIP1-alpha, MIP1-beta, GROalpha, IL-4 und IL-8) wurden ebenfalls in diese Datenbank eingegeben. Die Zytokinkonzentrationen wurden

nicht im Mittelwert, sondern im Median und in ihrer Varianz angegeben, da sich hierdurch treffendere Aussagen zum vorliegenden Zytokinprofil ergaben. Bedingt durch die weite inter- und intraindividuelle Spannweite der einzelnen Zytokinkonzentrationen würde die Angabe des Mittelwertes keine zufriedenstellende Abbildung des Zytokinprofils erreichen. Um in unserer Datenbank einen ausreichenden Datenschutz zu gewährleisten wurden die Namen der Patientinnen durch Nummern ersetzt und somit sowohl die anamnestischen und klinischen Daten, als auch die Ergebnisse der ELISA Messungen vollständig anonymisiert. Weiterhin wurde jede unserer Patientinnen, wie bereits in 2.2 beschrieben, einer Gruppe (1 bis 4) zugeteilt und mit der entsprechenden Gruppennummer versehen.

Die statistische Auswertung erfolgte mit nicht-parametrischen Testverfahren, da bei den Messungen der Zytokinkonzentrationen Extremwerte in beide Richtungen auftraten und sich folglich parametrische Verfahren zur Auswertung unserer Ergebnisse nicht eigneten. Um auf die Annahme einer Normalverteilung verzichten zu können, kam daher der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung. Dieser Test kann unabhängig von der Verteilung der einzelnen Merkmale angewendet werden. Das unterschiedliche Vorkommen eines Merkmals in den beiden Gruppen „Kontrollgruppe“ versus „Amnioninfektionssyndrom (AIS)“ wurde dann als signifikant unterschiedlich gewertet, wenn  $p < 0,05$  betrug beziehungsweise eine Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 5% vorlag. Für die Signifikanzberechnung der Altersunterschiede in den vier Gruppen kam der parametrische Student-t Test zur Anwendung, da von einer Normalverteilung ausgegangen wurde. Betrug die Irrtumswahrscheinlichkeit auch hier unter 5% ( $p < 0,05$ ) wurde der Unterschied des Merkmals zwischen den Gruppen als signifikant eingestuft.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Anamnestisch und klinisch erhobene Daten

##### 3.1.1 Daten unseres gesamten Patientinnenkollektivs

Einen Gesamtüberblick über die vier Gruppen gibt die nachfolgende Tabelle (Tabelle 1). Die Werte der Tabelle sind dabei im Median angegeben. Die Spannweite ist in Klammern aufgeführt.

	AC	Sectiones	SG	AIS
<b>Anzahl der Patientinnen</b>	77	112	23	13
<b>Alter</b>	36	34	34	35
<b>SSW</b>	17 (15 – 31)	39 (27 – 42)	40 (34 – 42)	27 (17 – 34)
<b>Gravidität</b>	1 (1 – 7)	2 (1 – 6)	2 (1 – 7)	2 (1 – 6)
<b>Parität</b>	1 (0 – 4)	2 (1 – 4)	1 (1 – 6)	1 (1 – 3)
<b>CRP im Serum (mg/dl)</b>	0,45 (0,1 – 1,88)	1,17 (0,1 – 9,48)	0,5 (0,24 – 1,23)	2,4 (0,54 – 10,3)
<b>Leukozyten im Serum (1000/µl)</b>	9,65 (6,3 – 15)	11 (6,9 – 23,4)	11,4 (6,3 – 26,8)	14,4 (9,1 – 20,9)

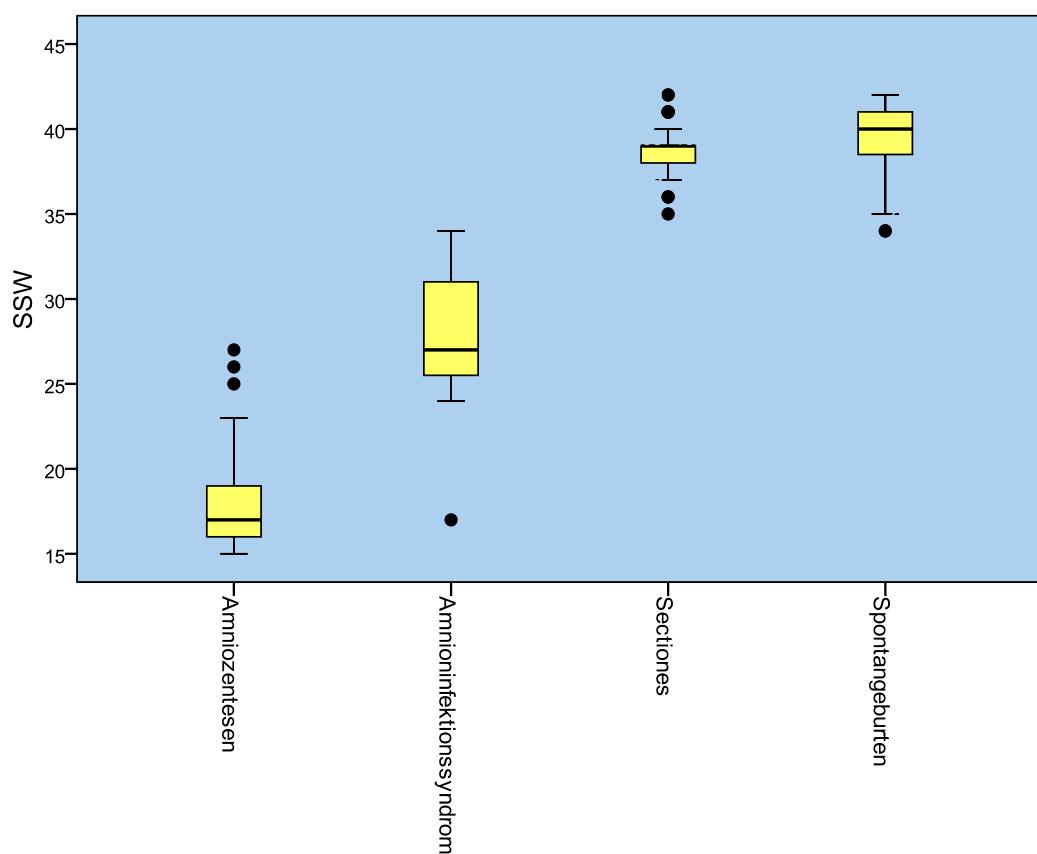
Tabelle 1: Beschreibung des Patientenkollektivs

##### 3.1.2 Vergleich der Daten zwischen den vier Gruppen

Um einen Vergleich dieser gesammelten anamnestischen und klinischen Daten zwischen den einzelnen Gruppen zu ermöglichen wurden die wichtigsten Parameter in den folgenden Unterkapiteln einzeln betrachtet und analysiert.

### **3.1.2.1 Vergleich des Zeitpunktes der Fruchtwasserentnahme (SSW) zwischen den vier Gruppen**

In Abbildung 4 wird der Zeitpunkt der Schwangerschaft (in SSW), in der das Fruchtwasser entnommen und analysiert wurde, zwischen den vier Gruppen verglichen. Es zeigen sich große Unterschiede im Abnahmezeitpunkt der Fruchtwasserproben. So lässt sich erkennen, dass in der Amniozentesen-Gruppe der Abnahmezeitpunkt am frühesten in der Schwangerschaft stattfand (Median bei 17 SSW, Spannweite von 15 bis 31). In der Amnioninfektionssyndrom-Gruppe wurden die Fruchtwasserproben im Median in der 27. SSW gewonnen (von 17 bis 34). Hingegen fand die Abnahme der Fruchtwasserproben sowohl in der Gruppe der Sectiones caesareae als auch bei den Spontangeburten in der späten Schwangerschaft statt. So lag der Median der SSW bei Abnahme der Proben in der Gruppe der Patientinnen mit Sectio caesarea bei 39 (von 27 bis 42) und in der Gruppe der Spontangeburten bei 40 (von 34 bis 42).



**Abbildung 4: Vergleich der SSW zum Zeitpunkt der Fruchtwasserentnahme zwischen den vier Gruppen**

Folglich bestehen bezüglich des Zeitpunktes der Fruchtwasserentnahme deutliche Differenzen zwischen den einzelnen Gruppen. Dies gilt es in der Auswertung zu berücksichtigen, da verschiedene Mediatoren im Verlauf der Schwangerschaft Schwankungen aufzeigen können, die nichts mit einem pathologischen Geschehen zu tun haben müssen. In Kapitel 3.2.2 und 4 wird auf diesen Sachverhalt näher eingegangen.

### ***3.1.2.2 Vergleich des maternalen Alters zwischen den vier Gruppen***

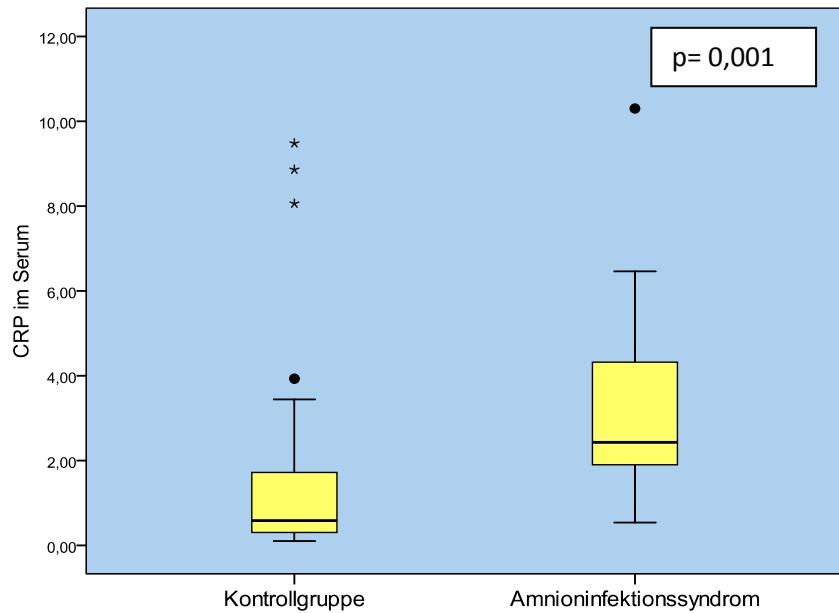
Um einen Einfluss des maternalen Alters auf die Entstehung eines Amnioninfektionssyndroms auszuschließen wurde der Mittelwert des Alters in den beiden Gruppen „Non-AIS“ und „AIS“ in der Gesamtheit auf Signifikanz überprüft. Mit einem ermittelten p-Wert von 0,473 konnte ein signifikanter Unterschied des Patientinnenalters in den beiden gegenübergestellten Gruppen ausgeschlossen werden. Es ist mit einer hohen Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass das Alter der Frauen keine Einflussgröße auf die Entstehung eines Amnioninfektionssyndroms dargestellt hat.

### ***3.1.2.3 Vergleich der Gravidität und der Parität zwischen den vier Gruppen***

Ebenso wenig wie beim mütterlichen Alter konnten signifikante Unterschiede in der Gravidität und Parität zwischen den einzelnen Gruppen festgestellt werden. Es lässt sich vermuten, dass somit weder die Gravidität noch die Parität der Mütter einen Einfluss auf die Entstehung eines Amnioninfektionssyndroms hatte.

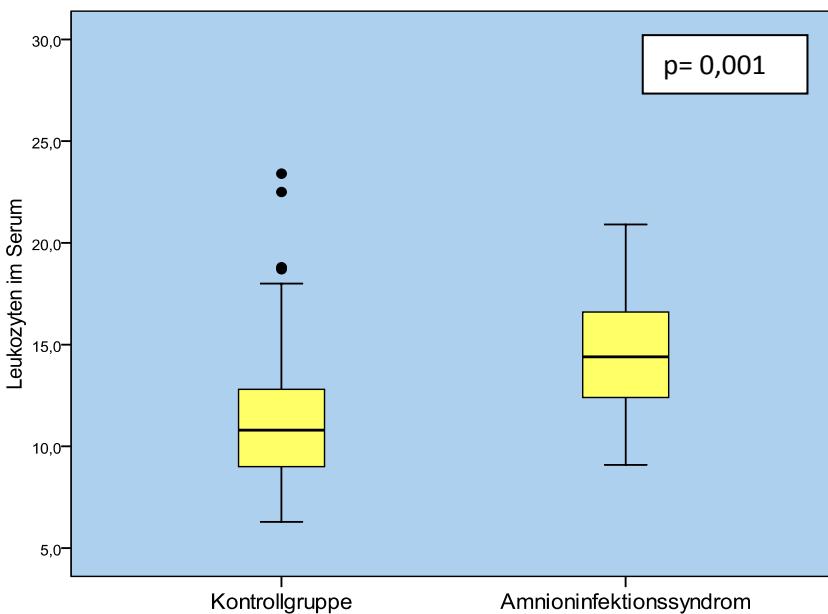
### ***3.1.2.4 Vergleich der Serum CRP-Konzentration und der Leukozytenanzahl zwischen den vier Gruppen***

Bei der im maternalen Serum gemessenen CRP Konzentration ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den beiden Gruppen „Non-AIS“ und „AIS“ (siehe Abbildung 5). So wurde in der „Non-AIS“ Gruppe ein Serum CRP Wert von 0,59 mg/dl im Median gemessen (von 0,1 bis 9,48) und ein CRP-Wert von 2,43 mg/dl (von 0,54 bis 10,3) in der „AIS“ Gruppe. Mit einem p-Wert von 0,001 wurde diese CRP-Konzentrationserhöhung in der Gruppe der „AIS“ als signifikant erhöht eingestuft.



**Abbildung 5:** Die CRP Konzentration im Serum (mg/dl) bei Patientinnen mit AIS im Vergleich zur Kontrollgruppe

Weiterhin wurden die gemessenen Leukozytenkonzentrationen im maternalen Serum der Gruppe „Non-AIS“ und der Gruppe „AIS“ miteinander verglichen (Abbildung 6). Der Median der „Non-AIS“ Gruppe lag bei 10.800 Leukozyten/ $\mu$ l (von 6.300 bis 26.800). In der Gruppe der „AIS“ betrug der Median 14.400 Leukozyten/ $\mu$ l (von 9.100 bis 20.900). Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Leukozytenzahl im Serum von Patientinnen mit intrauteriner Infektion im Vergleich zu Patientinnen der Kontrollgruppe ( $p = 0,001$ ).



**Abbildung 6: Die Leukozytenanzahl (Leukozyten/  $\mu\text{l}$  Serum) bei Patientinnen mit AIS und bei Patientinnen der Kontrollgruppe**

## 3.2 Einfluss der anamnestisch und klinisch erhobenen Parameter auf die Ergebnisse unserer Zytokinbestimmungen

### 3.2.1 Einfluss der Faktoren Risikoschwangerschaft, Risikoanamnese und Besonderheiten im Schwangerschaftsverlauf

Um den Einfluss des Faktors „anamnestisch ermittelte Risikofaktoren“ zu überprüfen wurden bei jedem Zytokin gesondert Patientinnen mit und ohne Risikofaktoren (beispielsweise Z.n. Sectiones etc.) miteinander verglichen. Hierdurch sollte eine Beeinflussung unserer Messergebnisse durch diese Faktoren ausgeschlossen werden. Das maternale Alter über 35 Jahre ist hier ausgenommen und wird in Kapitel 3.2.3 gesondert besprochen. Es zeigte sich weder bei MIP-1alpha ( $p = 0,711$ ), MIP-1beta ( $p = 0,484$ ) noch bei GROalpha ( $p = 0,009$ ), IL-8 ( $p = 0,240$ ) und IL-4 ( $p$ -Wert = 0,581) eine signifikante Veränderung in der Zytokinkonzentration zwischen den beiden einander gegenübergestellten Gruppen. Somit kann davon ausgegangen werden, dass unsere Ergebnisse der Zytokinkonzentrationsbestimmungen nicht durch die anamnestisch erfassten Risikofaktoren beeinflusst wurden.

Analog zu den Risikofaktoren in der Anamnese der Patientinnen wurden auch die in der Schwangerschaft auftretenden Besonderheiten untersucht. Wir stellten Patientinnen mit Auffälligkeiten während der Schwangerschaft den Patientinnen gegenüber, die eine unauffällige Schwangerschaft durchliefen. Erneut wollten wir analog zu den Risikofaktoren einen signifikanten Einfluss der aufgetretenen Besonderheiten in der Schwangerschaft auf die gemessenen Zytokinkonzentrationen ausschließen. Bei den Zytokinen MIP-1alpha ( $p = 0,564$ ), MIP-1beta ( $p = 0,921$ ) sowie bei GROalpha ( $p = 0,705$ ) und IL-8 ( $p = 0,517$ ) wurden keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen Patientinnen mit Besonderheiten in der Schwangerschaft im Vergleich zu unauffälligen Patientinnen gefunden. Bei Interleukin-4 hingegen wurde ein signifikanter Konzentrationsunterschied in den beiden gegenübergestellten Patientinnengruppen festgestellt ( $p = 0,001$ ). Dies deutet demnach mit hoher Wahrscheinlichkeit darauf hin, dass die während der Schwangerschaft aufgetretenen Besonderheiten die von uns gemessenen IL-4 Konzentrationen beeinflussten.

Zur Erfassung des Einflusses der wichtigsten Besonderheiten im Einzelnen dient der Boxplot in Abbildung 7. Es lässt sich erkennen, dass sich der Median der IL-4 Konzentration vor allem bei Patientinnen mit Wachstumsretardierung des Kindes, Oligohydramnion oder Polyhydramnion, vorzeitigen Wehen, B-Streptokokken-Infektion, Geminigravidität, Blutung und Anämie sowie bei Amnioninfektionssyndrom und Chlamydieninfektion deutlich niedriger als bei Patientinnen mit unauffälligen Schwangerschaften darstellt.

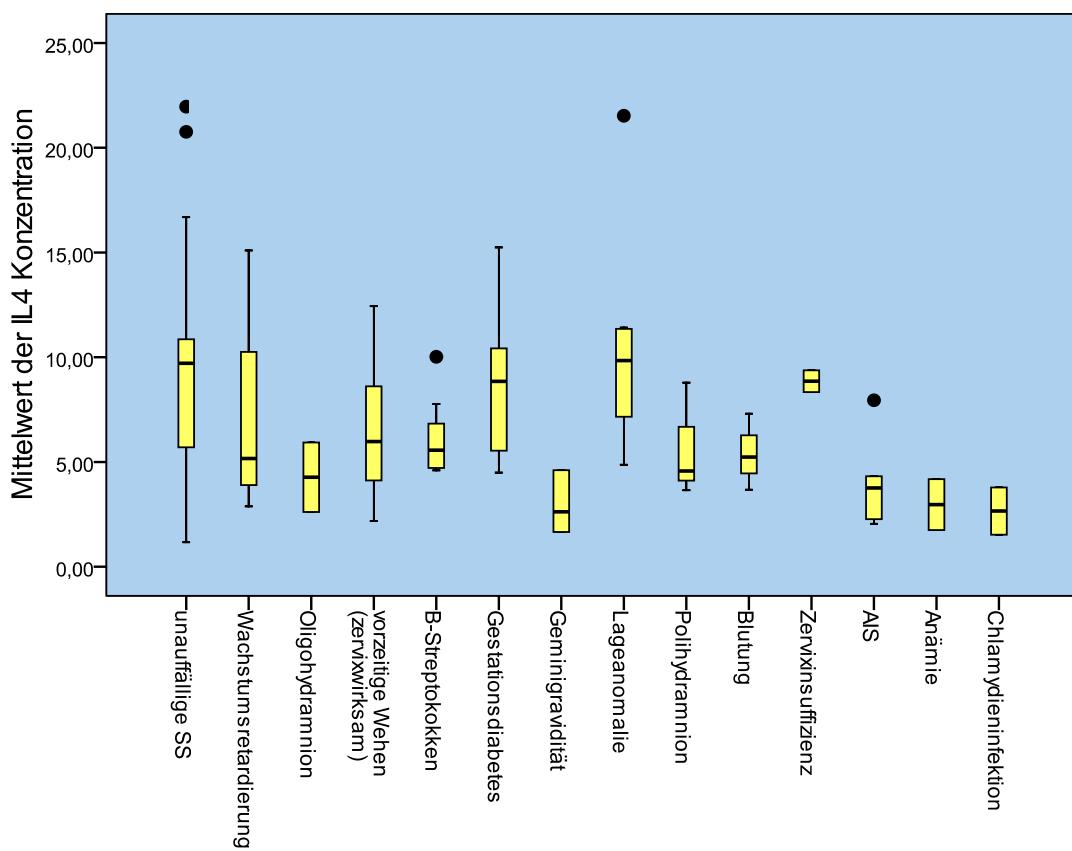


Abbildung 7: Aufschlüsselung der wichtigsten Besonderheiten und deren Einfluss auf die IL-4 Konzentration (pg/ml)

### 3.2.2 Einfluss der Schwangerschaftswoche auf die Zytokinexpression im Fruchtwasser

Um auch den Einfluss des Gestationsalters bei Abnahme der Fruchtwasserprobe und dessen Einfluss auf die Zytokinkonzentrationen zu analysieren wurde für jedes Zytokin ein Streudiagramm (Scatterplot) erstellt, welches die Zytokinkonzentration (Y-Achse) im Verlauf der unterschiedlichen Schwangerschaftswochen (X-Achse) darstellt (siehe Abbildung 8).

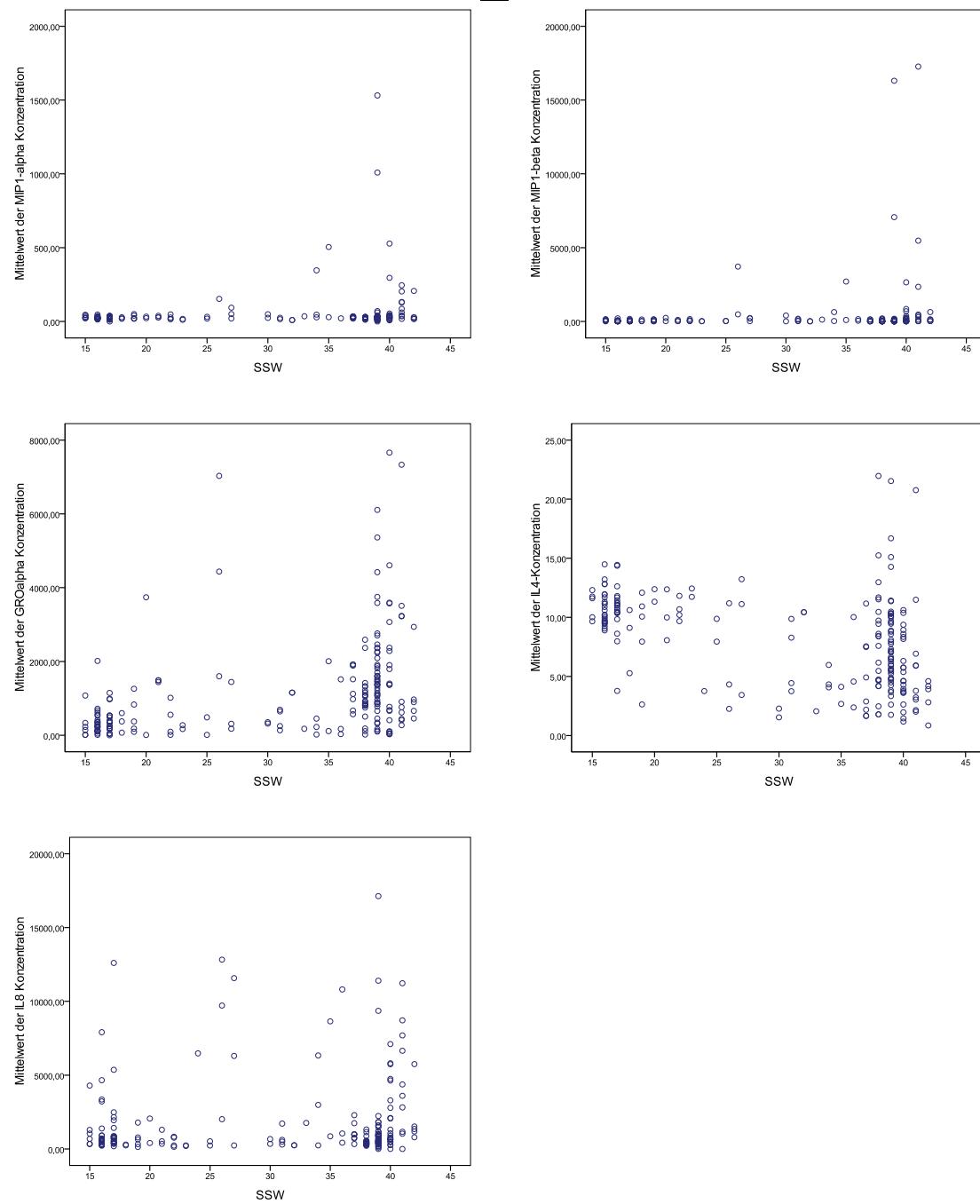


Abbildung 8: Zytokinkonzentrationen (pg/ml) in Abhängigkeit von der SSW

Aus Abbildung 8 wird deutlich, dass bei MIP-1alpha, MIP-1beta und IL-8 keine wesentliche Konzentrationsschwankung im Verlauf der Schwangerschaft anhand unserer Ergebnisse nachgewiesen werden konnte. Bei dem Zytokin GROalpha hingegen zeichnet sich eine leichte Konzentrationserhöhung gegen Ende der Schwangerschaft ab. Gegensätzlich hierzu scheint die Konzentration von Interleukin-4 im Verlauf der Schwangerschaft abzunehmen.

### 3.2.3 Einfluss des maternalen Alters

Zur Verdeutlichung des Einflusses des Patientinnenalters auf die in den ELISAS gemessenen Zytokinkonzentrationen wurde analog zur SSW in Kapitel 3.2.2 für jedes Zytokin ein Streudiagramm angefertigt, welches die Zytokinkonzentration (Y-Achse) in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen (X-Achse) darstellt (Abbildung 9).

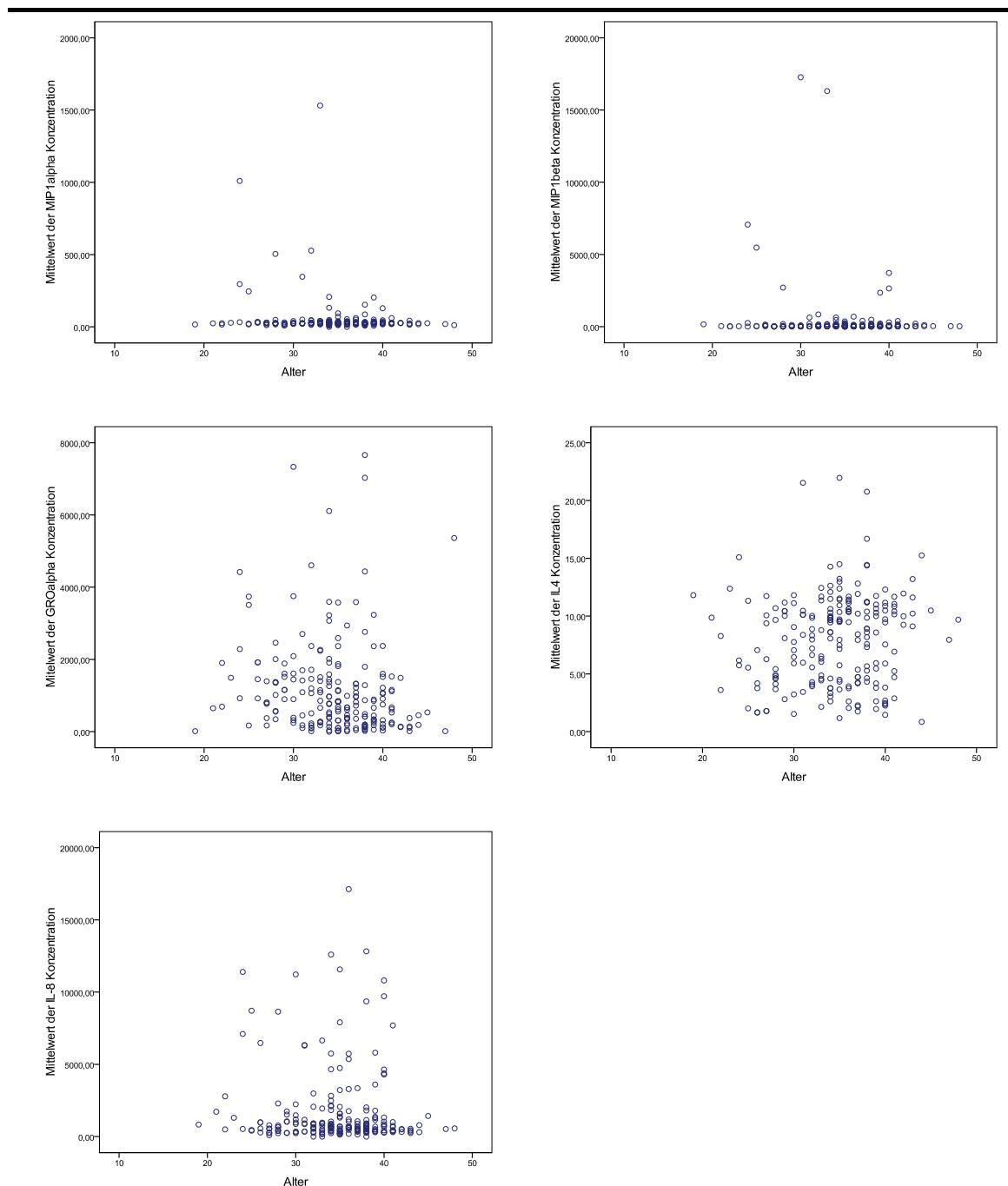


Abbildung 9: Zytokinkonzentrationen (pg/ml) in Abhängigkeit vom maternalen Alter

Aus Abbildung 9 geht hervor, dass bei keinem der von uns untersuchten Zytokine eine Korrelation zwischen Zytokinkonzentration und Alter der Schwangeren gefunden werden konnte.

### 3.2.4 Einfluss der Gravidität und Parität

Um den Einfluss der Gravidität auf die Zytokinkonzentration beurteilen zu können wurden die 225 Patientinnen in zwei Gruppen aufgeteilt. Die erste Gruppe bestand aus Frauen, bei denen zum ersten Mal eine Schwangerschaft festgestellt wurde. Die zweite Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, die bereits mehr als einmal schwanger waren. Diese beiden Gruppen wurden gegenübergestellt und der p-Wert mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ermittelt. Dabei ergaben sich weder bei MIP-1alpha ( $p = 0,649$ ), MIP-1beta ( $p = 0,177$ ) und GROalpha ( $p = 0,265$ ) noch bei den Interleukinen IL-4 ( $p = 0,014$ ) und IL-8 ( $p = 0,559$ ) signifikante Unterschiede in der Zytokinkonzentration in Abhängigkeit von der Gravidität. Somit konnte ein Einfluss der Gravidität auf die Zytokinexpression in unseren Ergebnissen nicht nachgewiesen werden. Analog zur Gravidität wurden zur Beurteilung des Einflusses der Parität auf die Zytokinkonzentrationen die Patientinnen auch hier in zwei Gruppen aufgeteilt und die p-Werte anhand des Mann-Whitney-U-Test ausgewertet. Die erste Gruppe bestand aus Frauen, die noch kein Kind zur Welt gebracht hatten. Diese Gruppe bezeichneten wir als „Nulli-Para“. Die zweite Gruppe bestand aus Patientinnen, die bereits ein Kind oder aber mehrere Kinder geboren hatten. Diese Frauen wurden zur Gruppe der „Multi-Para“ zusammengefasst. In unseren Ergebnissen zeigten sich zwischen den „Nulli-Para“ und „Multi-Para“ keine signifikanten Unterschiede im Expressionsmuster der Zytokine MIP-1alpha, MIP-1beta und IL-8. Der p-Wert betrug bei MIP-1alpha 0,084, bei MIP-1beta 0,284 und bei IL-8 lag der p-Wert bei 0,102. Im Gegensatz hierzu zeigten sich zwischen den beiden gegenübergestellten Gruppen signifikante Unterschiede in den Zytokinkonzentrationen von GROalpha ( $p = 0,000$ ) und IL-4 ( $p = 0,000$ ). Aus unseren Ergebnissen (siehe auch Abbildung 10) geht hervor, dass GROalpha bei den „Nulli-Para“ signifikant niedriger exprimiert wurde als in der Gruppe der „Multi-Para“. Die Zahlen auf der X-Achse in Abbildung 10 entsprechen hierbei der Anzahl der geborenen Kinder. Die Konzentration von GROalpha auf der Y-Achse ist in pg/ml angegeben.

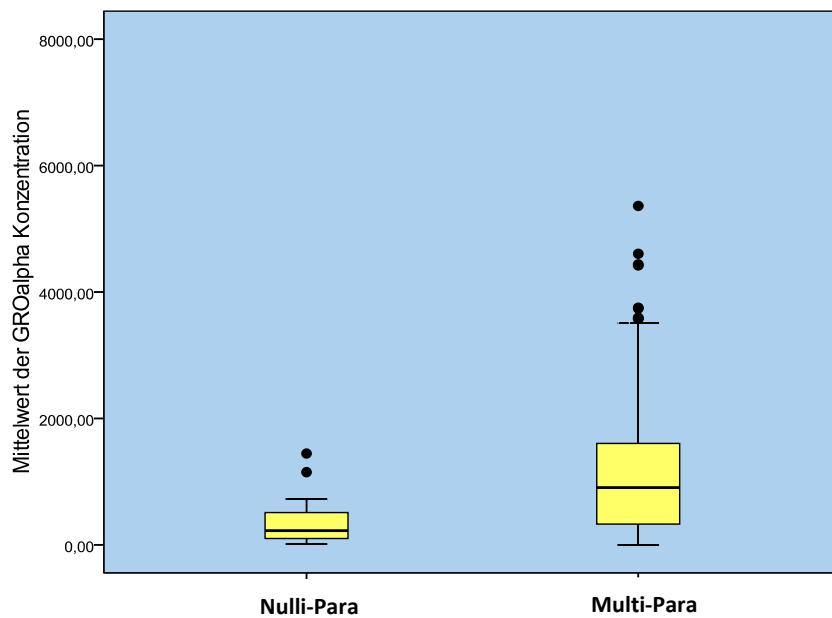


Abbildung 10: Konzentration von GROalpha (pg/ml) in Abhängigkeit von der Parität

---

Auch bei Interleukin-4 zeigte sich ein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen der Gruppe der „Nulli-Para“ und der Gruppe der „Multi-Para“. Analog zu Abbildung 10 wurde auch Abbildung 11 erstellt und beschriftet. Anhand unserer Ergebnisse, die in Abbildung 11 graphisch verdeutlicht dargestellt sind, lässt sich erkennen, dass Interleukin-4 bei den Frauen ohne Kind („Nulli-Para“) deutlich höher exprimiert wurde als bei den Frauen, die bereits Kinder geboren hatten („Multi-Para“).

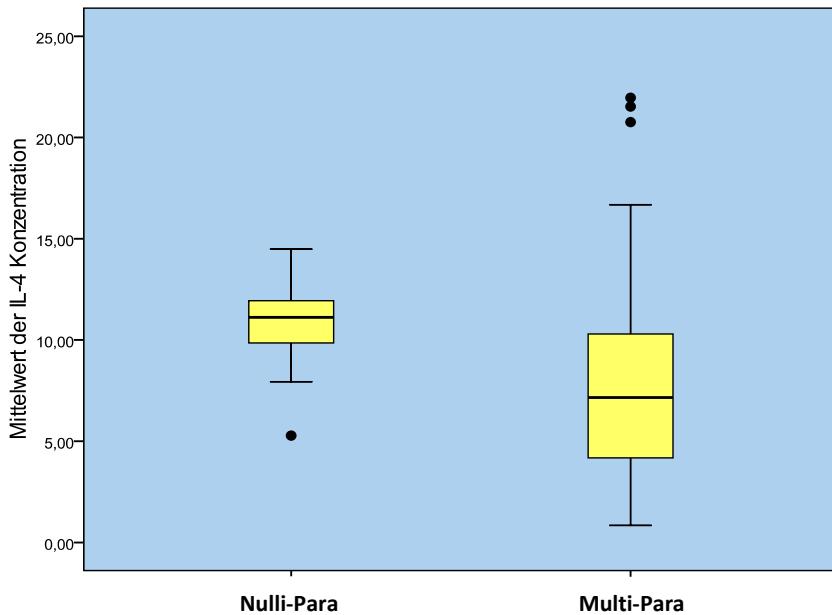


Abbildung 11: Konzentration von IL-4 (pg/ml) in Abhängigkeit von der Parität

### 3.3 Messergebnisse der Zytokinkonzentrationen

Um die Messergebnisse der einzelnen Zytokinkonzentrationen in den untersuchten Proben zu analysieren, teilten wir die Patientinnen in zwei Gruppen ein. Die erste Gruppe, in der die Patientinnen mit Amnioxenteze, die Patientinnen mit Spontangeburt und die Patientinnen mit Sectiones caesarea eingeschlossen wurden, definierten wir als „Non AIS“. Diese stellte sozusagen die gesunde Kontrollgruppe dar, die dann mit der Amnioninfektionsgruppe, den „AIS“ verglichen wurde. Somit wurden die gemessenen Konzentrationen im Fruchtwasser bei jedem Zytokin zwischen der Gruppen „Non AIS“ und der Gruppe „AIS“ verglichen.

#### 3.3.1 MIP-1alpha

Zu unseren Ergebnissen bezüglich der Konzentrationen des MIP-1alpha in den Gruppen „Non-AIS“ und „AIS“ kamen wir, indem wir die Konzentration von MIP-1alpha im Fruchtwasser von 207 Patientinnen gemessen und ausgewertet haben. Die ermittelten statistischen Kenngrößen sind in Tabelle 2 aufgelistet.

	<b>Median</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b>Amniozentesen</b>				
	23,89	27,52	11,88	153,17
<i>n = 77</i>				
<b>Sectiones caesareae</b>				
	26,22	45,56	0,00	1531,27
<i>n = 109</i>				
<b>Spontangeburten</b>				
	130,51	204,45	16,83	1009,32
<i>n = 16</i>				
<b>Amnioninfektionssyndrom</b>				
	35,36	39,61	0,00	93,97
<i>n = 6</i>				

Tabelle 2:MIP-1alpha Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)

Um einen besseren Überblick über die in Tabelle 2 beschriebenen Daten der Konzentrationen von MIP-1alpha in den einzelnen Gruppen zu erhalten, werden diese in Abbildung 12 veranschaulicht abgebildet.

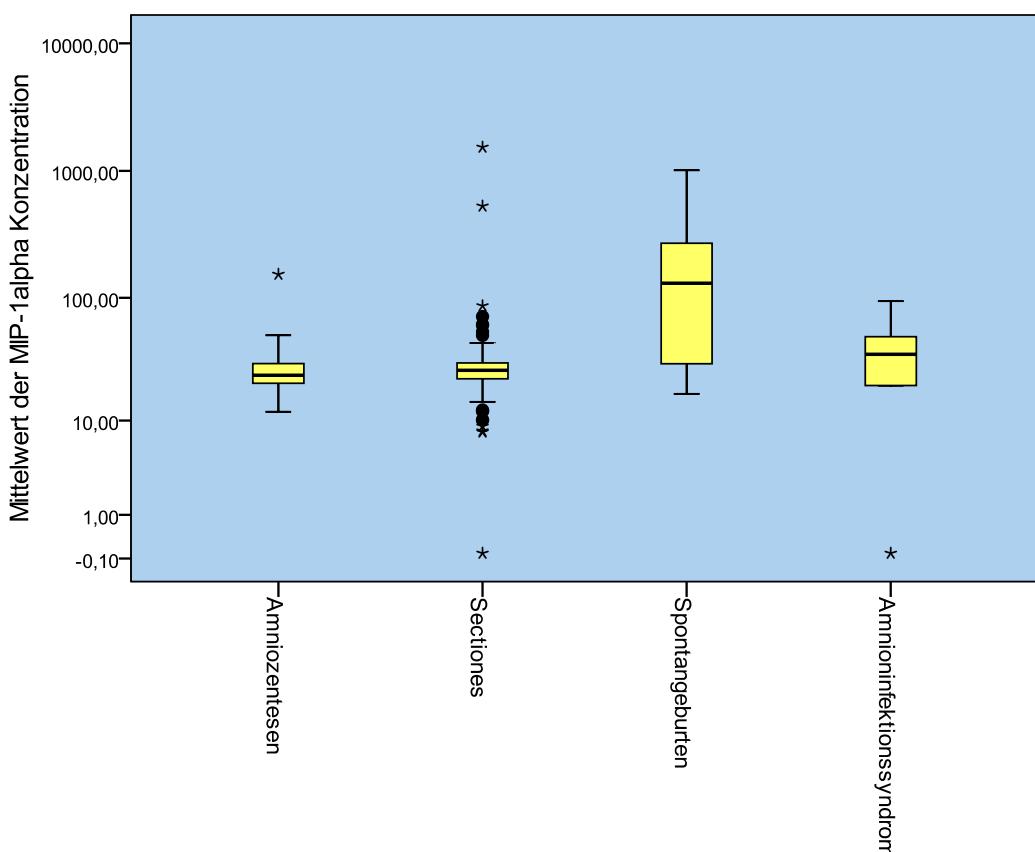
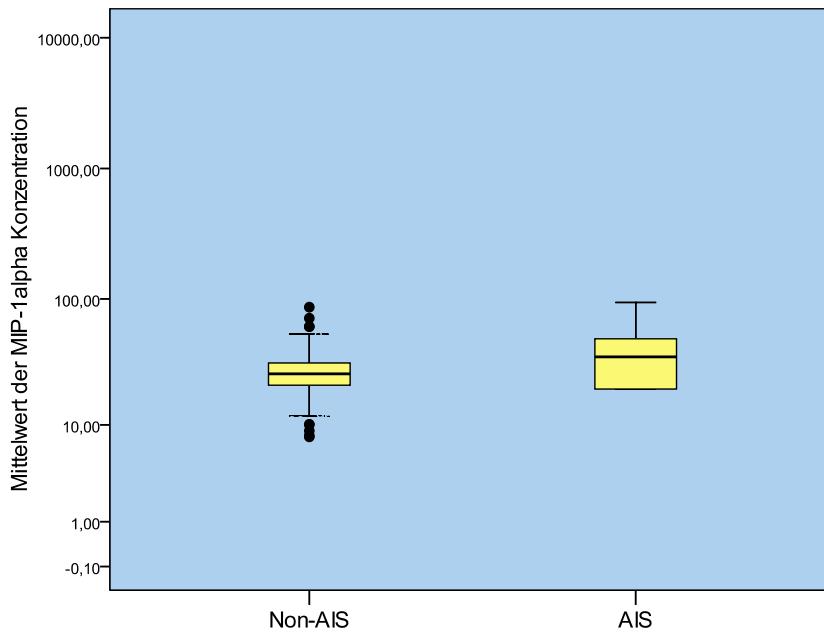


Abbildung 12: MIP-1alpha Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen

Die MIP-1alpha Konzentration der Gruppe Amniozentesen, Sectiones caesareae und der Amnioninfektionssyndrom-Gruppe lagen im Median relativ nah beieinander. So betrug die MIP-1alpha Konzentration bei der Amniozentese-Gruppe im Median 23,89 pg/ml, der der Gruppe der Sectiones caesareae lag bei 26,22 pg/ml und der Median der Amnioninfektionssyndrom-Gruppe betrug 35,36 pg/ml. Eine deutlich höhere Konzentration wies die Gruppe der Spontangebärenden mit einem Median von 130,51 pg/ml auf. Um auch direkt die Gruppe „AIS“ mit der Kontrollgruppe „Non-AIS“ vergleichen zu können, wurden die Ergebnisse der Konzentrationsbestimmungen dieser beiden Gruppen in einem weiteren Boxplot (Abbildung 13) dargestellt.



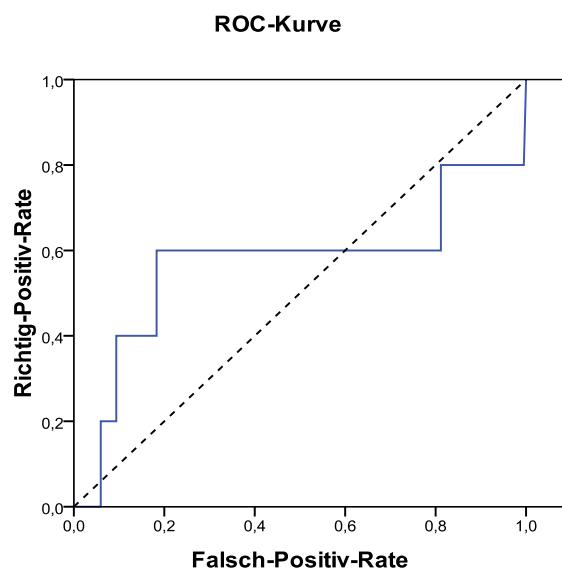
	MIP-1alpha Median	MIP-1alpha Spannweite
<b>Kontrollgruppe</b> <i>n = 202</i>	25,99	0,00– 1531,27
<b>AIS</b> <i>n = 6</i>	35,36	93,97

Abbildung 13: MIP-1alpha Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe „AIS“ im Vergleich zur Kontrollgruppe

Aus der Abbildung 13 lässt sich entnehmen, dass der Median der im Fruchtwasser gemessenen MIP-1alpha Konzentration in der Kontrollgruppe bei 25,99 pg/ml und in der Gruppe „AIS“ bei 35,26 pg/ml lag. Die Streuung der Werte war vor allem in der Kontrollgruppe stark ausgeprägt. Um die Konzentrationsunterschiede des MIP-1alpha im Fruchtwasser der beiden Gruppen auf Signifikanz zu überprüfen, wurde der p-Wert errechnet (siehe Kapitel 2.6.2). Der ermittelte p-Wert betrug 0,589, wonach folglich kein signifikanter Konzentrationsunterschied in den beiden gegenübergestellten Gruppen dargestellt werden konnte (siehe auch Abbildung 12 und Abbildung 13). Dies wird auch in

der nachfolgenden Receiver Operating Characteristic-Kurve (ROC-Kurve) deutlich, die als Qualitätsmaß unserer Ergebnisse dient (Abbildung 14). Die ROC-Kurve stellt die Rate der Richtig-Positiven der Rate der Falsch-Positiven gegenüber und gibt so visuell einen Eindruck der Effizienz dieser Messungen. Werte nahe der Diagonalen deuten auf Zufallsprozesse hin, da Richtig-Positive und Falsch-Positive sich die Waage halten. Die optimale ROC-Kurve steigt senkrecht an, was bedeutet, dass die Richtig-Positive-Rate bei nahe 100% und die Falsch-Positive-Rate noch nahe 0% ist. Ein Maß für die Güte der Messung ist die Fläche unterhalb der ROC-Kurve. Diese wird auch AUC (= Area Under Curve) genannt [123].

---



---

Abbildung 14: ROC Kurve für MIP-1alpha

### 3.3.2 MIP-1beta

Bei der Konzentrationsbestimmung von MIP-1beta wurden die Fruchtwasserproben von 208 Patientinnen analysiert. Die dabei erhobenen Daten sind im Folgenden in Tabelle 3 aufgelistet.

	<b>Median</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b>Amniozentesen</b>				
	28,01	62,16	8,37	485,18
<i>n = 76</i>				
<b>Sectiones caesareae</b>				
	26,27	207,31	5,85	16.305,79
<i>n = 106</i>				
<b>Spontangeburten</b>				
	468,59	2.204,31	112,72	17.267,
<i>n = 19</i>				
<b>Amnioninfektionssyndrom</b>				
	180,82	692,35	37,24	3.721,25
<i>n = 7</i>				

Tabelle 3: MIP-1beta Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)

In Abbildung 15 werden die Konzentrationen des Chemokins MIP-1beta in den vier Gruppen zum besseren Vergleich graphisch dargestellt.

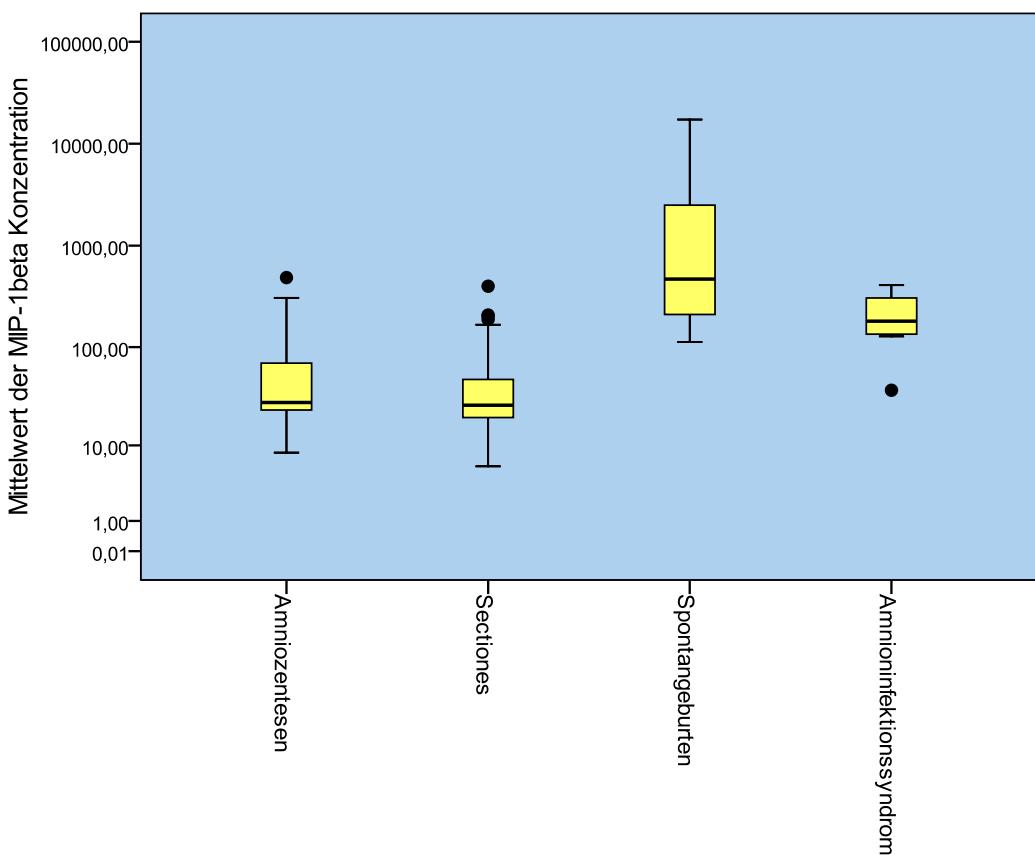
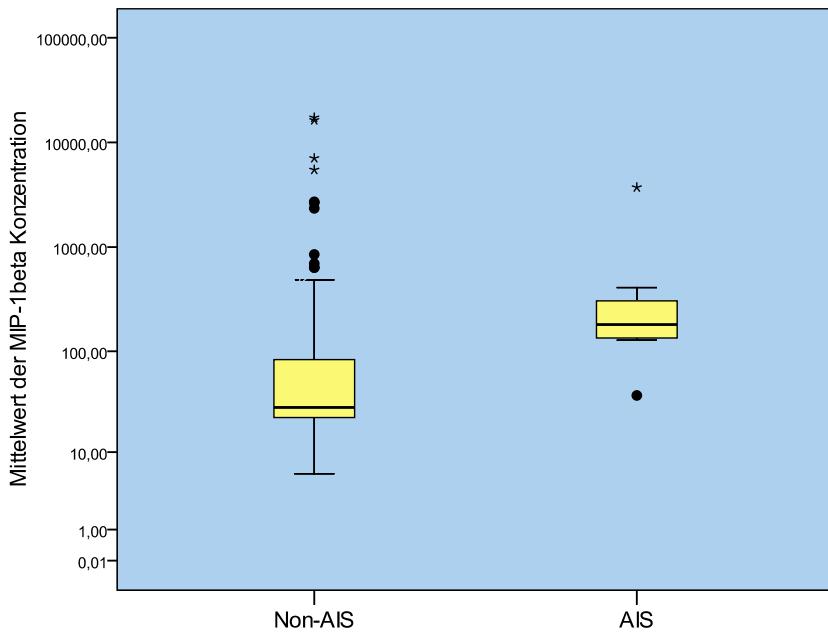


Abbildung 15: MIP-1beta Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen

Aus Abbildung 15 und Tabelle 3 lässt sich entnehmen, dass bei MIP-1beta deutliche Konzentrationsunterschiede zwischen den verglichenen Gruppen bestanden. Unsere Ergebnisse zeigten, dass die Mediane der MIP-1beta Konzentration in der Gruppe Amniosentzen und der Gruppe Sectiones mit 28,01 pg/ml beziehungsweise 26,27 pg/ml keine statistische Signifikanz boten. Hingegen fand man deutlich höhere Werte von MIP-1beta in der Gruppe der Amnioninfektionssyndrome und bei den Spontangeburten. Der Median betrug 180,82 pg/ml bei den Patientinnen mit Amnioninfektionssyndrom und 468,59 pg/ml bei den Spontangebärenden. Die MIP-1beta Konzentration der Gruppe Amnioninfektionssyndrom wurde weiterhin mit den Ergebnissen der Konzentrationsbestimmungen aus der gesunden Kontrollgruppe (Gruppe 1,2 und 3) verglichen. Abbildung 16 gibt einen Überblick über den Median und die Spannweite der gemessenen MIP-1beta Konzentrationen in den beiden gegenübergestellten Gruppen.



	MIP-1beta Median	MIP-1beta Spannweite
<b>Kontrollgruppe</b>  n = 201	28,24	5,85 – 17.267,75
<b>AIS</b>  n = 7	180,82	37,24 – 3.721,25

Abbildung 16: MIP-1beta Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe „AIS“ im Vergleich zur Kontrollgruppe

Die Konzentration von MIP-1beta betrug in den Fruchtwasserproben der Kontrollgruppe im Median 28,24 pg/ml mit einer Spannweite von 5,85 pg/ml bis 17.267,75 pg/ml (siehe Abbildung 16). In der Amnioninfektionssyndrom-Gruppe lag der Median der MIP-1beta Konzentration hingegen bei 180,82 pg/ml, wobei die Werte von 37,24 pg/ml bis 3.721,25 pg/ml reichten. Es wird deutlich, dass eine große Varianz in der Fruchtwasserkonzentration dieses Chemokins vorliegt. Um die Signifikanz dieses Konzentrationsunterschiedes zwischen der „Non-AIS“- und der „AIS“-Gruppe darzustellen, ermittelten wir den p-Wert und fertigten eine ROC-Kurve an (siehe Abbildung 17). Mit einem p-Wert von 0,002 und der in Abbildung 17 abgebildeten ROC-Kurve wird deutlich, dass bezüglich der gemessenen MIP-1beta-

Konzentration ein signifikanter Konzentrationsunterschied in den beiden gegenübergestellten Gruppen vorliegt. MP-1beta wurde demnach in der AIS-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher exprimiert.

---

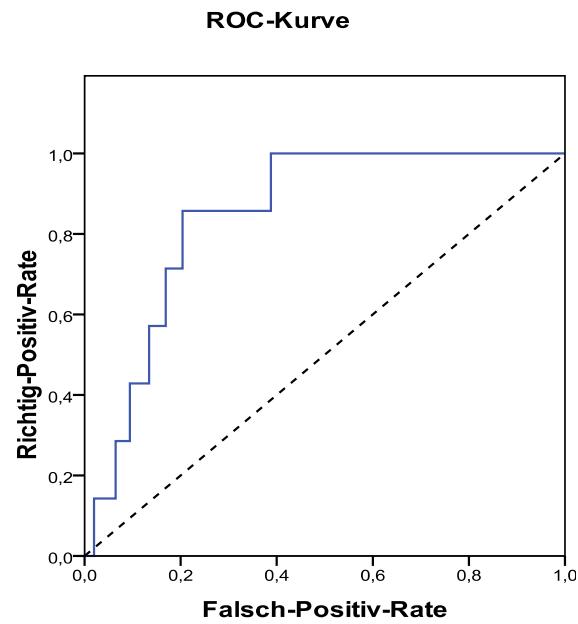


Abbildung 17: ROC Kurve für MIP-1beta

---

### 3.3.3 GROalpha

Bei den Untersuchungen des Chemokins GROalpha wurde das Fruchtwasser von 216 Patientinnen analysiert. Die dabei gemessenen und errechneten Werte der Konzentrationen von GROalpha in den vier verschiedenen Gruppen sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

	<b>Median</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b>Amniozentesen</b>				
	338,09	575,15	10,26	7.029,7
<i>n = 77</i>				
<b>Sectiones caesareae</b>				
	1.215,81	1.488,19	21,26	7.658,76
<i>n = 107</i>				
<b>Spontangeburten</b>				
	722,67	1.438,86	33,09	7.331,9
<i>n = 20</i>				
<b>Amnioninfektionssyndrom</b>				
	282,07	786,45	0,00	4.437,34
<i>n = 12</i>				

Tabelle 4: GROalpha Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)

Zum besseren Vergleich der Gruppen miteinander sind diese Daten in dem folgenden Boxplot graphisch veranschaulicht dargestellt (siehe Abbildung 18). Es wird deutlich, dass sich zwar Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Gruppen abzeichnen, die Varianz der Werte innerhalb einer Gruppe jedoch sehr hoch ist. Die geringste GROalpha Konzentration mit einem Median von 282,07 pg/ml wurde bei der Amnioninfektionssyndrom-Gruppe gemessen. Der GROalpha Wert der Amniozentese-Gruppe lag im Median bei 338,09 pg/ml und der der spontangebärenden Patientinnen betrug 722,67 pg/ml. Den höchsten GROalpha Wert wiesen die Patientinnen mit Sectiones caesareae mit einer GROalpha Konzentration von 1.215,81 pg/ml im Median auf.

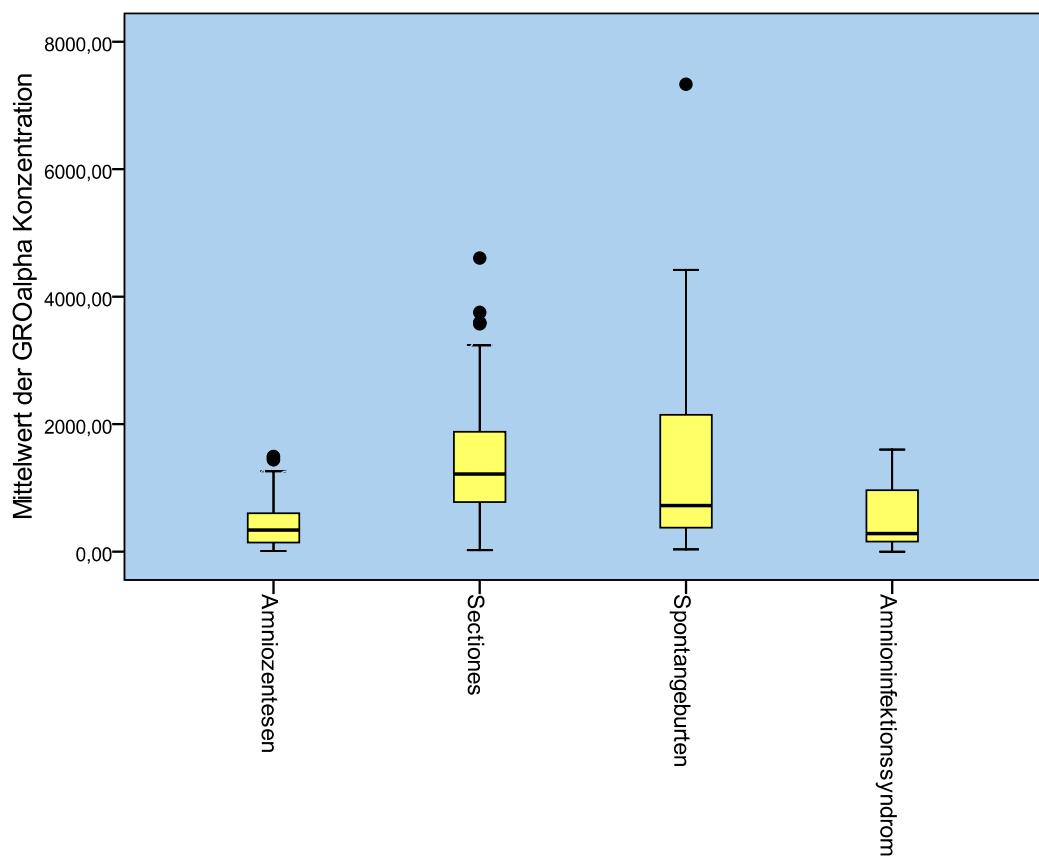
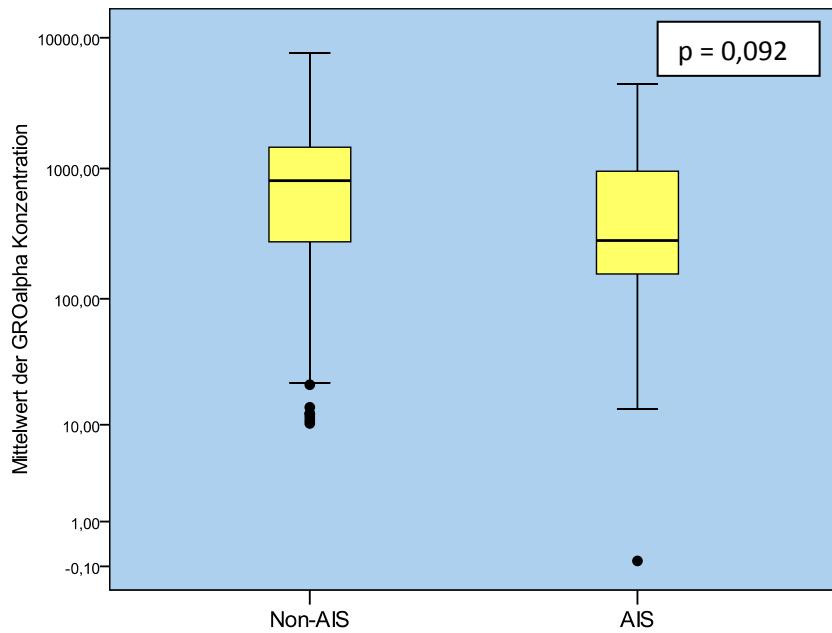


Abbildung 18: GROalpha Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen

Um nun gezielt die AIS-Fälle mit der Kontrollgruppe zu vergleichen, wurde ein weiterer Boxplot angelegt, den wir in Abbildung 19 sehen können. Auch hier findet man beim Vergleich der GROalpha Konzentrationen in den beiden Gruppen keinen aussagekräftigen Konzentrationsunterschied, da die Spannweite in beiden Gruppen hoch und das Ergebnis somit weniger aussagekräftig ist. Der Median der Kontrollgruppe lag bei 806,7 pg/ml (von 10,26 pg/ml bis 7.658,76 pg/ml), der der Amnioninfektionssyndrom-Gruppe bei 282,07 pg/ml (von 0,00 pg/ml bis 4.437,34 pg/ml).



	GROalpha Median	GROalpha Spannweite
<b>Kontrollgruppe</b> <i>n = 204</i>	806,7	10,26 – 7.658,76
<b>AIS</b> <i>n = 12</i>	282,07	0,00 - 4.437,34

Abbildung 19: GROalpha Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe „AIS“ im Vergleich zur Kontrollgruppe

Der zugehörige p-Wert betrug 0,092 und konnte damit keinen signifikanten GROalpha Konzentrationsunterschied im Fruchtwasser der beiden gegenübergestellten Gruppen aufzeigen. In der nachfolgenden angefertigten ROC-Kurve wird diese nicht vorhandene Signifikanz bestätigt (Abbildung 20).

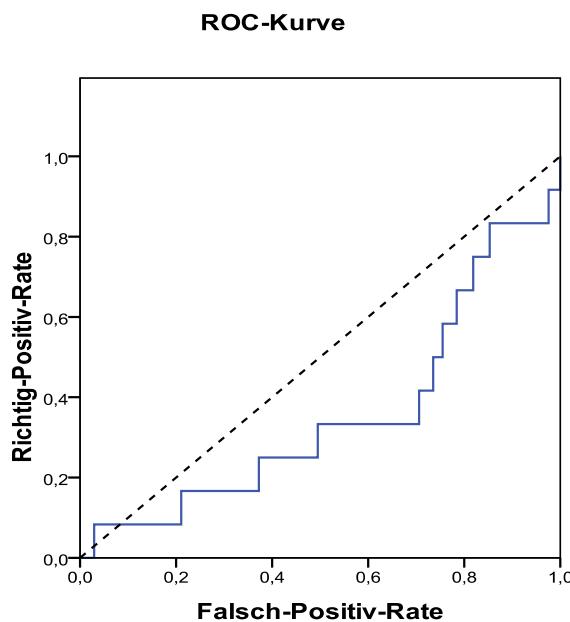


Abbildung 20: ROC Kurve für GROalpha

### 3.3.4 Interleukin-4

Bei der Konzentrationsbestimmung von Interleukin-4 untersuchten wir das Fruchtwasser von 116 Frauen. Tabelle 5 zeigt unsere Ergebnisse zu diesen Messungen.

	Median	Mittelwert	Minimum	Maximum
<b>Amnioxentesen</b>				
	10,61	10,44	2,63	14,49
<i>n = 76</i>				
<b>Sectiones caesareae</b>				
	6,99	7,23	0,85	21,96
<i>n = 106</i>				
<b>Spontangeburten</b>				
	3,79	4,87	1,45	15,25
<i>n = 21</i>				
<b>Amnioninfektionssyndrom</b>				
	4,07	4,84	1,61	13,22
<i>n = 13</i>				

Tabelle 5: IL-4 Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)

Abbildung 21 stellt, analog zu den oben genannten Zytokinen, die Ergebnisse der Konzentrationsbestimmungen für IL-4 in den vier untersuchten Gruppen als Boxplot dar.

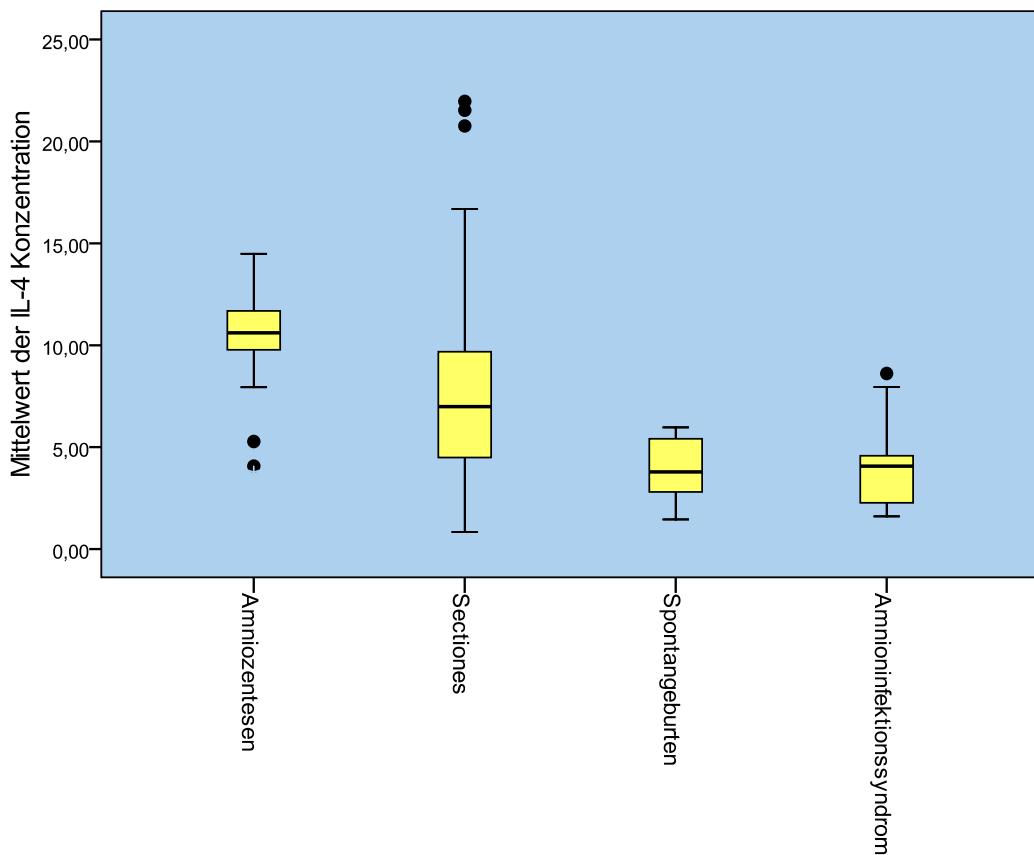
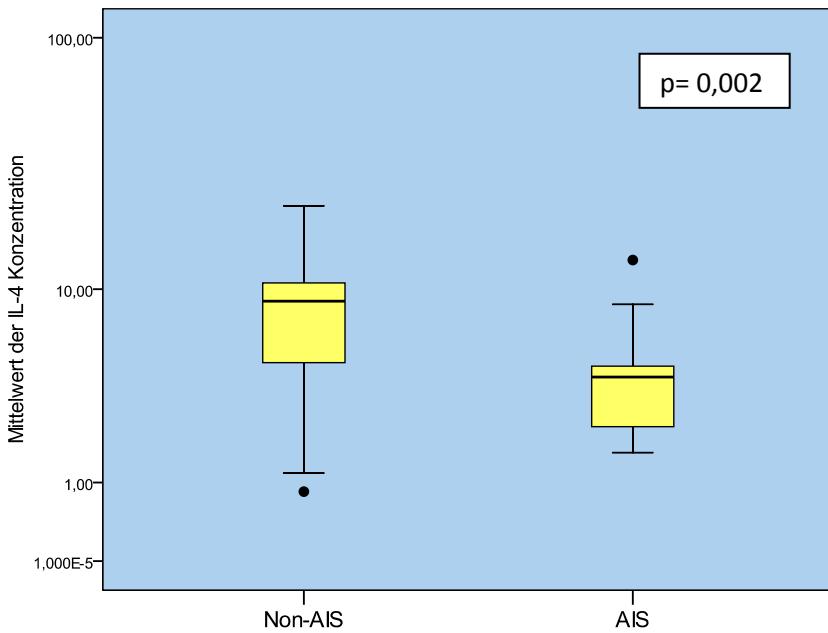


Abbildung 21: IL-4 Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen

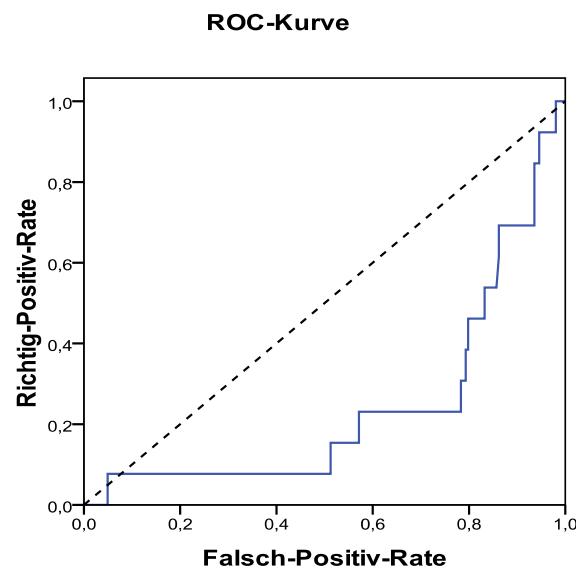
Es lässt sich erkennen, dass die IL-4 Konzentration bei den Amniozentesen am höchsten ist, der Median lag hier bei 10,61 pg/ml. In der Gruppe der Sectiones betrug der Median 6,99 pg/ml. Die niedrigsten IL-4 Messwerte wurden bei der Gruppe Amnioninfektionssyndrom mit einem Median von 4,07 pg/ml und der Gruppe Spontangeburten mit einem Median von 3,79 pg/ml gefunden. Abbildung 22 zeigt die IL-4 Konzentration der gesunden Kontrollgruppe im Vergleich zu den Amnioninfektionssyndrom-Fällen.



	IL-4 Median	IL-4 Spannweite
<b>Kontrollgruppe</b> <i>n</i> = 203	8,89	0,85 – 21,96
<b>AIS</b> <i>n</i> = 13	4,07	1,61 – 13,22

Abbildung 22: IL-4 Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe „AIS“ im Vergleich zur Kontrollgruppe

Vergleicht man die IL-4 Werte der „Non-AIS“- mit denen der „AIS“-Gruppe, so stellt man fest, dass der Median der IL-4 Konzentration in der Kontrollgruppe mit 8,89 pg/ml (von 0,85 pg/ml bis 21,96 pg/ml) deutlich höher lag als der Median der „AIS“-Gruppe, der 4,07 pg/ml (von 1,61 pg/ml bis 13,22 pg/ml) betrug. Mit einem p-Wert von 0,002 konnte dieser Konzentrationsunterschied zwischen den gegenübergestellten Gruppen als signifikant eingestuft werden. Hierzu wurde analog zu den anderen Zytokinen eine ROC-Kurve angelegt, die unsere Ergebnisse bestätigt (Abbildung 23).



---

Abbildung 23: ROC Kurve für IL-4

### 3.3.5 Interleukin-8

Zur Analyse der Interleukin-8 Konzentration im Fruchtwasser gesunder Frauen und Frauen mit Amnioninfektionssyndrom wurden 219 Patientinnen untersucht. Die Ergebnisse der Konzentrationsmessungen sind in Tabelle 6 eingespeist.

	<b>Median</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b>Amnioxentesen</b>				
	645,95	1053,20	142,02	7.909,5
<i>n = 76</i>				
<b>Sectiones caesareae</b>				
	599,57	1.165,43	0,00	17.125
<i>n = 109</i>				
<b>Spontangeburten</b>				
	4.744,8	5.105,32	306,52	11.400
<i>n = 21</i>				
<b>Amnioninfektionssyndrom</b>				
	6.477	6.686,85	304,43	13.850
<i>n = 13</i>				

Tabelle 6: IL-8 Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)

Die nachfolgende Abbildung (Abbildung 24) zeigt die Ergebnisse der gemessenen Interleukin-8 Konzentrationen in den vier Gruppen graphisch veranschaulicht.

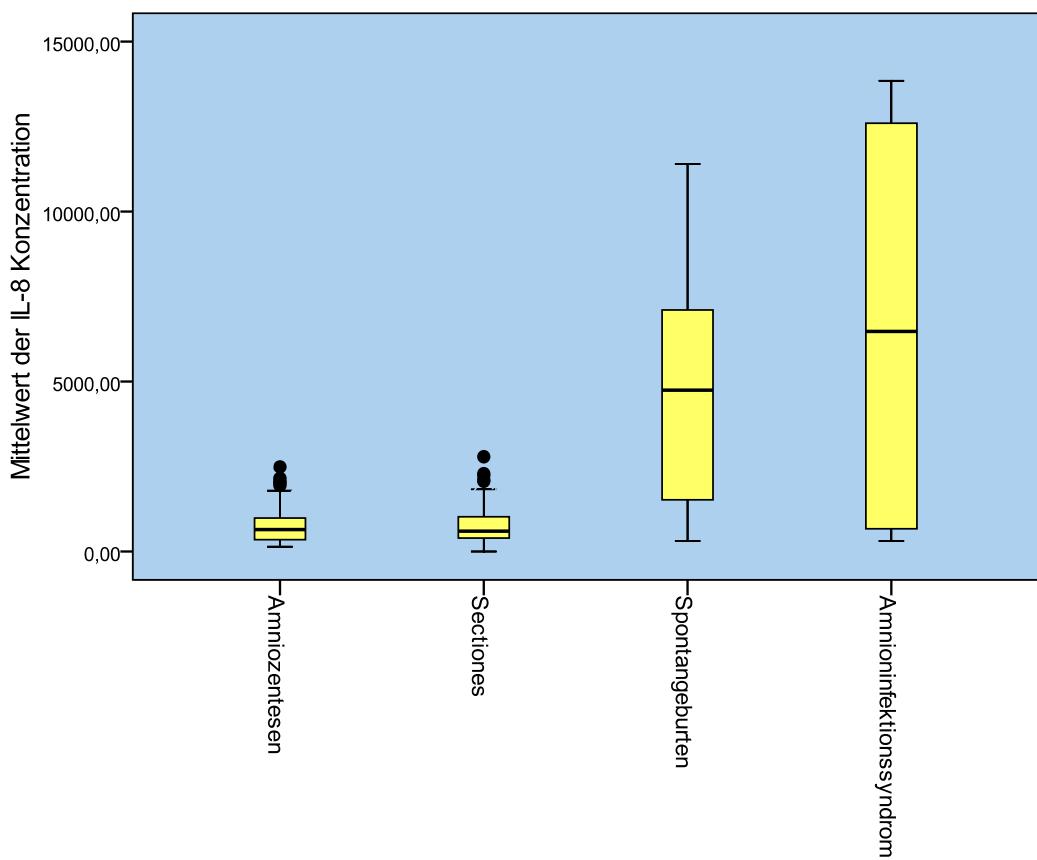
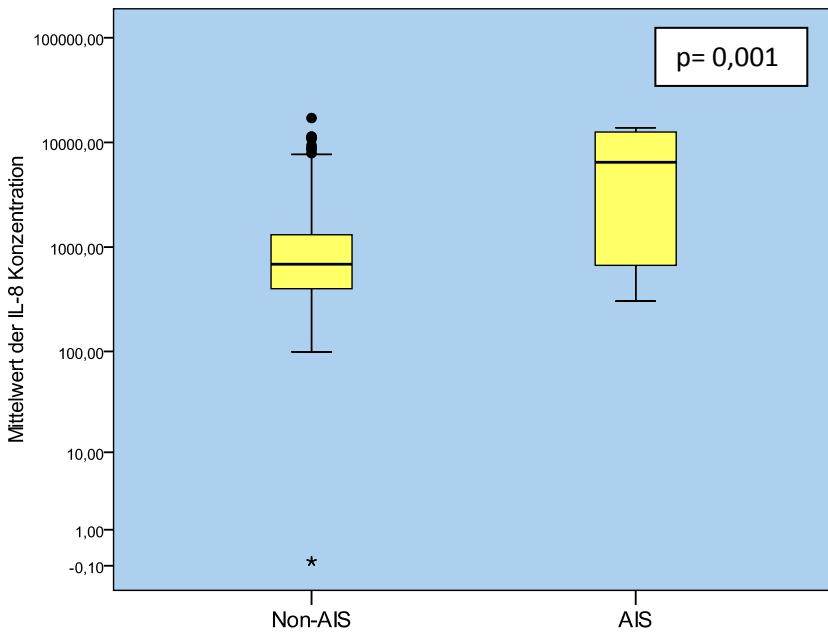


Abbildung 24: IL-8 Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen

Aus Tabelle 6 und Abbildung 24 wird deutlich, dass die IL-8 Konzentration in den Patientinnen mit Amniosentese und in den Patientinnen mit Sectio caesarea deutlich niedriger lag als bei den spontangebärenden Frauen und bei Frauen mit Amnioninfektionssyndrom. So betrug der Median der Gruppe Sectiones 599,57 pg/ml, der der Amniosentesen lag bei 645,95 pg/ml. Die IL-8 Konzentration betrug bei den Spontangebärenden im Median 4.744,8 pg/ml und bei den Patientinnen mit Amnioninfektionssyndrom 6.477 pg/ml im Median.

Um gezielter „Non-AIS“ mit „AIS“ vergleichen zu können, stellten wir diese beiden Gruppen einander gegenüber, was in dem folgenden Boxplot veranschaulicht dargestellt wird (Abbildung 25).



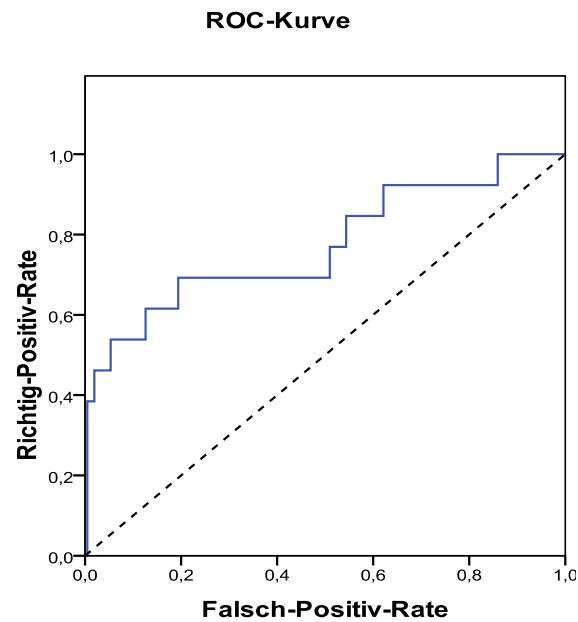
	IL-8 Median	IL-8 Spannweite
<b>Kontrollgruppe</b> <i>n = 206</i>	687,95	0,00 – 17.125
<b>AIS</b> <i>n = 13</i>	6.477	304,43 – 13.850

Abbildung 25: IL-8 Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe „AIS“ im Vergleich zur Kontrollgruppe

Betrachtet man Abbildung 25, so stellt man zum einen fest, dass der Median der IL-8 Konzentration in der Kontrollgruppe bei 687,95 pg/ml lag und der der AIS-Gruppe 6.477 pg/ml betrug. Die Mediane der IL-8 Konzentrationen in den beiden Gruppen lagen folglich weit auseinander. Zum anderen erkennt man das Vorhandensein einer enorm großen Streuung der IL-8 Werte, welche die Beurteilung der Ergebnisse erschwert. Es lässt sich vermuten, dass die IL-8 Konzentrationen hohen interindividuellen Schwankungen unterliegen. Der p-Wert von 0,001 zeigt, dass die IL-8 Konzentration bei den Patientinnen mit Amnioninfektionssyndrom im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher lag. Diese

Ergebnisse werden durch die nachfolgende ROC-Kurve in ihrer Qualität bestätigt (Abbildung 26).

---



---

Abbildung 26: ROC Kurve für IL-8

## 4 Diskussion

Frühgeburtlichkeit und die mit ihr verbundenen Risiken stellen bis heute ein aktuelles und wichtiges Thema in der Gynäkologie und Geburtshilfe dar, da sie Hauptsrisikofaktor für die perinatale Morbidität und Mortalität ist [2]. Weiterhin ergeben sich durch die Frühgeburt enorme Kosten für das Gesundheitssystem. Trotz vieler Behandlungsstrategien wurde zwar eine geringere neonatale Mortalität verzeichnet, bisher aber noch kein Erfolg in der Abnahme der Frühgeburtenrate erreicht [4]. Es gibt multiple Faktoren, die Ursache einer Frühgeburt sein können, wobei die genauen Pathomechanismen, die zu einer Frühgeburt führen können, noch nicht zufriedenstellend und ausreichend geklärt sind.

Eine zentrale Rolle nehmen intrauterine Infektionen in der Entstehung von Frühgeburten ein. Es wird vermutet, dass sie bei über 40% der Frühgeburten beteiligt sind [11].

### C-reaktives Protein und Leukozytenanzahl im Serum

Zur Diagnostik einer intrauterinen Infektion verwendete Parameter wie Fieber, C-reaktives Protein sowie Leukozytenanzahl im mütterlichen Serum werden bezüglich ihrer Sensitivität und Spezifität in der Literatur sehr kontrovers diskutiert [124-129]. Die kontroversen Ergebnisse zeigen auf, dass sowohl CRP als auch der White Blood Cell count (WBC count) im maternalen Serum zur Diagnostik einer intrauterinen Infektion nicht sensitiv und spezifisch genug sind. Weiterhin sind sowohl CRP als auch der Anstieg der Leukozytenanzahl Spätparameter, die erst nach einiger Verzögerung im Serum ansteigen [124, 130-131].

Es gibt immer mehr Studienergebnisse, die vermuten lassen, dass der Anstieg proinflammatorischer Zytokine im Fruchtwasser eine Schlüsselrolle in dem Pathomechanismus des Auftretens von intrauterinen Infektionen, vorzeitigen Wehen und Frühgeburt spielt. So wird angenommen, dass unter anderem IL-8 durch eine Aktivierung der Prostaglandinbiosynthese zu vorzeitigen Wehen und Frühgeburt führen kann [132]. In der vorliegenden Arbeit haben wir fünf Zytokine (IL-8, IL-4, MIP-1alpha, MIP-1beta und GROalpha) im Fruchtwasser untersucht und evaluiert, ob sie geeignete Biomarker zur frühen Diagnosestellung einer intrauterinen Infektion darstellen könnten.

## Interleukin-6

Von den Zytokinen ist Interleukin-6 der aktuell am besten untersuchte und in der Diagnostik der intrauterinen Infektion am häufigsten verwendete Biomarker. Durch die in der Literatur uneinheitlich definierten Grenzbereiche der Interleukin-6 Konzentration im Fruchtwasser und der zusätzlichen hohen interindividuellen Schwankungen der IL-6 Werte ist IL-6 als alleiniger Parameter zur Diagnostik intrauteriner Infektionen unzureichend. Weiterhin wird IL-6 in dieser Rolle zunehmend kontrovers diskutiert [73, 83, 85-86].

Auf der Suche nach geeigneteren und spezifischeren Parametern analysierten wir in unseren Untersuchungen die Zytokine IL-8, IL-4, MIP-1alpha, MIP-1beta, GROalpha und deren Konzentrationen im Fruchtwasser von 225 Patientinnen.

## Interleukin-8

Zu Interleukin-8 und seiner Funktion in der Diagnostik intrauteriner Infektionen wurden bereits mehrere Studien durchgeführt, deren Ergebnisse im Folgenden diskutiert werden sollen. Die Bedeutung und Rolle von Interleukin-8 während der Schwangerschaft und dem Geburtsvorgang ist dabei noch nicht vollständig geklärt [95]. Winkler et al. veröffentlichte Untersuchungen, aus denen hervorgeht, dass IL-8 Granulozyten aktiviert, die zur Freisetzung leukozytärer Kollagenasen führen und hierdurch ein enzymatischer Kollagenabbau stattfindet. Dieser Kollagenabbau trägt zum zervikalen Reifungsprozess bei [133]. Weiterhin aktiviert IL-8 die Prostaglandinsynthese und führt hierdurch zu vorzeitigen Wehen und zur Frühgeburt [132].

Bezüglich der Frage, ob IL-8 im Fruchtwasser gesunder Schwangerer gefunden werden kann, findet man in der Literatur kontroverse Ergebnisse. So konnte die Arbeitsgruppe von Romero 1991 kein IL-8 im Fruchtwasser gesunder Frauen im zweiten Trimenon nachweisen. Dieses Ergebnis basierte auf Fruchtwasserproben von 38 Frauen [99]. Unsere Ergebnisse stimmten nicht mit denen von Romero et al. überein. Wir konnten auch bei gesunden Frauen IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser nachweisen. So wurden von uns Frauen zwischen der 15. und 42. SSW untersucht, die keine Anzeichen einer intrauterinen Infektion hatten. Der

Median der IL-8 Konzentration im Fruchtwasser dieser Kontrollgruppe (Non-AIS-Gruppe) betrug 687,95 pg/ml. Unsere Ergebnisse wurden durch ähnliche Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen bestätigt. So führte Puchner et al. eine retrospektive Studie durch, in der er unter anderem IL-8 im Fruchtwasser von gesunden Frauen im zweiten Trimenon untersuchte und Konzentrationen von < 1800 pg/ml veröffentlichte [100]. Die Arbeitsgruppe um Heikkinen et al. untersuchte Fruchtwasserproben von Frauen mit unauffälligen Schwangerschaften zwischen der 14. und 16. SSW. Der Median der gemessenen IL-8 Konzentration betrug 606 pg/ml [134]. Weiterhin zeigten unsere Ergebnisse eine auffällig große Spannweite der IL-8 Konzentrationen. Damit bestätigten sie die Ergebnisse der anderen Arbeitsgruppen, die darauf hinweisen, dass die IL-8 Konzentrationen hohen interindividuellen Schwankungen unterliegen [74, 101].

Die kontroversen Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Romero können durch die Empfindlichkeit der Immunoassays entstanden sein, wodurch leicht Verfälschungen der Messergebnisse entstehen können. Die Sensitivität der von Romero et al. verwendeten Immunoassays betrug 0,3 ng/ml. Es wäre möglich, dass die IL-8 Werte in ihren Proben jedoch unter dieser Nachweisgrenze gelegen haben könnten. Die Sensitivität unserer Immunoassays betrug 3,5 pg/ml (1,5 – 7,5 pg/ml) und war damit deutlich höher als jene, die von Romero et al. verwendet wurden. Es ist deshalb davon auszugehen, dass IL-8 im Fruchtwasser gesunder Schwangerer in geringer aber konstanter Konzentration exprimiert wird und die kontroversen Ergebnisse von Romero et al. unter anderem durch die geringere Sensitivität ihrer Nachweismethode entstanden sind. Die Konzentrationsangaben der einzelnen Studien können jedoch nur eingeschränkt miteinander verglichen werden, da nur eine geringe Homogenität in der Zusammensetzung der einzelnen Studienkollektive bestand und weder Lagerungsbedingungen noch Lagerungszeiträume der Proben standardisiert durchgeführt wurden. Durch den Vergleich unserer Ergebnisse mit denen der oben genannten Studien lässt sich erkennen, dass IL-8 auch in einer unauffälligen Schwangerschaft in geringerer Konzentration im Fruchtwasser exprimiert wird und die Konzentrationen interindividuell starke Schwankungen aufweisen.

In unserer Arbeit untersuchten wir die Interleukin-8 Konzentration in Fruchtwasserproben von 219 Frauen und konnten feststellen, dass Patientinnen mit intrauteriner Infektion (n = 13) eine signifikant höhere IL-8 Konzentration im Fruchtwasser besaßen als gesunde Frauen

(n= 206). So betrug der Median in der Gruppe der Non-AIS 687,95 pg/ml, während der IL-8 Wert der Frauen mit intrauteriner Infektion bei 6.477 pg/ml lag. Damit stimmen unsere Ergebnisse mit mehreren zu IL-8 durchgeführten Studien überein. So stellten Romero et al. in ihrer Studie fest, dass eine mikrobielle Invasion der Uterushöhle mit erhöhten IL-8 Werten assoziiert werden kann [99]. Jedoch bleibt unklar, ob auch eine intrauterine Infektion vorlag. Ähnliche Ergebnisse konnten von der Arbeitsgruppe um Saji et al gefunden werden. So konnte in ihrer Studie ein signifikanter Anstieg von IL-8 bei Patientinnen mit intrauteriner Infektion gezeigt werden [95]. Auch Zhang et al. betätigte dieses Ergebnis. So untersuchten Zhang et al. 46 Frauen, deren Kinder termingerecht entbunden wurden und die als Kontrollgruppe dienten. Weiterhin untersuchte die Arbeitsgruppe 46 Frauen mit PROM. Die IL-8 Konzentrationen lagen in der PROM-Gruppe signifikant höher ( $p < 0,05$ ). Weiterhin bestätigte Zhang et al., dass bei 12 Frauen mit klinischer Chorioamnionitis die IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht waren ( $p < 0,05$ ) [135]. Die Arbeitsgruppe um Puchner publizierte 1993 Interleukin-8 Konzentrationen im Fruchtwasser von über 10.000 pg/ml bei Patientinnen mit intrauteriner Infektion. Ebenfalls über 10.000 pg/ml stiegen die IL-8 Werte bei einer Infektion des Neugeborenen [100]. IL-8 wird bei Vorhandensein einer intrauterinen Infektion sowohl von choriodezidualen Zellen als auch vom Fetus in hohen Mengen produziert [136-137]. Vermutlich besitzt der Fetus bei infiziertem intrauterinem Fruchtwasser einen Schutzmechanismus, der dadurch greift, dass die vermehrte IL-8 Produktion des Fetus die Auslösung des Wehenbeginns herbeiführen kann. Dies geschieht zum einen dadurch, dass IL-8 durch die Rekrutierung und Aktivierung von neutrophilen Leukozyten Wehen auslösen kann. Zum anderen wird der Wehenbeginn durch die Aktivierung der Prostaglandinsynthese durch IL-8 eingeleitet [132-133]. Diese Annahme wird durch unsere Ergebnisse und die der oben genannten Studien bekräftigt.

Romero et al. publizierten in ihrer Arbeit erhöhte Konzentrationen von IL-8 während der Geburtseinleitung von Frühgebarten aber auch bei dem Geburtsprozess von Termingeschädigten [99]. Auch wir kamen zu diesem Ergebnis und beobachteten im Vergleich zur Gruppe 1 (Amniozentesen) und Gruppe 2 (Sectiones caesareae) erhöhte IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser von Patientinnen, deren Fruchtwasserproben im Rahmen einer Spontangeburt (Gruppe 3) gewonnen wurden. Der Median der Gruppe der Spontangebärenden lag dabei

bei 4.744,8 pg/ ml. Eine Möglichkeit für diesen Zusammenhang besteht darin, dass der Geburtsbeginn und die Wehentätigkeit als ein physiologischer Entzündungsprozess gesehen werden kann und IL-8 als Entzündungsmediator durch die oben genannten Mechanismen zur Auslösung von Wehen führen kann. Zusätzlich kam Winkler et al. zu der Annahme, dass IL-8 an der zervikalen Reifung während der Geburt beteiligt ist [133]. Dies würde auch erklären, weshalb man auch in Abwesenheit einer intrauterinen Infektion erhöhte Fruchtwasserkonzentrationen von IL-8 in der Phase der Geburt nachweisen kann.

Wichtig bei der Beurteilung der genannten Ergebnisse ist die Betrachtung verschiedener Einflussfaktoren, die die IL-8 Konzentrationen zusätzlich zu dem Vorhandensein eines Entzündungsgeschehens beeinflusst haben könnten. Ein wichtiger Aspekt stellt hierbei die Betrachtung des Gestationsalters zum Zeitpunkt der Fruchtwasserabnahme dar. Dieses variierte innerhalb und zwischen den einzelnen Studien deutlich und könnte daher Ursache von abweichenden Messergebnissen sein. Auch in unserer Studie stammen die Fruchtwasserproben von Patientinnen, die sich in unterschiedlichen SSW befanden. In mehreren Studien wurde bereits ein Zusammenhang von IL-8 mit dem Gestationsalter beschrieben. So zeigten die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Elliott et al. und Neunhoeffer et al. einen Anstieg der IL-8 Konzentration gegen Ende der Schwangerschaft [121-122, 138]. Unsere Ergebnisse konnten diesen Anstieg zum Teil bestätigen. So zeigten sich bei den Frauen in höheren SSW (Gruppe Spontangeburten) erhöhte IL-8 Konzentrationen. Bei der Auswertung des gesamten Patientinnenkollektives konnten wir allerdings keinen signifikanten Zusammenhang zwischen IL-8 und der SSW feststellen. Auch Bamberg et al. konnte in seiner Studie keinen Zusammenhang zwischen dem Gestationsalter und den IL-8 Konzentrationen finden [139]. Diese kontroversen Ergebnisse können unter anderem durch die unterschiedliche Empfindlichkeit der Nachweismethoden oder die hohen interindividuellen Schwankungen zustande kommen. Aber auch durch die oben genannte fehlende Standardisierung der Studienkollektive und der Lagerungsbedingungen der untersuchten Proben können Abweichungen der Ergebnisse entstanden sein.

Wir konnten bei unseren Analysen keinen Einfluss des mütterlichen Alters, der Gravidität und Parität auf die IL-8 Konzentrationen feststellen. Bamberg et al. untersuchte unter anderem die IL-8 Konzentrationen in Bezug auf die Parität und bestätigte unsere Ergebnisse [139]. Diese Faktoren scheinen somit die Zytokinexpression nicht zu beeinflussen und

können demnach bei der Interpretation von Zytokinwerten zunächst unberücksichtigt bleiben. Diesbezüglich sind aber sicherlich weitere Untersuchungen notwendig.

Durch den Vergleich der genannten Studien wird deutlich, dass hohe Konzentrationen von IL-8 im Fruchtwasser sehr spezifisch während der Geburt und zum anderen bei intrauteriner Infektion zu finden sind. Hierfür sprechen auch die Untersuchungen von Puchner et al. Diese stellten unter anderem fest, dass zwei der von ihnen untersuchten Frauen mit Fieber und Laryngitis (das heißt Frauen mit einer extrauterinen Infektion) zwar erhöhte CRP Konzentrationen aufwiesen, die IL-8 Konzentrationen jedoch nicht über die 10.000 pg/ml Marke hinaus anstiegen. Eine IL-8 Konzentration über 10.000 pg/ml spricht somit mit hoher Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein einer intrauterinen Infektion [100].

Zudem gilt IL-8 im Rahmen einer intrauterinen Infektion als früh ansteigender Infektionsmarker [111], was ihn gekoppelt mit der beschriebenen Spezifität zu einem wertvollen Biomarker in der Diagnostik einer intrauterinen Infektion macht. IL-8 könnte somit in Zukunft neben IL-6 nicht nur als potentieller singulärer Biomarker, sondern auch in Form von Biomarkerkombinationen zur frühen Diagnose einer intrauterinen Infektion eingesetzt werden [140].

#### Interleukin-4

Es wurden bisher erst wenige Studien durchgeführt, die die Interleukin-4 Konzentrationen im Fruchtwasser bestimmten. Die Arbeitsgruppe um de Moraes-Pinto führte immunhistochemische Untersuchungen und RT-PCR Verfahren mit IL-4 und dessen Rezeptor durch. Ihre Ergebnisse zeigten kontinuierliche IL-4 Produktionen in Zellen des maternofetalen Gewebes während der Schwangerschaft. Da IL-4 mit Zellwachstum und Zelldifferenzierung assoziiert ist [141-142] und außerdem die Synthese extrazellulärer Matrixproteine fördert [143] ist es nicht weiter verwunderlich, dass dieses Interleukin während der gesamten Schwangerschaft im Fruchtwasser aufzufinden ist. Wegmann et al. kamen zudem zu der Annahme, dass das Th2-Zytokin IL-4 den Syncytiotrophoblasten vor der zellulär-vermittelten Immunabwehr der Mutter schützen kann und somit in einer gesunden Schwangerschaft vorhanden sein sollte [144]. Diese Wirkung des IL-4 wurde auch von der

Arbeitsgruppe um Ekerfelt angenommen [145]. Kontroverse Ergebnisse fanden Svensson et al. in einem Versuch an Mäusen. In ihrer Studie konnten Mäuse auch ohne IL-4 eine gesunde Schwangerschaft austragen [146]. Diese uneinheitlichen Ergebnisse könnten sich dadurch erklären lassen, dass IL-4 zwar am Schutz des Syncytiotrophoblasten vor dem mütterlichen Immunsystem teilhat, jedoch insgesamt mehrere Schutzmechanismen existieren und damit auch ohne IL-4 eine gesunde Schwangerschaft prinzipiell möglich ist.

Weiterhin konnten wir unseren Ergebnissen entnehmen, dass bei Frauen mit einer Spontangeburt im Vergleich zu Frauen der Gruppe 1 (Amniozentesen) und der Gruppe 2 (Sectiones caesareae) erniedrigte IL-4 Konzentrationen im Fruchtwasser gemessen wurden. In unseren Untersuchungen konnte weiterhin eine negative Korrelation zum Gestationsalter festgestellt werden. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass IL-4 gegen Ende der Schwangerschaft vermindert exprimiert wird.

Die Rolle von Interleukin-4 im Rahmen einer intrauterinen Infektion ist noch unklar. Dudley et al. veröffentlichte 1996 Ergebnisse die zeigten, dass Frauen mit einer intrauterinen Infektion und nachfolgenden vorzeitigen Wehen und Frühgeburt im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere IL-4 Konzentrationen im Fruchtwasser aufwiesen. Weiterhin stellte die Arbeitsgruppe um Dudley fest, dass nicht nur Frauen mit intrauteriner Infektion, sondern auch Frauen mit vorzeitigen Wehen und Frühgeburt einen höheren IL-4 Spiegel aufwiesen als gesunde Frauen ohne vorzeitige Kontraktionen [75].

Unsere Ergebnisse stimmten diesbezüglich nicht mit den Ergebnissen von Dudley et al. überein. Aus unseren Messungen ging hervor, dass die IL-4 Konzentration im Fruchtwasser der Patientinnen mit Verdacht auf intrauterine Infektion im Vergleich zur Kontrollgruppe (Non-AIS) signifikant niedriger war.

Diese konträren Ergebnisse können auf verschiedene Arten zustande kommen. Eine Schwäche der beiden Studien besteht in der geringen Fallzahl der Patientinnenkollektive. Bei Dudley et al. betrug die Anzahl der Frauen in den einzelnen Kollektiven maximal 10 Patientinnen. Die Kontrollgruppe, die mit den Patientinnen mit intrauteriner Infektion verglichen wurden, bestand aus 48 Frauen. Nur acht Patientinnen wiesen eine intrauterine Infektion auf. Die Fallzahlen unserer Studie waren etwas höher. So setzte sich unsere

Kontrollgruppe aus 203 Patientinnen zusammen und die AIS-Gruppe bestand aus 13 Patientinnen

Eine weitere mögliche Ursache der uneinheitlichen Ergebnisse könnte das inhomogene Studienkollektiv zwischen unserer Studie und der Studie von Dudley gewesen sein. So bestand das Patientinnenkollektiv bei Dudley et al. nur aus Frauen, deren Fruchtwasserproben mittels Amniozentesen gewonnen wurde um genetische Analysen durchführen zu können. Da wir in unseren Ergebnissen, wie weiter oben beschrieben, eine negative Korrelation der IL-4 Konzentration mit dem Gestationsalter feststellen konnten, kann es hier aufgrund unterschiedlich untersuchter SSW in unserer und der Studie von Dudley zu verschiedenen IL-4 Werten in der Kontrollgruppe und Patientinnen mit intrauteriner Infektion geführt haben.

Betrachtet man unser Patientinnenkollektiv, so kann man feststellen, dass wir sowohl unauffällige als auch Risikoschwangerschaften in Bezug auf die IL-4 Konzentration und ihren Zusammenhang mit einer intrauterinen Infektion analysiert haben. Das Gestationsalter in unserer Kontrollgruppe reichte von der 15. bis zur 42. SSW. Die SSW in der Gruppe der Patientinnen mit intrauterinen Infektionen reichte von der 17. bis zur 34. SSW. Somit sind auch Patientinnen im dritten Trimenon in beiden Gruppen eingeschlossen, was die Validität unserer Studie erhöht.

Der von uns unterstützten Annahme, dass IL-4 (das im Gegensatz zu IL-8 ein antiinflammatorisches Zytokin ist) bei einer intrauterinen Infektion vermindert im Fruchtwasser ausgeschüttet wird, könnte ein ähnlicher Mechanismus zugrunde liegen wie der Mechanismus bei dem oben genannten physiologischen Entzündungsgeschehen im Rahmen des Geburtsvorgangs. Bei einer pathologischen Entzündung im Sinne einer intrauterinen Infektion könnten deshalb ebenfalls niedrigere IL-4-Spiegel im Fruchtwasser im Sinne einer reduzierten anti-inflammatorischen Situation vorliegen.

In unseren Untersuchungen zeigte sich, dass IL-4 vor allem bei Wachstumsretardierung des Kindes, bei Oligo- und Polyhydramnion, bei vorzeitigen Wehen und bei Blutungen und Anämie vermindert war. Somit müssten aufgrund unserer Ergebnisse diese Faktoren bei der Interpretation von IL-4-Werten berücksichtigt werden. Hierzu bedarf es allerdings noch über unsere Arbeit hinausreichender und weiterführender Untersuchungen.

Ein weiteres Ergebnis unserer Arbeit zeigte, dass die gemessenen IL-4 Konzentrationen im Fruchtwasser bei unseren Nulli-Para-Frauen signifikant höher waren als bei unseren Multi-Para-Frauen. In unserer Studie konnten wir keine Korrelation von Alter der Mutter, Gravidität, Risikoschwangerschaften oder von anamnestische Risikofaktoren mit der IL-4 Konzentration feststellen. Es lässt sich daher vermuten, dass diese Einflussgrößen keinen Effekt auf die IL-4 Konzentrationen im Fruchtwasser haben. Auch hier wäre es interessant diese Zusammenhänge in zukünftigen Studien ausführlicher zu überprüfen.

Aufgrund der in unserer Arbeit dargestellten signifikanten Konzentrationerniedrigung von IL-4 im Fruchtwasser von Patientinnen mit intrauteriner Infektion (AIS) im Vergleich zu gesunden Patientinnen (Non-AIS) könnte somit IL-4 ebenfalls neben IL-6 und IL-8 als Biomarker im Rahmen der Diagnostik intrauteriner Infektionen eine Rolle spielen.

### MIP-1alpha

MIP-1alpha wurde bereits in einigen Studien mit einer intrauterinen Infektion assoziiert und dahingehend untersucht. MIP-1alpha scheint im Fruchtwasser gesunder Schwangerer vorhanden zu sein, jedoch gibt es hierzu noch nicht genügend literarische Angaben. Chow et al. untersuchten 100 gesunde Patientinnen zwischen der 14. und 16. SSW und konnten MIP-1alpha sowohl im mütterlichen Serum als auch in den Fruchtwasserproben nachweisen. Weiterhin fanden sie im Vergleich zu den Konzentrationen im Fruchtwasser eine höhere MIP-1alpha Konzentration im mütterlichen Serum [74]. Romero et al. konnte MIP-1alpha bei 31% der gesunden Schwangeren im Fruchtwasser nachweisen (Median: 0,0 pg/ml, von 0,0 – 25,6 pg/ml). Die von Romero et al. untersuchten Patientinnen hatten keine Wehen und befanden sich im zweiten und dritten Trimenon der Schwangerschaft [147]. Wir untersuchten gesunde Frauen zwischen der 15. und 42. SSW und konnten eine MIP-1alpha Konzentration im Fruchtwasser von 25,99 pg/ml feststellen. Dabei konnten wir in fast allen Fruchtwasserproben unserer gesunden Patientinnen MIP-1alpha nachweisen.

Romero et al. untersuchten auch Frauen mit termingerechten Geburten, die sich in Wehen befanden und publizierten eine MIP-1alpha Konzentration von 16,7 pg/ml im Median [147]. Dies zeigt eine deutliche Erhöhung der MIP-1alpha Konzentration bei physiologisch

einsetzenden Wehen im Rahmen des Geburtsvorgangs. Auch die Arbeitsgruppe um Dudley et al. stellte fest, dass die Fruchtwasserkonzentrationen von MIP-1alpha bei Wehentätigkeit signifikant erhöht nachweisbar waren ( $p = 0,001$ ) [148]. Die Arbeitsgruppe um Lopez bestätigt diese Annahme indem sie nachweisen konnte, dass die Zellen der chorioamniotischen Membran beim Einsetzen der Wehen vermehrt MIP-1alpha ausschütteten [149]. Unsere Ergebnisse konnten ebenfalls einen Zusammenhang zwischen MIP-1alpha und der Wehentätigkeit bei Spontangeburt bestätigen. So waren die von uns gemessenen MIP-1alpha Konzentrationen im Fruchtwasser der Frauen mit Wehentätigkeit (Gruppe 3: Spontangeburten; Median: 130,51 pg/ml) deutlich höher als die der Frauen ohne Wehentätigkeit (Gruppe 1: Amniozentesen; Median: 23,89 pg/ml, Gruppe 2: Sectiones caesareae; Median: 26,22 pg/ml, Gruppe 4: Amnioninfektionssyndrom; Median: 35,36 pg/ml).

Die Arbeitsgruppe um Dudley konnte eine signifikante MIP-1alpha Konzentrationserhöhung bei Patientinnen mit einer intrauterinen Infektion im Vergleich zu gesunden Patientinnen feststellen ( $p = 0,001$ ). Ihre Ergebnisse gründeten auf Messungen aus Fruchtwasserproben von 110 Frauen, von denen acht eine intrauterine Infektion aufwiesen. Die Studie von Dudley et al. führt zu der Annahme, dass MIP-1alpha sowohl physiologisch bei dem Einsetzen der Wehen als auch pathologisch im Rahmen einer intrauterinen Infektion vermehrt im Fruchtwasser nachweisbar ist [148].

Romero et al. publizierte ähnliche Ergebnisse wie die Arbeitsgruppe um Dudley. Sie untersuchten 126 Patientinnen, von denen 40 Patientinnen von einer mikrobiellen Invasion der Uterushöhle (MIC = microbial invasion oft the amniotic cavity) betroffen waren. Die Ergebnisse der Arbeitsgruppe zeigten signifikant erhöhte MIP-1alpha Werte im Fruchtwasser der Frauen mit einer intrauterinen mikrobiellen Invasion. Da eine MIC nicht immer auch zu einer intrauterinen Infektion führen muss, können diese Ergebnisse nur eine Tendenz aufzeigen, wie sich die MIP-1alpha Konzentrationen bei intrauterinen Infektionen verhalten. Höhere MIP-1alpha Konzentrationen wurden ebenfalls bei Frauen mit einer Frühgeburt nachgewiesen. So betrug die MIP-1alpha Konzentration im Fruchtwasser bei Frauen mit vorzeitigen Wehen und termingerechter Geburt im Median 0,0 pg/ml und bei Frauen mit vorzeitigen Wehen und Frühgeburt 37,4 pg/ml. Patientinnen mit vorzeitigen Wehen und MIC

assozierter Frühgeburt wiesen im Median eine MIP-1alpha Konzentration von 7.171 pg/ml auf [147].

Zusätzlich wiesen Romero et al. eine signifikante Korrelation von MIP-1alpha mit IL-8 nach [147]. Die Ergebnisse von Romero und Dudley untermauern die Annahme dass MIP-1alpha eine wichtige Rolle im Rahmen einer intrauterinen Infektion und Frühgeburtlichkeit spielt. Liegen intrauterinen Erreger vor besteht eine entscheidende Aufgabe des Chemokins in der Rekrutierung von B-Lymphozyten und anderen Leukozyten in die Uterushöhle [147].

In unseren Messungen konnten wir hingegen keine signifikante Konzentrationserhöhung von MIP-1alpha im Fruchtwasser der Frauen mit intrauteriner Infektion feststellen und somit die Ergebnisse der anderen Arbeitsgruppen nicht bestätigen.

Es ist wichtig, unsere Ergebnisse und die der anderen Arbeitsgruppen durch weitere Studien mit größeren Fallzahlen an Patientinnen mit intrauteriner Infektion zu überprüfen. Die kontroversen Ergebnisse können jedoch auch aufgrund der Empfindlichkeit der Immunoassays durch äußere Einflüsse entstehen. Hierdurch können leicht verfälschte Konzentrationswerte gemessen werden. Auch kann es sein, dass die Sensitivität der Nachweismethode die Ergebnisse beeinflusst hat. So konnten Romero et al. wie oben beschrieben MIP-1alpha nur in 31% im Fruchtwasser gesunder Schwangerer feststellen. Die Sensitivität des von Ihnen verwendeten Immunoassays betrug 14,2 pg/ml. Es könnte daher sein dass in den Proben, in denen die Arbeitsgruppe um Romero et al. keine MIP-1alpha Konzentration nachweisen konnte, die Konzentration dieses Chemokins lediglich unter der Nachweisgrenze von 14,2 pg/ml lag. Bei der Arbeitsgruppe um Dudley et al. wurde die Sensitivität des Immunoassays nicht angegeben. Die Sensitivität unseres ELISA-Kits betrug unter 10 pg/ml und war damit sensitiver als die Nachweismethode von Romero et al. Die Abnahme der Proben erfolgte in den Studien auf unterschiedliche Art und Weise. So wurden die Proben bei Romero et al. nur durch Amniosentese gewonnen. Dudley et al. gewann -wie auch wir in unserer Studie- die Proben aus Amniosentesen (bei uns Gruppe 1: Amniosentesen und Gruppe 4: Amnioninfektionssyndrom) aber auch durch Amniotomie (bei uns Gruppe 3: Spontangeburten und Gruppe 2: Sectiones caesareae). Sowohl in der Studie um Dudley et al. als auch in der um Romero et al. gab es keine genauen Angaben ob die Fruchtblase bei Abnahme der Proben wie in unserer Fall bei allen Patienten intakt war. Diese

genannten Unterschiede und die fehlende Standardisierung der Studienkollektive, der Probengewinnung und der Lagerung können zu den beschriebenen uneinheitlichen Ergebnissen geführt haben.

Weiterhin untersuchten wir, ob die MIP-1alpha Konzentration im Verlauf der Schwangerschaft signifikante Schwankungen unterworfen ist. Wir konnten in unseren Ergebnissen keine signifikanten MIP-1alpha Konzentrationsänderungen in Assoziation mit dem Gestationsalter nachweisen. Zudem fanden wir keine Zusammenhänge mit dem Alter der Mutter, dem Vorhandensein einer Risikoschwangerschaft oder Risikofaktoren und aufgetretenen Besonderheiten in der Schwangerschaft. Auch Gravidität und Parität schienen auf die MIP-1alpha Konzentration in unseren Ergebnissen keinen Einfluss zu haben. Zu diesen Aspekten gibt es erst wenige Studien und demnach wenige literarischen Angaben.

MIP1-alpha wird in der frühen Phase des Infektionsgeschehens von dezidualen Zellen produziert und wäre damit im Gegensatz zu CRP als früher Marker einer intrauterinen Infektion einzustufen [77]. In unserer Studie konnten wir jedoch keine signifikanten Konzentrationsunterschiede im Fruchtwasser der Frauen mit und ohne intrauterine Infektion finden und MIP-1alpha folglich nicht als geeigneten Biomarker für die Diagnose einer intrauterinen Infektion evaluieren. Diese Ergebnisse widersprechen allerdings den Untersuchungen von Dudley und Romero et al. wonach die MIP-1alpha Konzentrationen bei Patientinnen mit intrauteriner Infektion erhöht waren [147-148]. Durch die oben genannten Unterschiede in den einzelnen Studien und der dadurch eingeschränkten Vergleichbarkeit ist es durchaus sinnvoll weitere Untersuchungen mit standardisiertem Studiendesign durchzuführen um für eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu sorgen.

### MIP-1beta

MIP-1beta ist ein Chemokin, das bisher in nur wenigen Studien zu finden ist. Chow et al. untersuchte die MIP1-beta Konzentration im Serum und Fruchtwasser 100 gesunder Patientinnen zwischen der 14. und 16. SSW. In ihrer Studie stellten sie fest, dass die Serumkonzentrationen von MIP-1beta positiv mit den MIP-1beta Konzentrationen im Fruchtwasser korrelierten ( $p = 0,027$ ). Die gemessenen MIP-1beta Konzentrationen ergaben

im mütterlichen Serum höhere Werte als in den jeweils gleichzeitig untersuchten Fruchtwasserproben [74]. Wir analysierten die Fruchtwasserproben von 201 gesunden Schwangeren, die sich in der 15. bis 42. SSW befanden. Im Median betrug die MIP-1beta Konzentration im Fruchtwasser dieser Frauen 28,24 pg/ml.

Lopez et al. konnten in ihren Untersuchungen aufzeigen, dass die Amnion- und Chorionzellen mit dem Einsetzen der Wehen vermehrt MIP-1beta ausschütteten [149]. Die Arbeitsgruppe um Holst et al. erstellten mit Hilfe von MIP-1beta, zervikalen Interferon-gamma und MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1) ein Modell, das die Frühgeburtswahrscheinlichkeit bei Frauen mit vorzeitigen Wehen erfasst. Dieses Modell besaß eine Sensitivität von 91%, eine Spezifität von 84%, einen positiven Vorhersagewert von 78% und einen negativen Vorhersagewert von 94% [150]. Diese Studien führen zu der Annahme, dass MIP-1beta Funktionen im Rahmen der Einleitung der Wehentätigkeit und des Geburtsprozesses übernimmt und dementsprechend gegen Ende der Schwangerschaft vermehrt exprimiert wird. Unsere Ergebnisse konnten diesen Zusammenhang bestätigen. So stellten wir fest, dass die MIP-1beta Konzentrationen im Fruchtwasser der Frauen mit Wehen (Gruppe 3: Spontangeburten; Median: 468,59 pg/ml) im Vergleich zu den Frauen ohne Wehentätigkeit (Gruppe 1: Amniozentesen; Median: 28,01 pg/ml und Gruppe 2: Sectiones caesareae; Median: 26,27 pg/ml) deutlich erhöht waren. Dies kann analog zu IL-8 und MIP-1alpha daran liegen, dass im Rahmen der Wehentätigkeit diese proinflammatorischen Zytokine vermehrt exprimiert werden

Unsere Messungen zeigten einen signifikanten Konzentrationsanstieg von MIP-1beta im Fruchtwasser von Frauen mit intrauteriner Infektion. Diese Ergebnisse gründeten auf der Untersuchung von 208 Frauen, von denen sieben von einer intrauterinen Infektion betroffen waren. Der Median der MIP1-beta Konzentration im Fruchtwasser der Frauen mit intrauteriner Infektion betrug 180,82 pg/ml, der der Frauen ohne intrauterine Infektion 28,24 pg/ml. Dieser Konzentrationsanstieg im Rahmen eines intrauterinen Entzündungsgeschehens ist nicht verwunderlich, denn MIP-1beta ist wie bereits beschrieben ein Schlüsselmolekül in der Induktion und Modulierung der Immunantwort des Wirts auf die Erreger, die in der Uterushöhle zur Infektion geführt haben. Dabei besteht eine Hauptaufgabe des MIP-1beta in der Rekrutierung von T-Zellen an den Ort der Entzündung.

Weiterhin untersuchten wir die MIP-1beta Konzentration im Zusammenhang mit dem Alter der Mutter, der Gravidität und Parität sowie dem Einfluss von Risikoschwangerschaften, anamnestischer Risikofaktoren sowie Besonderheiten, die während der Schwangerschaft auftraten. Wir konnten bei all diesen Faktoren keine Assoziation zu der MIP-1beta Konzentration feststellen. Obwohl wir erhöhte Konzentrationen in der Gruppe der Patientinnen mit Spontangeburt und Wehentätigkeit feststellten, konnten wir bei Analyse der SSW des gesamten Patientinnenkollektivs keinen direkten Zusammenhang der MIP-1beta Konzentration mit dem Gestationsalter nachweisen. Aufgrund unserer Ergebnisse scheinen die oben genannten Faktoren die MIP-1beta Expression nicht zu beeinflussen.

Aus unseren Ergebnissen geht hervor, dass MIP-1beta einen geeigneten und frühen Infektionsmarker darstellt. Er könnte demnach in Zukunft nicht nur als singulärer Biomarker, sondern auch in Kombination mit anderen Biomarkern zur frühen Diagnose einer intrauterinen Infektion beitragen.

### GROalpha

Cohen et al. veröffentlichten 1996 eine Studie, deren Ergebnisse unter anderem zeigten, dass GROalpha nicht nur im Rahmen einer intrauterinen Infektion messbar ist, sondern auch unter physiologischen Umständen in der Amnionflüssigkeit zu finden ist. Sie publizierten im Median eine GROalpha Konzentration von 1.900 pg/ml im Fruchtwasser von gesunden Frauen ohne Wehentätigkeit. Bei gesunden Frauen mit Wehen betrug die Konzentration von GROalpha 2.100 pg/ml [116]. Dies zeigt einen leichten Anstieg von GROalpha bei Wehentätigkeit. In unserer Studie konnten wir in der gesunden Kontrollgruppe (15.-42. SSW) eine GROalpha Fruchtwasserkonzentration von 806,7 pg/ml im Median nachweisen.

Als weiteren Aspekt ihrer Arbeit konnte die Arbeitsgruppe um Cohen et al. feststellen, dass die GROalpha Werte im Fruchtwasser bei Frühgeburten ebenfalls leicht erhöht nachweisbar waren. So betrug die GROalpha Konzentration einer Frau mit einer nicht Infektions-assoziierten Frühgeburt 2.300 pg/ml [116]. Dies kann wie oben bereits erwähnt, mit der leicht erhöhten GROalpha Konzentration beim Einsetzen der Wehen zu tun haben.

Als einen Hauptaspekt ihrer Arbeit präsentierten Cohen et al. im Vergleich zu gesunden Frauen signifikant erhöhte GROalpha Konzentrationen im Fruchtwasser von Patientinnen mit intrauteriner Infektion. So wurde bei Frauen mit termingerechten Geburten und MIC (mikrobial invasion oft the amniotic cavity) eine GROalpha Fruchtwasserkonzentration von 2.700 pg/ml im Median (versus Frauen mit termingerechten Geburten ohne MIC: 2.100 pg/ml) gemessen. Am höchsten war die GRO $\alpha$  Konzentration im Fruchtwasser von Frauen, die eine MIC-assoziierte Frühgeburt hatten. Die GROalpha Werte betragen hier im Median 5.000 pg/ml (versus Frauen mit Frühgeburt ohne MIC: 2.300 pg/ml) [116].

Zusätzlich konnten Cohen et al. einen signifikanten Zusammenhang zwischen Leukozytenanzahl im Fruchtwasser und GROalpha Konzentration ermitteln [116].

Diese Ergebnisse lassen annehmen, dass GROalpha eine wichtige Rolle bei dem Pathomechanismus einer intrauterinen Infektion spielt, da es eine starke Chemotaxis auslöst und neutrophile Leukozyten im Rahmen des Entzündungsprozesses in die Uterushöhle rekrutiert [116].

Ähnliche Ergebnisse publizierte auch die Arbeitsgruppe um Hsu et al., die schwangere Patientinnen mit Blasensprung untersuchten sowie Patientinnen, die Uteruskontraktionen oder Wehen hatten. Die Fruchtwasserproben der Patientinnen wurden mittels Amniosentese gewonnen. 14 dieser Patientinnen hatten eine intrauterine Infektion, was in dieser Studie anhand von Kulturen in der Amnionflüssigkeit festgestellt wurde. Allerdings bedeutet ein Keimnachweis nicht zwingend eine intrauterine Infektion weshalb diese Ergebnisse kritisch betrachtet werden müssen. 31 Patientinnen dienten in dieser Studie als gesunde Kontrollgruppe. Bei den Messungen der GROalpha Konzentration im Fruchtwasser ergab sich eine signifikant höhere Konzentration im Fruchtwasser der Frauen mit intrauteriner Infektion ( $p < 0,0001$ ) [118].

In unseren Ergebnissen konnten wir keinen signifikanten Anstieg von GROalpha im Rahmen einer intrauterinen Infektion feststellen. Die Konzentration von GROalpha im Fruchtwasser unserer zwölf Patientinnen mit intrauteriner Infektion betrug im Median 282,07 pg/ml (versus gesunde Kontrollgruppe(n= 207): 806,7 pg/ml).

Es ist wichtig, weitere Studien mit größerem, homologen Studienkollektiv und standardisierten Lagerungsmethoden der Fruchtwasserproben durchzuführen um bessere Aussagen zu GROalpha als Marker einer intrauterinen Infektion machen zu können.

Cohen et al. konnte weiterhin als einen Teilaspekt seiner Studie aufzeigen, dass die GROalpha Konzentration im Fruchtwasser mit dem Gestationsalter anstieg [116]. Unsere Ergebnisse konnten diesen Zusammenhang ebenfalls bestätigen.

Zudem konnten wir bei unseren Untersuchungen feststellen, dass die GROalpha Konzentrationen bei unseren Nulli-Para-Patientinnen im Vergleich zu den Multi-Para-Patientinnen deutlich erniedrigte Werte im Fruchtwasser aufwiesen. Dies könnte dafür sprechen, dass die GROalpha Konzentration durch Sexualhormone beeinflusst wird. Zu dieser Annahme gelangte auch die Arbeitsgruppe um Kanda. Sie untersuchten das Serum von Frauen in unterschiedlichen hormonellen Lebensphasen. Kanda et al. stellten fest, dass Frauen in der Postmenopause signifikant niedrigere GROalpha Werte im Serum aufwiesen als Frauen mit normalen Menstruationszyklen [151].

Zusätzlich untersuchten wir die GROalpha Konzentration im Zusammenhang mit dem Alter der Mutter, der Gravidität, dem Vorhandensein einer Risikoschwangerschaft oder anamnestischen Risikofaktoren sowie Besonderheiten die im Schwangerschaftsverlauf auftraten. Wir konnten auch bei diesem Zytokin keine Assoziation der genannten Faktoren mit der GROalpha Konzentration im Fruchtwasser feststellen.

Durch die aus unserer Arbeit hervorgegangenen Messergebnisse zeigt sich, dass GROalpha für die Diagnostik einer intrauterinen Infektion nicht geeignet zu sein scheint. Es werden aber weitere Studien und Untersuchungen erforderlich sein um diesen Sachverhalt vollkommen zu klären.

## 5 Zusammenfassung

In unserer Studie wurden die Zytokine IL-8, IL-4, MIP-1alpha, MIP-1beta sowie GROalpha im Fruchtwasser von insgesamt 225 Patientinnen untersucht, die sich zwischen der 15. und 42. SSW befanden. In der Kontroll-Gruppe waren 212 Frauen eingeschlossen, die in drei verschiedene Gruppen unterteilt waren. Eine Gruppe beinhaltete Frauen, deren Fruchtwasser durch Amnioxentese gewonnen wurde ( $n = 77$ ), die zweite Gruppe setzte sich aus Frauen zusammen, die eine Sectio erhielten ( $n = 112$ ). Die dritte Gruppe enthielt spontangebärende Frauen ( $n = 23$ ). In der Amnioninfektionssyndrom-Gruppe wurden 13 Patientinnen eingeschlossen.

IL-8 konnte in unserer Studie auch in gesunden schwangeren Patientinnen im Fruchtwasser nachgewiesen werden. Der Median der IL-8 Konzentration im Fruchtwasser betrug dabei 687,95 pg/ml und enthielt eine große interindividuelle Spannweite. Bei Patientinnen mit einer intrauterinen Infektion wurden im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant höhere IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser exprimiert ( $p = 0,001$ ). Weiterhin war IL-8 in der Gruppe der Spontangebärenden im Vergleich zu den Gruppen 1 (Amnioxentesen) und 2 (Sectiones) signifikant höher nachweisbar. Durch unsere Ergebnisse in Zusammenschau mit anderen Studien wird deutlich, dass hohe Konzentrationen von IL-8 im Fruchtwasser sehr spezifisch während der Geburt und zum anderen beim Amnioninfektionssyndrom auftreten. Durch die beschriebene Spezifität eignet sich IL-8 daher trotz hoher interindividueller Spannbreite als Biomarker in der Diagnostik einer intrauterinen Infektion.

In unserer Studie zu IL-4 konnte eine erniedrigte IL-4 Konzentration bei den Spontangebärenden im Vergleich zu den Gruppen 1 (AC) und 2 (Sectio) nachgewiesen werden. In der Gruppe mit intrauteriner Infektion wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikant erniedrigte IL-4 Konzentration ( $p = 0,002$ ) gemessen. Eine erniedrigte IL-4 Konzentration kann daher hinweisend auf das Vorliegen einer intrauterinen Infektion sein und damit als zusätzlicher Biomarker oder als Biomarkerkombination zur Diagnostik einer intrauterinen Infektion beitragen.

In unserer Studie zu MIP-1alpha konnten wir feststellen, dass in fast allen gesunden Patientinnen MIP-1alpha im Fruchtwasser nachweisbar war (Median: 25,99 pg/ml). Unsere Ergebnisse zeigten zudem die höchste Expression von MIP-1alpha in der Gruppe der

spontangebärenden Frauen. Bei den Patientinnen mit intrauterinen Infektionen konnten wir im Vergleich zur Kontrollgruppe keine signifikante Konzentrationsänderung von MIP-1alpha im Fruchtwasser feststellen ( $p = 0,589$ ). Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass MIP-1alpha keinen geeigneten Biomarker zur Diagnostik der intrauterinen Infektion darstellt.

In den Ergebnissen der Untersuchungen zu MIP-1beta zeigte sich in gesunden Schwangeren eine Fruchtwasserkonzentration von 28,24 pg/ml MIP-1beta im Median. Weiterhin konnten wir feststellen, dass die MIP-1beta Konzentrationen im Fruchtwasser von Frauen mit Wehen (Gruppe 3 = Spontangeburten) im Vergleich zu anderen gesunden Schwangeren ohne Wehentätigkeit (Gruppe 1 und 2) deutlich erhöht waren. Bei Frauen mit intrauteriner Infektion konnte eine signifikant erhöhte MIP-1beta Konzentration im Fruchtwasser im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden ( $p = 0,002$ ). Anhand unserer Ergebnisse halten wir MIP-1beta für einen geeigneten Biomarker zur Diagnostik einer intrauterinen Infektion.

GROalpha konnte in unserer gesunden Kontrollgruppe mit einer Fruchtwasserkonzentration von 806,7 pg/ml im Median nachgewiesen werden. Einen signifikanten Konzentrationsanstieg bei schwangeren Patientinnen mit intrauteriner Infektion im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe konnten wir in unserer Studie nicht feststellen ( $p = 0,092$ ). Aus unseren Ergebnissen entnehmen wir, dass GROalpha zur Diagnostik einer intrauterinen Infektion nicht geeignet zu sein scheint.

Weiterhin wurden die Konzentrationen der fünf Zytokine im Fruchtwasser in Abhängigkeit des Gestationsalters untersucht. Bei IL-8, MIP-1alpha und MIP-1beta konnten keine relevanten Konzentrationsänderungen festgestellt werden. Sie können daher nach unseren Ergebnissen unbeeinflusst von dem Gestationsalter zur Diagnostik einer intrauterinen Infektion herangezogen werden. Bei IL-4 zeigte sich eine negative Korrelation mit steigendem Gestationsalter während GROalpha mit zunehmender SSW vermehrt im Fruchtwasser nachweisbar war. Dies gilt es bei der Auswertung der Zytokinmessungen im Hinblick auf eine intrauterine Infektion zu berücksichtigen.

Die Parität zeigte bei IL-8, MIP-1alpha und MIP-1beta keinen Einfluss auf die Zytokinkonzentrationen im Fruchtwasser. Bei den Untersuchungen zu IL-4 fiel jedoch auf, dass IL-4 bei Nulli-Para-Frauen signifikant höher exprimiert wurde als in Multi-Para-Frauen.

Gegenteilig verhielt es sich mit den GROalpha Konzentrationen im Fruchtwasser. Es zeigte sich eine deutlich geringere GROalpha Expression bei Nulli-Para-Frauen im Vergleich zu Multi-Para-Frauen.

Weiterhin konnten erniedrigte IL-4 Konzentrationen bei Wachstumsretardierung des Kindes, bei Oligo- und Polyhydramnion, bei vorzeitigen Wehen sowie bei Blutungen und Anämie festgestellt werden. Die anderen Zytokine zeigten hierzu keine signifikanten Konzentrationsveränderungen.

In unseren Ergebnissen hatten das maternale Altern und die Gravidität keinen Einfluss auf die Konzentrationen der untersuchten Zytokine im Fruchtwasser.

Interleukin-8 wie auch Interleukin-4 und macrophage inflammatory protein-1beta (MIP-1beta) stellen unter Berücksichtigung der oben genannten Einflussfaktoren aussichtsreiche Biomarker im Rahmen der Diagnostik einer intrauterinen Infektion dar. Neben der Klinik und der Messung von IL-6 könnten sie in Zukunft nicht nur als singuläre Biomarker eine Rolle in der Diagnostik der intrauterinen Infektion spielen, sondern vor allem auch im Rahmen geeigneter Biomarkerkombinationen. Da das aktuell häufig verwendeten IL-6 in unserer Arbeitsgruppe sowie in oben genannten Studien zunehmend kontrovers diskutiert wird erscheint es umso wichtiger IL-8, IL-4 und MIP-1beta in Zukunft zusätzlich in der Diagnostik einer intrauterinen Infektion zu etablieren.

## Schlussfolgerung

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass es im Moment noch keine ausreichend spezifischen und sensitiven Tests zur Diagnosestellung einer intrauterinen Infektion gibt. Die Diagnose wird zum größten Teil immer noch klinisch anhand unspezifischer Symptome wie etwa Fieber und Anstieg des CRP im Serum der Mutter gestellt.

Die Bestimmung von Zytokinen im maternalen Serum wird kontrovers diskutiert. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Zytokine aus der Amnionflüssigkeit aufgrund der hohen Plazentaschranke vor allem bei rein intrauteriner Infektion kaum in das maternale Serum überreten. So konnte von Reisenberger et al. bei einem Placentaperfusionsmodell mit radioaktiv markiertem IL-8 kein Anstieg im mütterlichen Blut bei fetaler Perfusion nachgewiesen werden [152].

Folglich bleibt zum Ausschluss einer intrauterinen Infektion die Amniozentese und die Untersuchung des gewonnenen Fruchtwassers weiterhin Goldstandard.

Die Messungen der Zytokine im Fruchtwasser sind daher vielversprechend, es wäre jedoch wünschenswert weitere Studien mit dem Vergleich von Zytokinkonzentrationen von Fruchtwasser und Serum durchzuführen um den Patientinnen gegebenenfalls in der Zukunft eine invasive Diagnostik zu ersparen.

IL-6 ist bereits ein etablierter Infektionsmarker, wird jedoch aktuell sehr kontrovers diskutiert. Auch in unserer Arbeitsgruppe konnte kein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen AIS- und Kontrollgruppe festgestellt werden. Deshalb könnte insbesondere die zusätzliche Bestimmung von IL-8, IL-4 und MIP-1beta die Diagnose einer intrauterinen Infektion in Zukunft deutlich präzisieren.

Um eine weitere Verbesserung der Aussagekraft der gemessenen Zytokine im Fruchtwasser bezüglich des Vorhandenseins einer intrauterinen Infektion zu erreichen, ist es essentiell, weitere Studien zu den physiologischen Konzentrationen im Fruchtwasser und der physiologischen Änderung im Verlauf der Schwangerschaft durchzuführen.

Durch die Kombination der oben genannten Biomarker wäre es möglich, die Diagnose einer intrauterinen Infektion in einem früheren Krankheitsstadium zu stellen. Hierdurch kann

zeitnaher mit einer geeigneten Therapie begonnen werden, was dazu führt, dass das kindliche und mütterliche Outcome in Zukunft verbessert werden kann.

Eine schwierige Entscheidung bleibt es jedoch, bei Verdacht auf eine intrauterine Infektion den richtigen Zeitpunkt der Geburtseinleitung abzuschätzen. So ist es wichtig, das Risiko der Gefährdung der Mutter und des Feten durch die Infektion mit dem Risiko der Unreife des Kindes bei vorzeitiger Entbindung sorgfältig gegeneinander abzuwägen und individuell und der Situation angepasst zu entscheiden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Kiechle, *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 1.Auflage ed. 2007. S. 409 - 410.
2. Vrachnis, N., et al., *Impact of mediators present in amniotic fluid on preterm labour*. In Vivo, 2012. **26**(5): p. 799-812.
3. Andrews, W.W., R.L. Goldenberg, and J.C. Hauth, *Preterm labor: emerging role of genital tract infections*. Infect Agents Dis, 1995. **4**(4): p. 196-211.
4. Goldenberg, R.L. and D.J. Rouse, *Prevention of premature birth*. N Engl J Med, 1998. **339**(5): p. 313-20.
5. Goldenberg, R.L., J.C. Hauth, and W.W. Andrews, *Intrauterine infection and preterm delivery*. N Engl J Med, 2000. **342**(20): p. 1500-7.
6. Goldenberg, R.L., et al., *Bacterial colonization of the vagina during pregnancy in four ethnic groups*. *Vaginal Infections and Prematurity Study Group*. Am J Obstet Gynecol, 1996. **174**(5): p. 1618-21.
7. Fiscella, K., *Race, perinatal outcome, and amniotic infection*. Obstet Gynecol Surv, 1996. **51**(1): p. 60-6.
8. Fiscella, K., *Racial disparities in preterm births. The role of urogenital infections*. Public Health Rep, 1996. **111**(2): p. 104-13.
9. Tucker, J.M., et al., *Etiologies of preterm birth in an indigent population: is prevention a logical expectation?* Obstet Gynecol, 1991. **77**(3): p. 343-7.
10. Hillier, S.L., et al., *A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity*. N Engl J Med, 1988. **319**(15): p. 972-8.
11. Lamont, R.F., *Infection in the prediction and antibiotics in the prevention of spontaneous preterm labour and preterm birth*. BJOG, 2003. **110 Suppl 20**: p. 71-5.
12. Gibbs, R.S., et al., *A review of premature birth and subclinical infection*. Am J Obstet Gynecol, 1992. **166**(5): p. 1515-28.
13. Eschenbach, D.A., et al., *Bacterial vaginosis during pregnancy. An association with prematurity and postpartum complications*. Scand J Urol Nephrol Suppl, 1984. **86**: p. 213-22.
14. Hillier, S.L., et al., *Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant*. *The Vaginal Infections and Prematurity Study Group*. N Engl J Med, 1995. **333**(26): p. 1737-42.
15. Gravett, M.G., et al., *Preterm labor associated with subclinical amniotic fluid infection and with bacterial vaginosis*. Obstet Gynecol, 1986. **67**(2): p. 229-37.
16. Meis, P.J., et al., *The preterm prediction study: significance of vaginal infections. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network*. Am J Obstet Gynecol, 1995. **173**(4): p. 1231-5.
17. Holst, E., A.R. Goffeng, and B. Andersch, *Bacterial vaginosis and vaginal microorganisms in idiopathic premature labor and association with pregnancy outcome*. J Clin Microbiol, 1994. **32**(1): p. 176-86.
18. Krohn, M.A., et al., *The genital flora of women with intraamniotic infection*. *Vaginal Infection and Prematurity Study Group*. J Infect Dis, 1995. **171**(6): p. 1475-80.
19. Silver, H.M., et al., *Evidence relating bacterial vaginosis to intraamniotic infection*. Am J Obstet Gynecol, 1989. **161**(3): p. 808-12.
20. Hillier, S.L., et al., *The role of bacterial vaginosis and vaginal bacteria in amniotic fluid infection in women in preterm labor with intact fetal membranes*. Clin Infect Dis, 1995. **20 Suppl 2**: p. S276-8.
21. Fan, Y.D., et al., *Acute pyelonephritis in pregnancy*. Am J Perinatol, 1987. **4**(4): p. 324-6.
22. Benedetti, T.J., R. Valle, and W.J. Ledger, *Antepartum pneumonia in pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 1982. **144**(4): p. 413-7.
23. Xiong, X., et al., *Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review*. BJOG, 2006. **113**(2): p. 135-43.

24. Agrawal, V. and E. Hirsch, *Intrauterine infection and preterm labor*. Semin Fetal Neonatal Med, 2012. **17**(1): p. 12-9.
25. Bryant-Greenwood, G.D., et al., *Relaxin stimulates interleukin-6 and interleukin-8 secretion from the extraplacental chorionic cytotrophoblast*. Placenta, 2009. **30**(7): p. 599-606.
26. Lockwood, C.J., *The diagnosis of preterm labor and the prediction of preterm delivery*. Clin Obstet Gynecol, 1995. **38**(4): p. 675-87.
27. Goldenberg, R.L., et al., *Pregnancy outcome following a second-trimester loss*. Obstet Gynecol, 1993. **81**(3): p. 444-6.
28. Hack, M. and A.A. Fanaroff, *Outcomes of extremely immature infants--a perinatal dilemma*. N Engl J Med, 1993. **329**(22): p. 1649-50.
29. McCormick, M.C., *The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity*. N Engl J Med, 1985. **312**(2): p. 82-90.
30. Lorenz, J.M., et al., *A quantitative review of mortality and developmental disability in extremely premature newborns*. Arch Pediatr Adolesc Med, 1998. **152**(5): p. 425-35.
31. Briese, V., *Amnioninfektionssyndrom*. Gynäkologe, 1999.
32. Newton, E.R., *Chorioamnionitis and intraamniotic infection*. Clin Obstet Gynecol, 1993. **36**(4): p. 795-808.
33. Mueller-Heubach, E., D.N. Rubinstein, and S.S. Schwarz, *Histologic chorioamnionitis and preterm delivery in different patient populations*. Obstet Gynecol, 1990. **75**(4): p. 622-6.
34. Chellam, V.G. and D.I. Rushton, *Chorioamnionitis and funiculitis in the placentas of 200 births weighing less than 2.5 kg*. Br J Obstet Gynaecol, 1985. **92**(8): p. 808-14.
35. Mi Lee, S., et al., *The frequency and risk factors of funisitis and histologic chorioamnionitis in pregnant women at term who delivered after the spontaneous onset of labor*. J Matern Fetal Neonatal Med, 2011. **24**(1): p. 37-42.
36. Newton, E.R., *Preterm labor, preterm premature rupture of membranes, and chorioamnionitis*. Clin Perinatol, 2005. **32**(3): p. 571-600.
37. Czikk, M.J., F.P. McCarthy, and K.E. Murphy, *Chorioamnionitis: from pathogenesis to treatment*. Clin Microbiol Infect, 2011. **17**(9): p. 1304-11.
38. Romero, R., et al., *Inflammation in preterm and term labour and delivery*. Semin Fetal Neonatal Med, 2006. **11**(5): p. 317-26.
39. Steel, J.H., et al., *Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor*. Pediatr Res, 2005. **57**(3): p. 404-11.
40. Sperling, R.S., E. Newton, and R.S. Gibbs, *Intraamniotic infection in low-birth-weight infants*. J Infect Dis, 1988. **157**(1): p. 113-7.
41. Fowler, P., *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus chorioamnionitis: a rare cause of fetal death in our community*. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2002. **42**(1): p. 97-8.
42. Baschat, A.A., et al., *Prevalence of viral DNA in amniotic fluid of low-risk pregnancies in the second trimester*. J Matern Fetal Neonatal Med, 2003. **13**(6): p. 381-4.
43. Tsekoura, E.A., et al., *Adenovirus genome in the placenta: association with histological chorioamnionitis and preterm birth*. J Med Virol, 2010. **82**(8): p. 1379-83.
44. Janssens, S. and R. Beyaert, *Role of Toll-like receptors in pathogen recognition*. Clin Microbiol Rev, 2003. **16**(4): p. 637-46.
45. Lee, Y., et al., *The effects of labour and of interleukin 1 beta upon the expression of nuclear factor kappa B related proteins in human amnion*. Mol Hum Reprod, 2003. **9**(4): p. 213-8.
46. Romero, R., et al., *The role of inflammation and infection in preterm birth*. Semin Reprod Med, 2007. **25**(1): p. 21-39.
47. Patel, F.A. and J.R. Challis, *Prostaglandins and uterine activity*. Front Horm Res, 2001. **27**: p. 31-56.
48. Phillippe, M., M. Elovitz, and T. Saunders, *Thrombin-stimulated uterine contractions in the pregnant and nonpregnant rat*. J Soc Gynecol Investig, 2001. **8**(5): p. 260-5.
49. Romero, R., et al., *Tumor necrosis factor in preterm and term labor*. Am J Obstet Gynecol, 1992. **166**(5): p. 1576-87.

50. Tanaka, Y., et al., *Interleukin-1beta and interleukin-8 in cervicovaginal fluid during pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **179**(3 Pt 1): p. 644-9.
51. Winkler, M., et al., *Interleukin-1beta and interleukin-8 concentrations in the lower uterine segment during parturition at term*. Obstet Gynecol, 1998. **91**(6): p. 945-9.
52. Romero, R., et al., *The preterm parturition syndrome*. BJOG, 2006. **113 Suppl 3**: p. 17-42.
53. Girardi, G., et al., *The complement system in the pathophysiology of pregnancy*. Mol Immunol, 2006. **43**(1-2): p. 68-77.
54. Lynch, A.M., et al., *Early elevations of the complement activation fragment C3a and adverse pregnancy outcomes*. Obstet Gynecol, 2011. **117**(1): p. 75-83.
55. Yoon, B.H., et al., *An increase in fetal plasma cortisol but not dehydroepiandrosterone sulfate is followed by the onset of preterm labor in patients with preterm premature rupture of the membranes*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **179**(5): p. 1107-14.
56. Romero, R., et al., *A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **179**(1): p. 186-93.
57. Fahey, J.O., *Clinical management of intra-amniotic infection and chorioamnionitis: a review of the literature*. J Midwifery Womens Health, 2008. **53**(3): p. 227-35.
58. Tita, A.T. and W.W. Andrews, *Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis*. Clin Perinatol, 2010. **37**(2): p. 339-54.
59. Menon, R., R.N. Taylor, and S.J. Fortunato, *Chorioamnionitis--a complex pathophysiologic syndrome*. Placenta, 2010. **31**(2): p. 113-20.
60. Guzick, D.S. and K. Winn, *The association of chorioamnionitis with preterm delivery*. Obstet Gynecol, 1985. **65**(1): p. 11-6.
61. Hampl, M., et al., *[Determination of cytokines and cytokine receptors in premature labor]*. Geburtshilfe Frauenheilkd, 1995. **55**(9): p. 483-9.
62. Popowski, T., et al., *[Prediction of maternofetal infection in preterm premature rupture of membranes: serum maternal markers]*. Gynecol Obstet Fertil, 2011. **39**(5): p. 302-8.
63. Dornbusch, H.J., et al., *Procalcitonin and C-reactive protein do not discriminate between febrile reaction to anti-T-lymphocyte antibodies and Gram-negative sepsis*. Bone Marrow Transplant, 2003. **32**(9): p. 941-5.
64. Prat, C., et al., *Evaluation of procalcitonin, neopterin, C-reactive protein, IL-6 and IL-8 as a diagnostic marker of infection in patients with febrile neutropenia*. Leuk Lymphoma, 2008. **49**(9): p. 1752-61.
65. Redline, R.W., et al., *Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns*. Pediatr Dev Pathol, 2003. **6**(5): p. 435-48.
66. Andrews, W.W., et al., *Amniotic fluid interleukin-6: correlation with upper genital tract microbial colonization and gestational age in women delivered after spontaneous labor versus indicated delivery*. Am J Obstet Gynecol, 1995. **173**(2): p. 606-12.
67. Romero, R., et al., *A comparative study of the diagnostic performance of amniotic fluid glucose, white blood cell count, interleukin-6, and gram stain in the detection of microbial invasion in patients with preterm premature rupture of membranes*. Am J Obstet Gynecol, 1993. **169**(4): p. 839-51.
68. Elimian, A., et al., *Amniotic fluid complement C3 as a marker of intra-amniotic infection*. Obstet Gynecol, 1998. **92**(1): p. 72-6.
69. Asadullah, K., W. Sterry, and H.D. Volk, *Analysis of cytokine expression in dermatology*. Arch Dermatol, 2002. **138**(9): p. 1189-96.
70. Loppnow, Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen. Der Internist, 2001. **42**(1): p. 13-27.
71. Cannon, J.G., *Inflammatory Cytokines in Nonpathological States*. News Physiol Sci, 2000. **15**: p. 298-303.
72. Reimer, F., *Aktuelle Erkenntnisse zur Bedeutung der Zytokine bei der Wehenentstehung*. Geburtshilfe und Frauenheilkunde, 2000: p. 182-186.

73. Yoon, B.H., et al., *Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity*. Am J Obstet Gynecol, 1995. **172**(3): p. 960-70.
74. Chow, S.S., et al., *Differences in amniotic fluid and maternal serum cytokine levels in early midtrimester women without evidence of infection*. Cytokine, 2008. **44**(1): p. 78-84.
75. Dudley, D.J., et al., *Elevation of amniotic fluid interleukin-4 concentrations in women with preterm labor and chorioamnionitis*. Am J Perinatol, 1996. **13**(7): p. 443-7.
76. Jones, S.A., *Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6*. J Immunol, 2005. **175**(6): p. 3463-8.
77. Dudley, D.J., et al., *Regulation of human decidual cell macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 alpha) production by inflammatory cytokines*. Am J Reprod Immunol, 1995. **34**(4): p. 231-5.
78. Kacerovsky, M., et al., [Amniotic fluid interleukin 6 levels in preterm premature rupture of membranes]. Ceska Gynkol, 2009. **74**(6): p. 403-10.
79. Negishi, H., et al., *Correlation between cytokine levels of amniotic fluid and histological chorioamnionitis in preterm delivery*. J Perinat Med, 1996. **24**(6): p. 633-9.
80. Romero, R., et al., *Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection*. J Clin Invest, 1990. **85**(5): p. 1392-400.
81. Putz, I., et al., [Appearance of inflammatory cytokines interleukin-1 beta and interleukin-6 in amniotic fluid during labor and in intrauterine pathogen colonization]. Z Geburtshilfe Neonatol, 1998. **202**(1): p. 14-8.
82. Ghidini, A., et al., *Elevated amniotic fluid interleukin-6 levels during the early second trimester are associated with greater risk of subsequent preterm delivery*. Am J Reprod Immunol, 1997. **37**(3): p. 227-31.
83. D'Alfonso, A., et al., *Cytokine levels in amniotic fluid: a marker of preterm labor?* Clin Exp Obstet Gynecol, 2006. **33**(1): p. 34-5.
84. Genc, M.R. and C.E. Ford, *The clinical use of inflammatory markers during pregnancy*. Curr Opin Obstet Gynecol, 2010. **22**(2): p. 116-21.
85. Cobo, T., et al., *Clinical and inflammatory markers in amniotic fluid as predictors of adverse outcomes in preterm premature rupture of membranes*. Am J Obstet Gynecol, 2011. **205**(2): p. 126 e1-8.
86. Miura, H., et al., *Neutrophil elastase and interleukin-6 in amniotic fluid as indicators of chorioamnionitis and funisitis*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2011. **158**(2): p. 209-13.
87. Baggolini, M., A. Walz, and S.L. Kunkel, *Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils*. J Clin Invest, 1989. **84**(4): p. 1045-9.
88. Wolff, B., et al., *Endothelial cell "memory" of inflammatory stimulation: human venular endothelial cells store interleukin 8 in Weibel-Palade bodies*. J Exp Med, 1998. **188**(9): p. 1757-62.
89. Baggolini, M. and I. Clark-Lewis, *Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine*. FEBS Lett, 1992. **307**(1): p. 97-101.
90. Rot, A., *Neutrophil attractant/activation protein-1 (interleukin-8) induces in vitro neutrophil migration by haptotactic mechanism*. Eur J Immunol, 1993. **23**(1): p. 303-6.
91. Utgaard, J.O., et al., *Rapid secretion of prestored interleukin 8 from Weibel-Palade bodies of microvascular endothelial cells*. J Exp Med, 1998. **188**(9): p. 1751-6.
92. Kettritz, R., et al., *Interleukin-8 delays spontaneous and tumor necrosis factor-alpha-mediated apoptosis of human neutrophils*. Kidney Int, 1998. **53**(1): p. 84-91.
93. Li, A., et al., *IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis*. J Immunol, 2003. **170**(6): p. 3369-76.
94. Brat, D.J., A.C. Bellail, and E.G. Van Meir, *The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis*. Neuro Oncol, 2005. **7**(2): p. 122-33.

95. Saji, F., et al., *Cytokine production in chorioamnionitis*. J Reprod Immunol, 2000. **47**(2): p. 185-96.
96. Kacerovsky, M., et al., *Value of amniotic fluid interleukin-8 for the prediction of histological chorioamnionitis in preterm premature rupture of membranes*. Neuro Endocrinol Lett, 2009. **30**(6): p. 733-8.
97. Allbert, J.R., et al., *Amniotic fluid interleukin-6 and interleukin-8 levels predict the success of tocolysis in patients with preterm labor*. J Soc Gynecol Investig, 1994. **1**(4): p. 264-8.
98. Evers, A.C., et al., *Intrapartum fever at term: diagnostic markers to individualize the risk of fetal infection: a review*. Obstet Gynecol Surv, 2012. **67**(3): p. 187-200.
99. Romero, R., et al., *Neutrophil attractant/activating peptide-1/interleukin-8 in term and preterm parturition*. Am J Obstet Gynecol, 1991. **165**(4 Pt 1): p. 813-20.
100. Puchner, T., et al., *Amniotic fluid interleukin-8 as a marker for intraamniotic infection*. Arch Gynecol Obstet, 1993. **253**(1): p. 9-14.
101. Hoffmann, E., et al., *Multiple control of interleukin-8 gene expression*. J Leukoc Biol, 2002. **72**(5): p. 847-55.
102. Davey, E.J., et al., *STAT6 is required for the regulation of IL-4-induced cytoskeletal events in B cells*. Int Immunol, 2000. **12**(7): p. 995-1003.
103. Choi, P. and H. Reiser, *IL-4: role in disease and regulation of production*. Clin Exp Immunol, 1998. **113**(3): p. 317-9.
104. Witkin, S.S., et al., *Individual immunity and susceptibility to female genital tract infection*. Am J Obstet Gynecol, 2000. **183**(1): p. 252-6.
105. Joachim Rassow, K.H., Roland Netzker, Rainer Deutzmann, *Biochemie*. 2006: Thieme.
106. Chomarat, P. and J. Banchereau, *An update on interleukin-4 and its receptor*. Eur Cytokine Netw, 1997. **8**(4): p. 333-44.
107. Tepper, R.I., P.K. Pattengale, and P. Leder, *Murine interleukin-4 displays potent anti-tumor activity in vivo*. Cell, 1989. **57**(3): p. 503-12.
108. Cook, D.N., *The role of MIP-1 alpha in inflammation and hematopoiesis*. J Leukoc Biol, 1996. **59**(1): p. 61-6.
109. M. Maurer, E.v.S., *Macrophage inflammatory protein-1*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2004. **36**.
110. Graham, G.J., et al., *Characterization of a receptor for macrophage inflammatory protein 1 alpha and related proteins on human and murine cells*. Cell Growth Differ, 1993. **4**(3): p. 137-46.
111. Lillard, J.W., Jr., et al., *MIP-1alpha and MIP-1beta differentially mediate mucosal and systemic adaptive immunity*. Blood, 2003. **101**(3): p. 807-14.
112. Schall, T.J., *The Cytokine Handbook*. 2nd edition ed. 1994, New York: Academic Press.
113. Schall, T.J., et al., *Human macrophage inflammatory protein alpha (MIP-1 alpha) and MIP-1 beta chemokines attract distinct populations of lymphocytes*. J Exp Med, 1993. **177**(6): p. 1821-6.
114. Harrison, A.M., et al., *Respiratory syncytial virus-induced chemokine expression in the lower airways: eosinophil recruitment and degranulation*. Am J Respir Crit Care Med, 1999. **159**(6): p. 1918-24.
115. Alam, R., et al., *Macrophage inflammatory protein-1 alpha activates basophils and mast cells*. J Exp Med, 1992. **176**(3): p. 781-6.
116. Cohen, J., et al., *GRO alpha in the fetomaternal and amniotic fluid compartments during pregnancy and parturition*. Am J Reprod Immunol, 1996. **35**(1): p. 23-9.
117. Geiser, T., et al., *The interleukin-8-related chemotactic cytokines GRO alpha, GRO beta, and GRO gamma activate human neutrophil and basophil leukocytes*. J Biol Chem, 1993. **268**(21): p. 15419-24.
118. Hsu, C.D., et al., *The role of amniotic fluid L-selectin, GRO-alpha, and interleukin-8 in the pathogenesis of intraamniotic infection*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **178**(3): p. 428-32.

119. Goldenberg, R.L., et al., *Vaginal fetal fibronectin measurements from 8 to 22 weeks' gestation and subsequent spontaneous preterm birth*. Am J Obstet Gynecol, 2000. **183**(2): p. 469-75.
120. Wenstrom, K.D., et al., *Elevated second-trimester amniotic fluid interleukin-6 levels predict preterm delivery*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **178**(3): p. 546-50.
121. Elliott, C.L., et al., *IL-1beta and IL-8 in human fetal membranes: changes with gestational age, labor, and culture conditions*. Am J Reprod Immunol, 2001. **46**(4): p. 260-7.
122. Neunhoeffer, F., et al., *Influence of Gestational Age, Cesarean Section and Hematocrit on Interleukin-8 Concentrations in Plasma and Detergent-Lysed Whole Blood of Noninfected Newborns*. Transfus Med Hemother, 2011. **38**(3): p. 183-189.
123. Weiβ, C., *Basiswissen Medizinische Statistik*. 5. Aufl. 2010 (27. April 2010): Springer. 368
124. Nowak, M., et al., [Intrauterine infections. I. The role of C-reactive protein, white blood cell count and erythrocyte sedimentation rate in pregnant women in the detection of intrauterine infection after preliminary rupture of membranes]. Ginekol Pol, 1998. **69**(8): p. 615-22.
125. Wiwanitkit, V., *Maternal C-reactive protein for detection of chorioamnionitis: an appraisal*. Infect Dis Obstet Gynecol, 2005. **13**(3): p. 179-81.
126. Trochez-Martinez, R.D., P. Smith, and R.F. Lamont, *Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: a systematic review*. BJOG, 2007. **114**(7): p. 796-801.
127. Yoon, B.H., et al., *Serum C-reactive protein, white blood cell count, and amniotic fluid white blood cell count in women with preterm premature rupture of membranes*. Obstet Gynecol, 1996. **88**(6): p. 1034-40.
128. Afsaneh Amirabi, S.N., Zahra Yekta and Yeganeh Sadeghi, *Chorioamnionitis and Diagnostic Value of C-reactive Protein, Erythrocyte Sedimentation Rate and White Blood Cell Count in its Diagnosis Among Pregnant Women with Premature Rupture of Membranes*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2012. **15**(9): p. 454-458.
129. Ibarra Chavarría V, S.S.P., Mota González M, del Rey Pineda G, Karchmer S., *C-reactive protein as early marker of chorioamnionitis in premature rupture of membranes*. Ginecol Obstet Mex., 1989.
130. Egarter and *Der frühe vorzeitige Blasensprung*  
in *Der Gynäkologe*. 2001. p. 732-738.
131. Nowak, M., et al., [Intrauterine infection. II. The effect of intravenous dexamethasone on the results of C-reactive protein, white blood cell count and erythrocyte sedimentation rate during the expectant management of premature rupture of membranes]. Ginekol Pol, 1998. **69**(8): p. 623-7.
132. Steinborn, A., et al., [Cytokines in the diagnosis of amniotic infection syndrome]. Z Geburtshilfe Perinatol, 1994. **198**(1): p. 1-5.
133. Winkler, M., *Role of cytokines and other inflammatory mediators*. BJOG, 2003. **110 Suppl 20**: p. 118-23.
134. Heikkinen, J., et al., *Cytokine levels in midtrimester amniotic fluid in normal pregnancy and in the prediction of pre-eclampsia*. Scand J Immunol, 2001. **53**(3): p. 310-4.
135. Zhang, W., et al., *Changes in cytokine (IL-8, IL-6 and TNF-alpha) levels in the amniotic fluid and maternal serum in patients with premature rupture of the membranes*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei), 2000. **63**(4): p. 311-5.
136. Shimoya, K., et al., *Interleukin-8 in cord sera: a sensitive and specific marker for the detection of preterm chorioamnionitis*. J Infect Dis, 1992. **165**(5): p. 957-60.
137. Shimoya, K., et al., *Human placenta constitutively produces interleukin-8 during pregnancy and enhances its production in intrauterine infection*. Biol Reprod, 1992. **47**(2): p. 220-6.
138. Elliott, C.L., et al., *Interleukin 8 expression in human myometrium: changes in relation to labor onset and with gestational age*. Am J Reprod Immunol, 2000. **43**(5): p. 272-7.
139. Bamberg, C., et al., *Mid-trimester amniotic fluid concentrations of the proinflammatory cytokines IL-6, IL-8, TNF-alpha, and lipopolysaccharide binding protein in normal pregnancies*:

- a prospective evaluation according to parity, gestational age, and fetal gender.* J Perinat Med, 2011. **39**(4): p. 403-9.
140. Cobo, T., et al., *Predictive value of combined amniotic fluid proteomic biomarkers and interleukin-6 in preterm labor with intact membranes.* Am J Obstet Gynecol, 2009. **200**(5): p. 499 e1-6.
  141. Morisaki, T., et al., *Interleukin 4 receptor expression and growth inhibition of gastric carcinoma cells by interleukin 4.* Cancer Res, 1992. **52**(21): p. 6059-65.
  142. Obiri, N.I., et al., *Expression of high-affinity IL-4 receptors on human melanoma, ovarian and breast carcinoma cells.* Clin Exp Immunol, 1994. **95**(1): p. 148-55.
  143. Postlethwaite, A.E., et al., *Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4.* J Clin Invest, 1992. **90**(4): p. 1479-85.
  144. Wegmann, T.G., et al., *Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon?* Immunol Today, 1993. **14**(7): p. 353-6.
  145. Ekerfelt, C., et al., *Paternal leukocytes selectively increase secretion of IL-4 in peripheral blood during normal pregnancies: demonstrated by a novel one-way MLC measuring cytokine secretion.* Am J Reprod Immunol, 1997. **38**(5): p. 320-6.
  146. Svensson, L., et al., *The Th2 cytokines IL-4 and IL-10 are not crucial for the completion of allogeneic pregnancy in mice.* J Reprod Immunol, 2001. **51**(1): p. 3-7.
  147. Romero, R., et al., *Macrophage inflammatory protein-1 alpha in term and preterm parturition: effect of microbial invasion of the amniotic cavity.* Am J Reprod Immunol, 1994. **32**(2): p. 108-13.
  148. Dudley, D.J., et al., *Elevations of amniotic fluid macrophage inflammatory protein-1 alpha concentrations in women during term and preterm labor.* Obstet Gynecol, 1996. **87**(1): p. 94-8.
  149. Gomez Lopez, N.Y., et al., *[Assessment of a microarray of solid-phase antibodies to the study of chemokines secreted by the chorioamniotic membrane].* Ginecol Obstet Mex, 2006. **74**(12): p. 666-70.
  150. Holst, R.M., et al., *Prediction of spontaneous preterm delivery in women with preterm labor: analysis of multiple proteins in amniotic and cervical fluids.* Obstet Gynecol, 2009. **114**(2 Pt 1): p. 268-77.
  151. Kanda, Y., et al., *GRO-alpha in human serum: differences related to age and sex.* Am J Reprod Immunol, 1997. **38**(1): p. 33-8.
  152. Reisenberger, K., et al., *The transfer of interleukin-8 across the human placenta perfused in vitro.* Obstet Gynecol, 1996. **87**(4): p. 613-6.

## 7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der verschiedenen Kompartimente, die von einer intrauterinen Infektion betroffen sein können .....	11
Abbildung 2: Verteilung der Häufigkeit der Indikationen für die Durchführung einer Amniosentese	23
Abbildung 3: Die häufigsten Indikationen für die Durchführung einer primären Sectio	24
Abbildung 4: Vergleich der SSW zum Zeitpunkt der Fruchtwasserentnahme zwischen den vier Gruppen	38
Abbildung 5: Die CRP-Konzentration im Serum (mg/dl) bei Patientinnen mit AIS im Vergleich zur Kontrollgruppe	40

Abbildung 6: Die Leukozytenanzahl (Leukozyten/ $\mu$ l Serum) bei Patientinnen mit AIS und bei Patientinnen der Kontrollgruppe .....	41
Abbildung 7: Aufschlüsselung der wichtigsten Besonderheiten und deren Einfluss auf die IL-4 Konzentration (pg/ml) .....	43
Abbildung 8: Zytokinkonzentrationen (pg/ml) in Abhängigkeit von der SSW .....	44
Abbildung 9: Zytokinkonzentrationen (pg/ml) in Abhängigkeit vom maternalen Alter .....	45
Abbildung 10: Konzentration von GROalpha (pg/ml) in Abhängigkeit von der Parität .....	47
Abbildung 11: Konzentration von IL-4 (pg/ml) in Abhängigkeit von der Parität .....	48
Abbildung 12: MIP-1alpha Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen .....	50
Abbildung 13: MIP-1alpha Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe „AIS“ im Vergleich zur Kontrollgruppe .....	51
Abbildung 14: ROC-Kurve für MIP-1alpha .....	52
Abbildung 15: MIP-1beta Konzentrationen(pg/ml) in den untersuchten Gruppen .....	54
Abbildung 16: MIP-1beta Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe "AIS" im Vergleich zur Kontrollgruppe .....	55
Abbildung 17: ROC-Kurve für MIP-1beta .....	56
Abbildung 18: GROalpha Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen.....	58
Abbildung 19: GROalpha Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe "AIS" im Vergleich zur Kontrollgruppe .....	59
Abbildung 20: ROC-Kurve für GROalpha .....	60
Abbildung 21: IL-4 Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen .....	62
Abbildung 22: IL-4 Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe "AIS" im Vergleich zur Kontrollgruppe .....	63
Abbildung 23: ROC-Kurve für IL-4 .....	64
Abbildung 24: IL-8 Konzentrationen (pg/ml) in den untersuchten Gruppen .....	66
Abbildung 25: IL-8 Konzentrationen (pg/ml) in der Gruppe „AIS“ im Vergleich zur Kontrollgruppe....	66
Abbildung 26: ROC-Kurve für IL-8 .....	68

## **8 Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Beschreibung des Patientenkollektivs .....	37
Tabelle 2: MIP-1alpha Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)	49
Tabelle 3: MIP-1beta Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)	53
Tabelle 4: GROalpha Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)	57
Tabelle 5: IL-4 Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)	61
Tabelle 6: IL-8 Konzentration der verschiedenen Gruppen im Fruchtwasser (pg/ml)	65

## **9 Abkürzungsverzeichnis**

AIS = Amnioninfektionssyndrom

AC = Amniozentese (n)

BEL = Beckenendlage

CRH = Corticotropin-Releasing-Hormon

CRP = C-reaktives Protein

CTG = Cardiotocography

Da = atomare Masseneinheit in Dalton, 1 kDa = 1000 Da

ELISA = Enzyme Linked Immunosorbent Assay

et al. = lat. : et alii (Maskulinum), et aliae (Femininum), dt: "und andere"

G = Gauge-Wert, steht für den Außendurchmesser einer Kanüle

GROalpha = growth regulated oncogene-alpha

IFN- $\gamma$  = Interferon gamma

Ig = Immunglobulin

IL = Interleukin

LPS = Lipopolysaccharid (e)

MCP-1 = monocyte chemotactic protein-1

MIAC/ MIC = microbial invasion of the amniotic cavity

MIP-1 = Macrophage Inflammatory Protein-1

ml = Milliliter

NF-KB = nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells

ng = Nanogramm

OD = optischer Dichtewert

PCR = Polymerase Chain Reaction

PPROM = preterm prelabor rupture of membranes

pg = Picogramm

RT-PCR = Reverse transcription polymerase chain reaction

SG = Spontangeburt (en)

SS = Schwangerschaft

SSW = Schwangerschaftswoche

TLR = Toll-like receptor

TNFalpha = Tumornekrosefaktor alpha

WBC-count = White Blood Cell count

Z.n. = Zustand nach

µl = Mikroliter

## 10 Eidesstattliche Versicherung

## **Eidesstattliche Versicherung**

# **Schultz, Vanessa**

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema  
Bestimmung der Zytokine MIP-1alpha, MIP-1beta, GROalpha, Interleukin-4 und  
Interleukin-8 im Fruchtwasser von Frauen mit Verdacht auf eine intrauterine Infektion

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

## **10.08.15**

---

Ort, Datum

---

Unterschrift Doktorandin/Doktorand