

Aus dem gynäkologischen Facharztzentrum  
Premium Medizin von  
Univ. Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Prof. h.c. Dr. h.c. E. R.  
Weissenbacher

Zusammenhang zwischen gynäkologischen Beschwerden,  
Interleukin 4 und Interleukin 12 im Vaginalsekret und Erregern  
im Vaginalabstrich

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

der medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
vorgelegt

von

Marina Julia Carmela Derondeau, geb. Lechner  
aus München

München, 2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
Der Universität München

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Referent: Prof. Dr. Ernst Weißenbacher

Korreferent: Prof. Dr. Ursula Peschers

Tag der Promotion: 24.03.2022

Widmung

Für meine Eltern und Mirko

# INHALTSVERZEICHNIS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....  | 6         |
| <b>Abbildungsverzeichnis</b> .....  | 7         |
| <b>I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG</b> .....                              | <b>9</b>  |
| <b>1.1 Einleitung</b> .....   | <b>9</b>  |
| 1.1.1 Historisches und immunologische Grundlagen.....                     | 9         |
| 1.1.2 Interleukine 4 und 12.....  | 14        |
| 1.1.2.1 Interleukin 4 .....   | 14        |
| 1.1.2.2 Interleukin 12 .....  | 17        |
| 1.1.3 Physiologie und Pathologie der Vaginalflora.....                    | 18        |
| 1.1.4 Vulvodynie .....  | 20        |
| <b>1.2 Fragestellung</b> .....  | <b>22</b> |
| <b>II. MATERIAL UND METHODEN</b> .....                                    | <b>22</b> |
| <b>2.1 Patientinnen</b> .....   | <b>22</b> |
| 2.1.1 Altersverteilung .....  | 22        |
| 2.1.2 Beschreibung des Kollektivs .....                                   | 24        |
| 2.1.3 Angaben von gynäkologischen Beschwerden durch die Patientinnen..... | 24        |
| <b>2.2 Kultur</b> .....   | <b>25</b> |
| 2.2.1 Materialentnahme .....  | 25        |
| 2.2.2 Kulturanlage auf Agarplatten .....                                  | 25        |
| 2.2.3 Grampräparat.....   | 26        |
| <b>2.3 Enzymelinked Immunosorbent Assay (ELISA)</b> .....                 | <b>26</b> |
| 2.3.1 Vaginalspülung.....   | 26        |
| 2.3.2 Grundlagen .....  | 27        |
| 2.3.3 IL-4 ELISA .....  | 28        |
| 2.3.2.2 Durchführung .....  | 28        |
| 2.3.2.3 Auswertung .....  | 29        |
| 2.3.3 IL-12 ELISA .....   | 30        |
| 2.3.3.1 Durchführung .....  | 30        |
| 2.3.3.2 Auswertung .....  | 31        |

|      |                                 |    |
|------|---------------------------------|----|
| 2.4  | Statistische Analysen.....      | 33 |
| III. | ERGEBNISSE .....                | 43 |
| IV.  | DISKUSSION .....                | 49 |
| V.   | ZUSAMMENFASSUNG .....           | 54 |
| VI.  | ANHANG .....                    | 56 |
| 6.1  | Literaturverzeichnis.....       | 56 |
| 6.2  | Danksagung .....                | 62 |
| 6.3  | Eidesstattliche Erklärung ..... | 63 |

## Abkürzungsverzeichnis

|                 |   |
|-----------------|---|
| CD              | Cluster of differentiation                                  |
| CO <sub>2</sub> | Kohlenstoffdioxid   |
| CRP             | C-reaktives Protein   |
| E. Coli         | Escherichia Coli  |
| ELISA           | Enzyme-linked immunosorbant assay                           |
| HRP             | Horseradish Peroxidase                                      |
| IFN             | Interferon  |
| IgA             | Immunglobulin A   |
| IgE             | Immunglobulin E   |
| IgG             | Immunglobulin G   |
| IgM             | Immunglobulin M   |
| IL              | Interleukin   |
| ISSVD           | International Society for the Study of Vulvovaginal Disease |
| MHC I           | Major Histocompatibility Complex I                          |
| MHC II          | Major Histocompatibility Complex II                         |
| ml              | Milliliter  |
| µl              | Mikroliter  |
| NK-Zelle        | Natürliche Killerzelle                                      |
| pg              | pikogramm   |
| pH              | potentia hydrogenii   |
| TH-Zelle        | T-Helferzelle   |
| TMB             | Tetramethylbenzidin   |
| TNF alpha       | Tumornekrosefaktor alpha                                    |

## Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Interaktion der B-Zellen mit den TH<sub>2</sub>-Zellen (Quelle: miamed Amboss)
- Abb. 2: allgemeiner Aufbau eines Immunglobulins am Beispiel von IgG (Quelle: miamed Amboss)
- Abb. 3: die Rolle von IL-4 in der Interaktion mit B- und T-Zellen (Quelle: miamed Amboss)
- Abb. 4: Struktur von IL-4 (Quelle: Wikipedia, Interleukin 4)
- Abb. 5: Struktur von IL-12 (Quelle: Wikipedia, Interleukin 12)
- Abb. 6: prozentuale Altersverteilung der Patientinnen
- Abb. 7: absolute Altersverteilung der Patientinnen
- Abb. 8: Vergleich des Patientenkollektivs mit der Normalverteilung
- Abb. 9: Sandwich ELISA (Quelle: ILSBio)
- Abb. 10: IL-4-Konzentration im Vaginalsekret
- Abb. 11: IL-12-Konzentration im Vaginalsekret
- Abb. 12: Angaben aller Patientinnen bezüglich Fluor
- Abb. 13: Angaben aller Patientinnen bezüglich Vulvodynie
- Abb. 14: Angaben aller Patientinnen bezüglich Pruritus
- Abb. 15: Angaben aller Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml bezüglich Fluor
- Abb. 16: Angaben von Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml bezüglich Vulvodynie
- Abb. 17: Angaben von Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml bezüglich Pruritus
- Abb. 18: Angaben von Patientinnen mit IL-4 < 10 pg/ml bezüglich Fluor
- Abb. 19: Angaben von Patientinnen mit IL-4 < 10 pg/ml bezüglich Vulvodynie
- Abb. 20: Angaben von Patientinnen mit IL-4 < 10 pg/ml bezüglich Pruritus
- Abb. 21: Wie viele aller Patientinnen, die Fluor angeben, sind postmenopausal?
- Abb. 22: Wie viele aller Patientinnen, die Vulvodynie angeben, sind postmenopausal?

- Abb. 23: Wie viele aller Patientinnen, die Pruritus angeben, sind postmenopausal?
- Abb. 24: Wie viele aller Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml, die Vulvodynie angeben, sind postmenopausal?
- Abb. 25: Wie viele der Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml, die Pruritus angeben, sind postmenopausal?
- Abb. 26: Wie viele der Patientinnen mit mindestens einer Beschwerde haben einen pathologischen Abstrich?
- Abb. 27: Wie viele der beschwerdefreien Patientinnen haben einen pathologischen Abstrich?
- Abb. 28: Wie viele der Patientinnen mit erhöhtem IL-4 und Beschwerden haben einen pathologischen Abstrich?
- Abb. 29: Wie viele der Patientinnen ohne erhöhtes IL-4 mit mindestens einer Beschwerde haben einen pathologischen Abstrich?
- Abb. 30: Korrelation nach Pearson I
- Abb. 31: Korrelation nach Pearson II
- Abb. 32: Vulvodynie und Pruritus bei erhöhtem bzw. nicht erhöhtem Wert für IL-4
- Abb. 33: Auftreten der Beschwerde Vulvodynie im Zusammenhang mit der Höhe des IL-4-Wertes
- Abb. 34: Vulvodynie - Unterscheidung zwischen postmenopausal und fertil
- Abb. 35: Pruritus - Unterscheidung zwischen postmenopausal und fertil
- Abb. 36: Vorliegen pathologischer Abstriche bei Patientinnen mit Beschwerden in Zusammenhang mit IL-4
- Abb. 37: Vorliegen pathologischer Abstriche im Zusammenhang mit IL-4 im Vaginalsekret
- Abb. 38: Gegenüberstellung von Beschwerden und pathologischen Abstrichen in der Gruppe mit erhöhtem IL-4 gegenüber der Gruppe mit normwertigem IL-4



# **I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG**

## **1.1 Einleitung**

### 1.1.1 Historisches und immunologische Grundlagen

Die Geschichte der Immunologie beginnt bereits im Jahr 430 vor Christus, als von dem Geschichtsschreiber Thucydides erste immunologische Zusammenhänge erkannt wurden. Zur Zeit der Attischen Seuche konnte er in Erfahrung bringen, dass die Versorgung der erkrankten Menschen nur von denjenigen, welche die Erkrankung bereits selbst durchlebt hatten, folgenlos übernommen werden konnte. [25, 26, 27]

Ein weiterer bedeutsamer Schritt war die Einführung der ersten Schutzimpfung durch Dr. Edward Jenner (1749 – 1823) im Rahmen derer die Patienten nach einer verhältnismäßig harmlos verlaufenden Infektion mit Kuhpocken nicht an der humanpathogenen Pockeninfektion durch Orthopoxviren erkrankten, welche oftmals tödlich verläuft. [25, 26, 27]

Weitere Meilensteine der Immunologie wurden von Louis Pasteur (1822 – 1895) und Robert Koch (1843 – 1910) gesetzt. Pasteur impfte erstmals erfolgreich gegen Tollwut und entwickelte das nach ihm benannte Hitzeverfahren zur Keimreduktion (Pasteurisieren). Koch bewies, dass Infektionen durch Mikroorganismen verursacht werden, er entdeckte den Erreger der Tuberkulose und entwickelte einen Impfstoff gegen diesen. [28, 29]

Schließlich entwickelten sich zwei unterschiedliche Betrachtungsweisen; einerseits nahmen die Humoralimmunologen, zu denen Paul Ehrlich und Emil Adolf von Behring zählten, an, dass das Immunsystem hauptsächlich in humoraler Form im Blutserum zu finden sei, andererseits vertraten die Zellularimmunologen, unter denen sich beispielsweise Ilja Iljitsch Metschnikow befand, die Ansicht, dass hauptsächlich zelluläre Bestandteile für das Immunsystem von Bedeutung seien. [30, 27]

Gegen Ende der 1950er Jahre entschlüsselte Rodney Porter die Struktur von Antikörpern. Etwa zur selben Zeit wurden die Aufgabenbereiche von B- und T-Lymphozyten erschlossen. 1984 erhielten Nils Kaj Jerne, Georges Köhler und César Milstein den Nobelpreis der Medizin für ihre Forschung bezüglich monoklonaler Antikörper. [31, 27]

In der heutigen Zeit wird die Immunologie definiert als Lehre über die Abwehr von Mikroorganismen jeglicher Art sowie über das Erkennen und Beseitigen genetisch defekter Zellen. Auch das Entsorgen unerwünschter Produkte sowie der Erhalt der Gewebemöostase

können als zur Immunologie dazugehörig betrachtet werden. [32]

Grundsätzlich wird zwischen der unspezifischen, angeborenen und der spezifischen, erworbenen Immunabwehr unterschieden. Beide bedienen sich sowohl zellulärer als auch humoraler Komponenten.

Die unspezifische Immunabwehr bedarf keiner speziellen Prägung oder Anpassung an den Erreger und ist dadurch unmittelbar zum Zeitpunkt des Eindringens infektiösen Materials reaktionsfähig. Zur unspezifischen Abwehr zählt neben intakter Haut und intakten Schleimhäuten, welche als physikalische Barriere fungieren, die Produktion von Mucus, welcher Lysozym, Laktoferrin oder Immunglobuline enthalten kann. Ein weiterer Aspekt ist die Existenz einer natürlichen Flora, welche in einer Symbiose mit Mikroorganismen steht. Insbesondere auf die Vaginalflora werde ich in Punkt 1.1.3 näher eingehen.

Man unterteilt die unspezifische Immunabwehr weiter in einen zellulären und einen humoralen Anteil. Zu den Zellen der unspezifischen Immunabwehr zählen Granulozyten, das Mononucleäre Phagozytosesystem, zu welchem Monozyten, sowie Makrophagen gehören, und natürliche Killerzellen. Die antigenpräsentierenden, dendritischen Zellen sind ebenfalls Teil des unspezifischen Immunsystems. Darüber hinaus sind zelluläre Oberflächenproteine, welche der Antigenpräsentation dienen, beteiligt. Diese humorale Komponente umfasst das Komplementsystem und die Akute-Phase-Proteine.

Zu den Aufgaben neutrophiler Granulozyten, welche mit 40 bis 60% den Hauptteil der Granulozyten ausmachen, zählt neben der unspezifischen Antigenerkennung und der Phagozytose die Produktion bakterizider Substanzen. Zur Zuständigkeit der eosinophilen Granulozyten zählen die Freisetzung bakterizider und zytotoxischer Proteine sowie die Sekretion von proinflammatorischen Substanzen. Die Aufgabe basophiler Granulozyten besteht in der unspezifischen Antigenerkennung mittels IgE-Rezeptoren. Sämtliche Granulozyten entstammen der myeloischen Stammzellreihe.

Das Mononucleäre Phagozytosesystem besteht aus Monozyten und Makrophagen. Beide entstammen der myeloischen Stammzellreihe, beide sind zur Phagozytose befähigt. Entweder verbleiben die Monozyten im zirkulierenden Blut und transportieren Antigene phagozytierter Erreger in regionale Lymphknoten, oder sie differenzieren sich zu Makrophagen und siedeln sich in peripheren Geweben an. Monozyten und Makrophagen sind antigenpräsentierende Zellen und fungieren dadurch als Schnittstelle zum spezifischen Immunsystem.

Natürliche Killerzellen enthalten Granula mit lytischen und zytotoxischen Enzymen, mittels

derer sie virusinfizierte Zellen eliminieren können. Im Falle, dass eine Zelle kein körpereigenes MHC I zu präsentieren vermag, wird sie von der NK Zelle abgetötet, indem diese degranuliert und die enthaltenen Enzyme freigesetzt werden. Die NK-Zelle ist des Weiteren zur antikörpervermittelten Zytotoxizität sowie zur Sekretion von Zytokinen (z.B. TNF alpha) befähigt.

Dendritische Zellen sind in der Lage, mittels MHC I und auch MHC II endozytierte und prozessierte Antigene zu präsentieren und tragen dadurch zur Differenzierung der B-Lymphozyten bei. Es findet sich somit auch hier eine Schnittstelle zum spezifischen Immunsystem.

Auch Mastzellen können, obgleich sie nicht im klassischen Sinn zum unspezifischen Immunsystem gezählt werden, an der unspezifischen Immunantwort beteiligt sein, indem sie durch IgE aktiviert werden. Sie initiieren daraufhin eine Entzündungsreaktion mittels Freisetzung von Enzymen und proinflammatorischen Zytokinen.

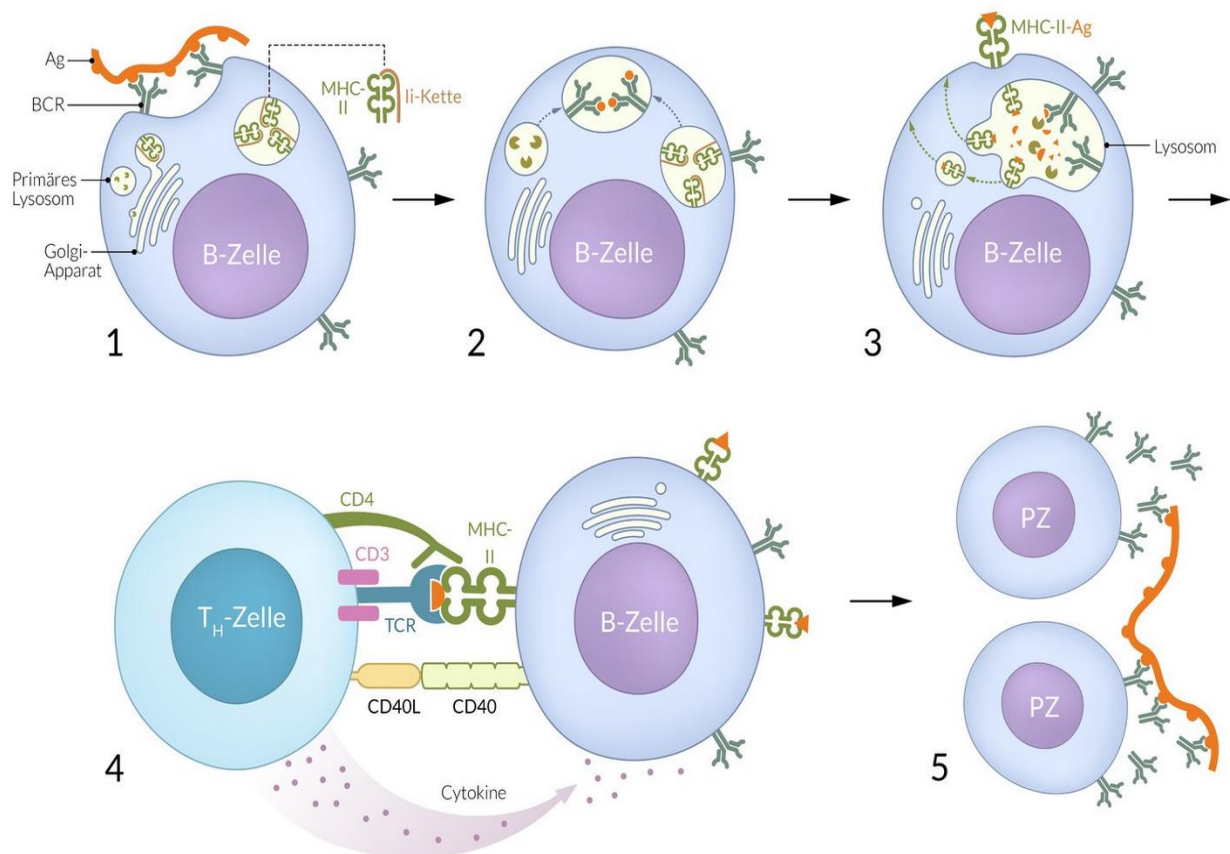
Zu den zellulären Oberflächenproteinen zählen die bereits erwähnten Komplexe MHC I und MHC II. MHC I ist ein Komplex, welcher für Oberflächenantigene codiert, die sich auf allen kernhaltigen Körperzellen befinden. Durch das permanente Präsentieren von Fragmenten körpereigener Proteine kann die Zelle als zum Organismus gehörig identifiziert werden. Mittels MHC I können CD8 positive T-Lymphozyten und NK-Zellen aktiviert werden. MHC II ist den auf die Antigenpräsentation spezialisierten Zellen vorbehalten. Makrophagen, B-Lymphozyten und dendritische Zellen sind mittels des MHC II in der Lage, extrazelluläre Erreger zu präsentieren und hierdurch CD4 positive T-Lymphozyten zu aktivieren.

Unter Zuhilfenahme im Blut zirkulierender Proteine kann ebenfalls eine weitergehende Immunantwort veranlasst werden. Zu diesen humoralen Komponenten zählen das Komplementsystem und die Akute-Phase-Proteine. Das Komplementsystem ist zu Opsonierung, Chemotaxis und bakterieller Lyse fähig. Zu den Akute-Phase-Proteinen zählen unter anderem CRP, Ferritin, Fibrinogen, Haptoglobin, Procalcitonin und IL-6.

Im Gegensatz zum unspezifischen Immunsystem muss das spezifische zunächst aktiviert werden. Es reagiert somit später jedoch zielgerichteter und effektiver. Das spezifische Immunsystem ist zur Gedächtnisbildung fähig.

T-Lymphozyten werden gemäß ihrer Oberfläche in CD4 positive und CD8 positive Zellen eingeteilt. Bei den CD4 positiven Zellen wird weiter in TH<sub>1</sub>-Helferzellen und TH<sub>2</sub>-Helferzellen unterteilt. TH<sub>1</sub>-Zellen sind zur Produktion von Zytokinen sowie zur Stimulation

von Makrophagen in der Lage. TH<sub>2</sub>-Zellen interagieren mit B-Lymphozyten, wodurch die TH<sub>2</sub>-Zellen selbst zur Zytokinproduktion angeregt werden. In den B-Zellen wird durch diese Interaktion die Differenzierung zur Immunglobulinproduzierenden Plasmazelle initiiert. Des Weiteren wird durch die TH<sub>2</sub>-Zelle der Klassenwechsel hin zu IgE verursacht.

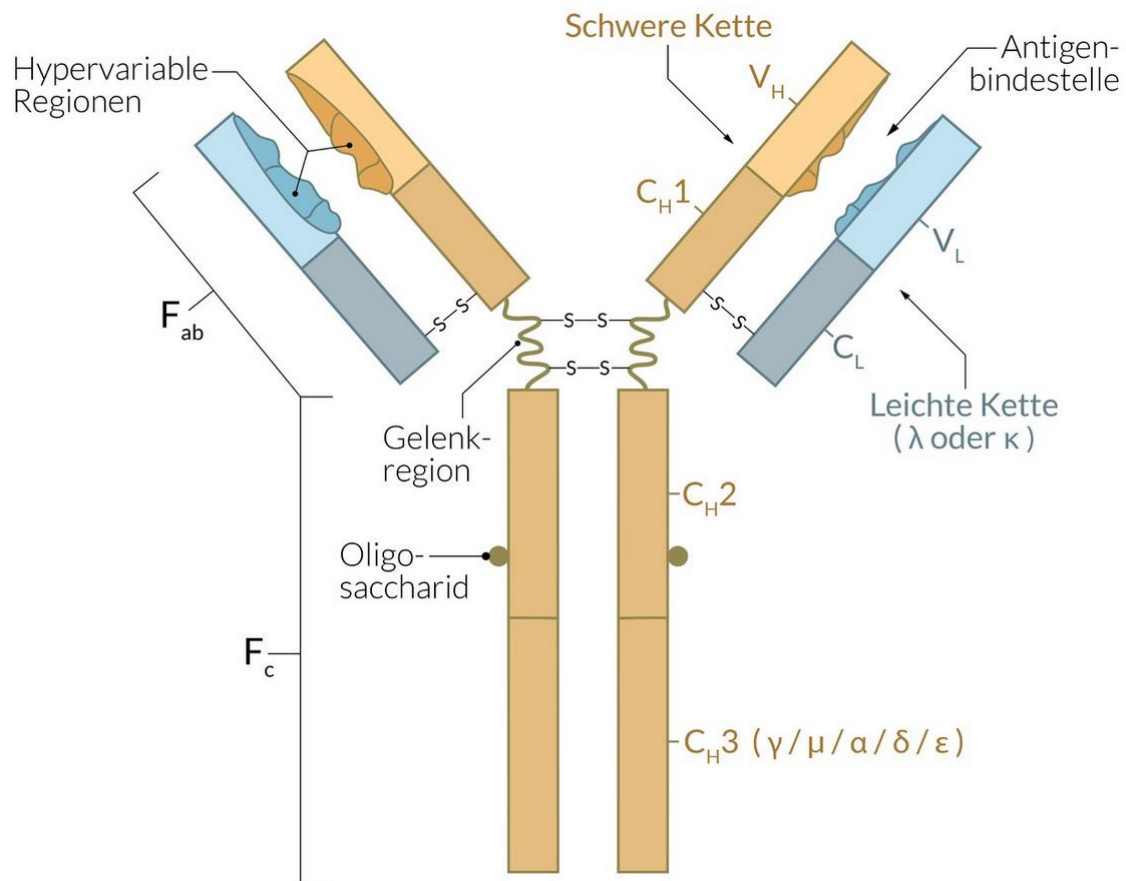


**Abbildung 1: Interaktion der B-Zellen mit den TH<sub>2</sub>-Zellen [Quelle: Miamed/Amboss]**

CD8 positive T-Zellen werden auch als zytotoxische Zellen bezeichnet. Sie dienen insbesondere der Elimination entarteter oder infizierter körpereigener Zellen durch Initiation der Apoptose. Diese kann entweder mittels zytotoxischer Substanzen oder durch die Aktivierung des Fas-Rezeptors erfolgen.

Die B-Lymphozyten dienen der humoralen Immunabwehr. Dies wird von B-Effektorzellen, welche als Plasmazellen bezeichnet werden, durch Antikörperbildung bewirkt. Die als Immunglobuline bezeichneten Antikörper bestehen aus leichten und schweren Ketten. Die Immunglobulinklassen werden in erster Linie gemäß den verschiedenen schweren Ketten unterschieden. Immunglobuline bestehen aus einem F<sub>ab</sub>-Fragment, welches der Antigenbindung dient und einem F<sub>c</sub>-Fragment, welches für die Rezeptorbindung sowie für die

Komplementaktivierung vonnöten ist. Antikörper dienen der Neutralisation von Antigenen, der Opsonierung sowie der Aktivierung des Komplementsystems über den klassischen Weg.



**Abbildung 2: Allgemeiner Aufbau eines Immunglobulins am Beispiel von IgG [Quelle: Amboss Miamed]**

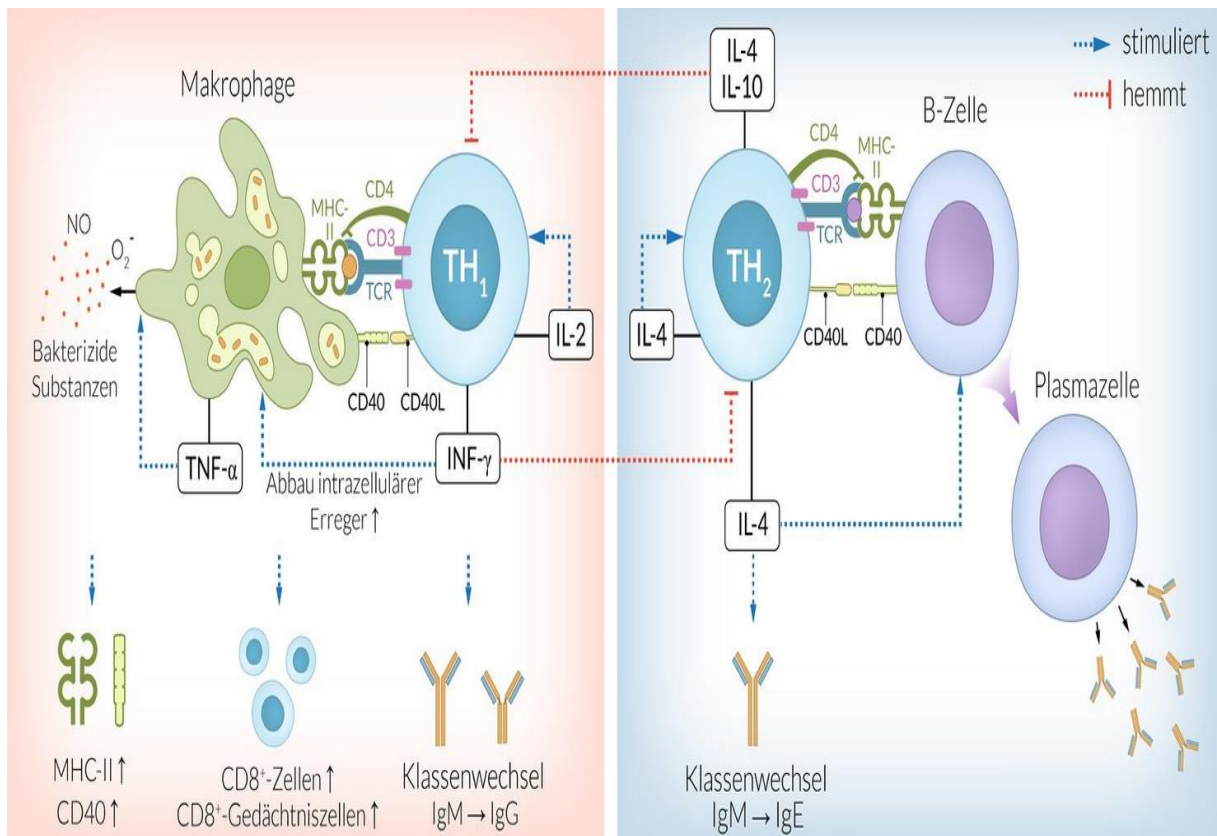
Unterschieden werden fünf verschiedene Klassen von Antikörpern: IgM, IgG, IgA, IgE und IgD. Das Pentamer IgM wird in der Frühphase der spezifischen Immunreaktion gebildet, wohingegen das Monomer IgG erst im Verlauf entsteht. Das bezogen auf die Menge am meisten produzierte Immunglobulin IgA befindet sich vorwiegend auf Schleimhäuten und in Körperflüssigkeiten; es liegt als Mono-, oder Dimer vor. Bei IgE handelt es sich um ein Monomer, welches mit Erkrankungen des atopischen Formenkreises assoziiert ist. Es kommt sowohl bei der Immunreaktion auf parasitäre Erkrankungen als auch bei allergischen Erkrankungen vor. Das Monomer IgD dient der Aktivierung der B-Zellen.

### 1.1.2 Interleukine 4 und 12

Interleukine (inter = lateinisch → zwischen, λευκός = griechisch → weiß) dienen vorwiegend der Kommunikation zwischen weißen Blutzellen und unterstützen so die Regulation des Immunsystems. Nach aktuellem Kenntnisstand existieren mehr als fünfzehn unterschiedliche Subtypen von Interleukinen, welche eine recht heterogene Gruppe darstellen und jeweils unterschiedlichen Funktionen dienen.

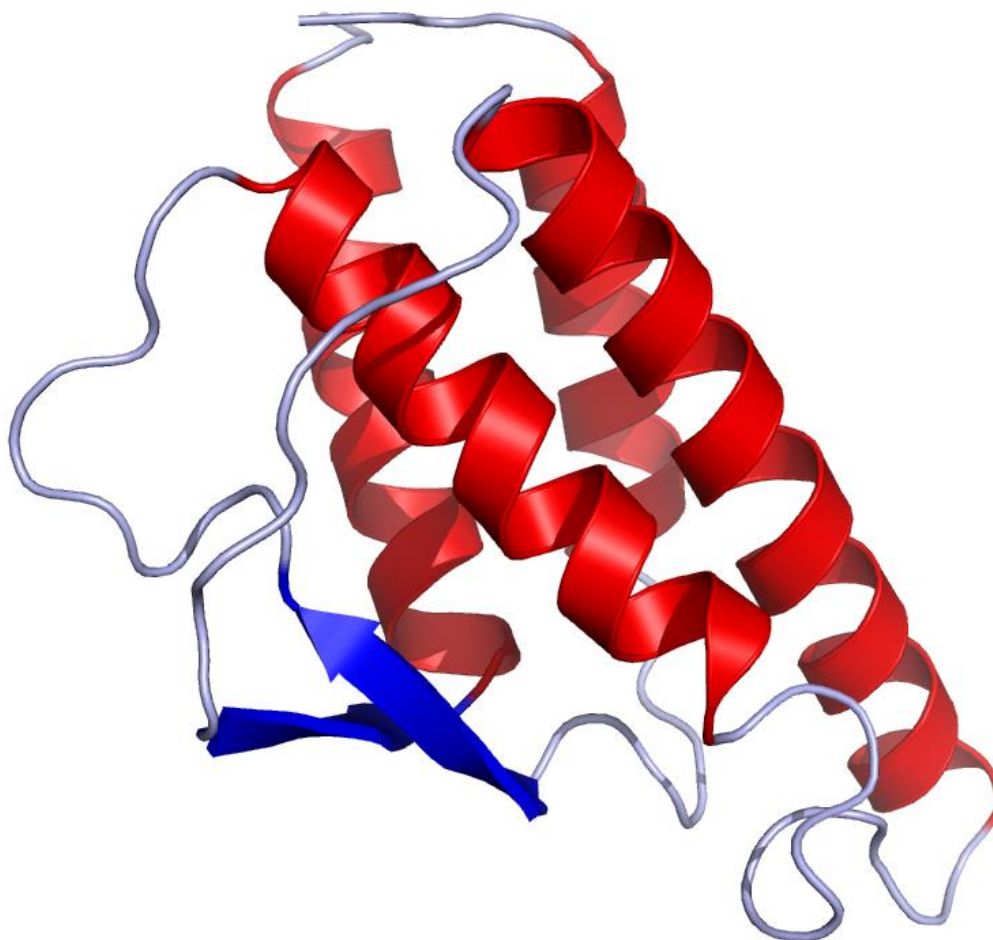
#### 1.1.2.1 Interleukin 4

Interleukin 4 wird sowohl von TH<sub>2</sub>-Zellen als auch von Mastzellen sezerniert. Als Zielzellen sind B- und T-Lymphozyten sowie Monozyten und Mastzellen zu nennen. Unter dem Einfluss von Interleukin 4 kommt es bezüglich der TH<sub>2</sub>-Zellen zum positiven Feedback, indem IL-4 die Differenzierung naiver CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zu TH<sub>2</sub>-Zellen fördert. Im Gegensatz zu den TH<sub>2</sub>-Zellen werden die TH<sub>1</sub>-Zellen durch IL-4 gehemmt. IL-4 stellt einen Wachstumsfaktor für Mastzellen dar, wohingegen es die Aktivierung von Makrophagen inhibiert. Bezüglich der B-Zellen stößt IL-4 die Differenzierung vom B-Lymphozyten hin zur Plasmazelle an und initiiert darüber hinaus den Antikörperklassenwechsel von IgM hin zu IgE. [33, 34, 35, 36] Seine Funktion bezüglich des Antikörperklassenwechsels entfaltet IL-4 indem es als Transkriptionsfaktor wirkt. [41]



**Abbildung 3: Die Rolle von IL-4 in der Interaktion mit B- und T-Zellen [Quelle: Amboss, Miamed]**

Elemente der molekularen Struktur von Interleukin 4 sind Disulfidbindungen, alpha-Helices und beta-Faltblatt-Anordnungen. [39, 40]



**Abbildung 4: Struktur von Interleukin 4 [Quelle: Wikipedia, Interleukin 4]**

Von P. Choi und H. Reiser wurde 1998 ein entscheidender Zusammenhang zwischen dem Vorliegen hoher IL-4-Konzentrationen und einer Atopie festgestellt. [37, 38]

Den Untersuchungen des Arbeitskreises um [Sachin P. Gadani](#) zufolge hat IL-4 darüber hinaus einen Effekt im zentralen Nervensystem, beispielsweise bezogen auf Lernprozesse und Gedächtnis. [41] Der genaue Mechanismus dieser Prozesse scheint noch unverstanden zu sein, wobei sich abzeichnet, dass die Reaktion von Astrozyten auf IL-4 ebenso wie eine Interaktion der Meningen und der Mikroglia mit IL-4 entscheidend sein könnten. [41]

In jüngster Zeit gibt es Versuche zur Therapie von autoimmunen Erkrankungen mittels IL-4. Diese gehen derart vonstatten, dass durch den Einsatz des Interleukins die Produktion und Sekretion von IL-23 und IL-17 gehemmt werden, was wiederum dazu führt, dass TH<sub>17</sub>-Zellen in geringerem Maße ausdifferenziert und am Leben erhalten werden können, da hierfür die Interleukine 17 und 23 benötigt werden. Die TH<sub>17</sub>-Zellen können die Granulopoese verstärken und die Expression proinflammatorischer Mediatoren induzieren. Wenn nun die entzündungsverstärkenden TH<sub>17</sub>-Zellen auf diese Weise durch den Einsatz von IL-4 in ihrer



Entstehung und Funktion gehemmt werden, kann dies einen positiven Einfluss auf entzündliche autoimmune Erkrankungen haben. Ein Einsatz der Therapie wird unter anderem bei Psoriasis und Rheumatoider Arthritis angestrebt. [42, 43]

#### 1.1.2.2 Interleukin 12

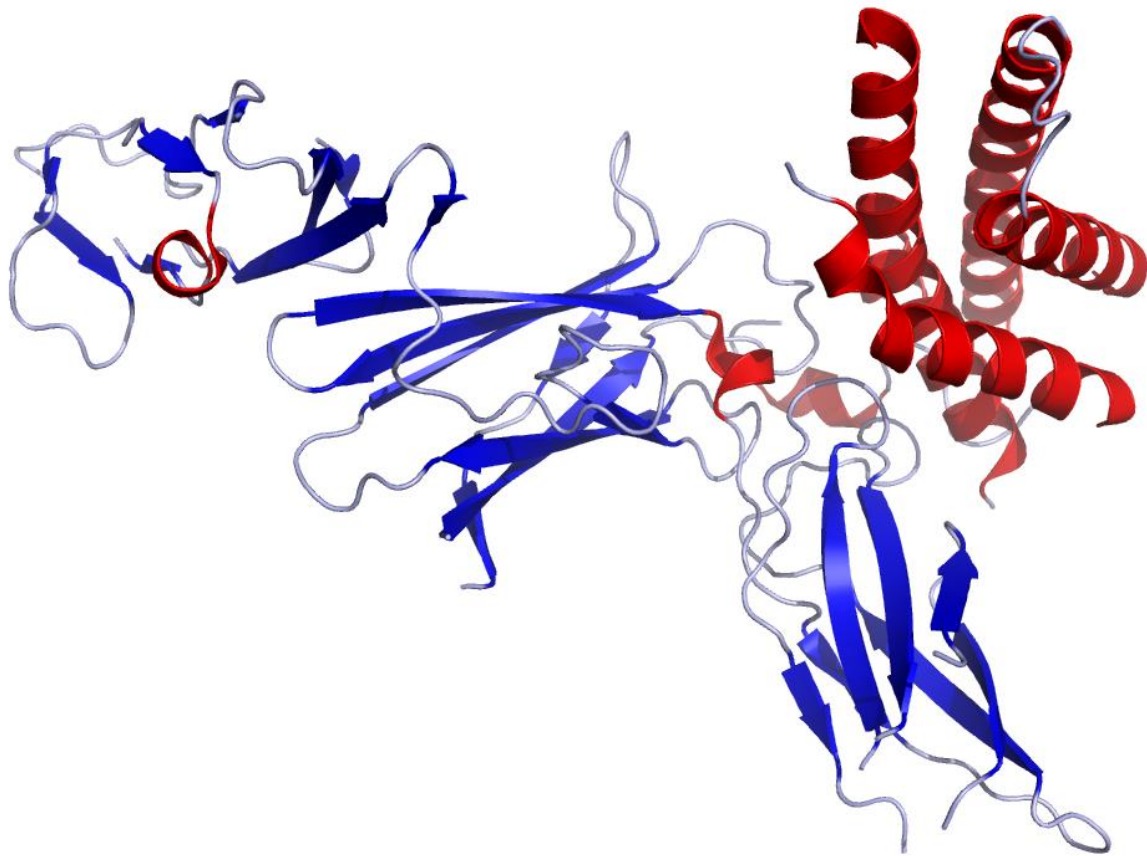
Monozyten sowie auch Makrophagen sind in der Lage, IL-12 zu synthetisieren. Indem IL-12 an der Regulation der Immunantwort von TH<sub>1</sub>-Zellen beteiligt ist, hat es Einfluss auf die Intensität der immunologischen Antwort. Mittels IL-12 werden naive T-Zellen zu TH<sub>1</sub>-Zellen differenziert. Es besteht ein Zusammenhang zur Funktion des Interleukins 4 insofern, als dass durch Interleukin 4 IFN gamma unterdrückt wird, welches durch Interleukin 12 wiederum aktiviert wird. Darüber hinaus ist IL-12 an der Produktion von TNF alpha beteiligt. [33, 44, 45, 46]

IL-12 übernimmt einen zentralen Part bei der Aktivierung der NK-Zellen und kann durch die vermehrte Produktion von Interferon-gamma antiangiogenetisch wirken, da als Reaktion auf das Vorliegen von Interferon-gamma das Chemokin IP-10 (inducible protein) sezerniert wird, durch welches der antiangiogenetische Effekt zustande kommt. [44, 45, 46]

Durch hohe Interleukin 12-Konzentrationen kann es zu einer Verschlechterung entzündlicher Autoimmunerkrankungen kommen. Dies beruht auf der Induktion von TH<sub>1</sub>-Zellen durch IL-12 und der konsekutiven immunologischen Reaktion. [45, 46, 47, 48]

Interleukin 12 wird hinsichtlich eines therapeutischen Einsatzes zur Behandlung von Malignomen beforscht. IL-12 könnte das Eindringen zytotoxischer T-Zellen in das Tumorgewebe stimulieren und auf diese Weise positiv auf die Destruktion des Tumorgewebes Einfluss nehmen. [44, 45]

Zur Struktur von Interleukin 12 lässt sich sagen, dass es sich um ein Heterodimer handelt, welches von zwei verschiedenen Genen codiert wird. Im Aufbau finden sich vier alpha-Helices. [49, 45]



**Abbildung 5: Struktur von Interleukin 12 [Quelle: Wikipedia, Interleukin 12]**

### 1.1.3 Physiologie und Pathologie der Vaginalflora

Die Vaginalflora der fertilen Frau setzt sich physiologischerweise hauptsächlich aus Laktobazillen zusammen, welche die sogenannte Döderleinflora generieren. Zu den vorliegenden Laktobazillen zählen *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners* und andere. Bei den erwähnten handelt es sich um grampositive Stäbchen. Durch die Milchsäurebakterien entsteht die bereits erwähnte Döderleinflora, welche sich durch einen pH-Wert von 4 – 4,5 kennzeichnet. Sie wird erzeugt, indem Glykogen zu Milchsäure vergoren wird. Durch die Döderleinflora und das damit einhergehende saure Milieu kommt es zu einem lokalen Infektionsschutz. Der Infektionsschutz bezieht sich allerdings primär auf Bakterien und weniger auf Mykosen. Die Abhängigkeit der Milchsäurebakterien von Hormonen (in erster Linie von Östrogen) führt dazu, dass es durch Hormonschwankungen auch zu einer Veränderung der Döderleinflora und einer potentiell erhöhten Anfälligkeit für Infektionen kommen kann. Gemeint sind hierbei vor allem die Zeiten vor der Menarche und nach der Menopause, in welchen eine

Östrogenmangelsituation besteht. [50, 51, 53] Auch innerhalb des Zyklus kann bei fertilen Frauen eine Veränderung der Döderleinflora mit dem Schwanken des Östrogenspiegels beobachtet werden. Diese Veränderung zeigt sich dahingehend, dass mit niedrigerem Östrogenspiegel eine niedrigere Anzahl an Döderleimbakterien einhergeht. [53]

Um die Beurteilung der Vaginalflora, welche in der Praxis anhand von Nativpräparaten (Färbung mit Methylenblau) erfolgt, zu objektivieren, wurde der Nugent Score eingeführt. Hierbei wird als Kriterium das quantitative Vorliegen von Laktobazillen, gramnegativen Stäbchen, gramlabilen Stäbchen und gebogenen mobilen Stäbchen herangezogen. Der Nugent Score umfasst eine Skala von null bis zehn, wobei null bis drei Punkte einem Normalbefund entsprechen. Aufgrund des damit verbundenen hohen Arbeitsaufwandes hat sich der Score im Alltag jedoch nicht durchgesetzt. [52]

In der Vagina können sich neben den physiologischerweise vorkommenden Döderleimbakterien weitere, fakultativ pathogene Erreger finden, deren Pathogenität von der Konzentration, in der sie vorliegen, abhängt. Häufig sind Gardnerellen (30-60%), Streptokokken (bis 30%) und Candida Albicans (bis 20%) vorhanden. Die häufigsten Infektionen der Vagina sind die bakterielle Vaginose, welche durch Gardnerella Vaginalis hervorgerufen wird, und die durch Candia Albicans ausgelöste Mykose. [51]

Die Döderleimbakterien können in ihrer Funktion durch Antibiotika, Blutungen sowie durch Antiseptika beeinträchtigt werden. Antibiotika, welche die Döderleinflora schädigen können, sind vor allem solche, welche im grampositiven Bereich wirksam sind. Hier sind unter anderem Penicilline, Cephalosporine, Tetrazykline und andere zu nennen. Keinen negativen Einfluss auf die Laktobazillen haben 5-Nitroimidazole und Chinolone. Die Schädigung der vaginalen Flora durch Blut rührt von dessen alkalischem pH-Wert her. Ebenso kann durch eine übertriebene Intimhygiene, Sperma, welches ebenfalls alkalisch ist, und die Lochien der saure pH-Wert in Richtung des alkalischen Bereiches verschoben und damit das Milieu gestört werden. [53]

Zur Unterstützung der Laktobazillen wird eine Vielzahl an Milchsäurepräparaten zur lokalen Anwendung angeboten. Auch orale Probiotika zur Selbstmedikation sind zu erwerben. [54, 55]

#### 1.1.4 Vulvodynie

Gemäß der International Society for the Study of Vulvar Disease (ISSVD) werden Vulvaschmerzen in zwei Cluster eingeteilt. Cluster A umfasst Vulvaschmerzen, welche mit einer bestimmten Erkrankung assoziiert sind, Cluster B bezeichnet die Vulvodynie. In Cluster A finden sich infektiöse, inflammatorische, neoplastische und neurologische Erkrankungen. Sofern bei einer Patientin all diese Entitäten ausgeschlossen werden können und die Beschwerden für drei bis sechs Monate vorliegen, kann die Diagnose Vulvodynie gestellt werden. [56, 61]

Die Vulvodynie wird eingeteilt in eine generalisierte und eine lokalisierte Form, wobei jede der beiden Formen wiederum unterteilt wird in eine provozierte, eine unprovozierte und eine gemischte Unterform. Die lokalisierte provozierte Form der Vulvodynie ist die am häufigsten vorkommende. [56, 57]

Bei der generalisierten Vulvodynie finden sich zahlreiche Komorbiditäten, welche allesamt im weitesten Sinne dem psychosomatischen Formenkreis entstammen. [56] Ebenso findet sich bei Patientinnen, welche von Vulvodynie betroffen sind, eine erhöhte Prävalenz der Diagnosen Depression und Angststörung. [58]

Die Therapieansätze der Vulvodynie sind vielfältig. Neben sogenannten „Lifestyle-Änderungen“ wie beispielsweise dem Vermeiden reizender Chemikalien und synthetischer Unterwäsche werden auch physikalische Therapien angewandt. Im Bereich der alternativen Therapie werden Therapieversuche mit Beckenbodentraining, Biofeedback, autogenem Training und Meditation unternommen. Pharmakologisch werden neben dem Einsatz von Lokaltherapeutika wie Natrium-Kanalblockern und Östrogenen auch systemische Therapien durchgeführt. Zu den systemisch eingesetzten Präparaten zählen trizyklische Antidepressiva (z.B. Amitriptylin), andere Antidepressiva (z.B. Duloxetin und Venlafaxin) sowie Antikonvulsiva (Gabapentin, Pregabalin u.a.), wobei die medikamentöse Therapie als insgesamt nicht zielführend erachtet wird. [56] Durch Therapieversuche mit Injektionen von Botulinumtoxin konnten teilweise Verbesserungen erzielt werden. [60]

Es ließ sich in einer Untersuchung von Maya Ponte nachweisen, dass die Auswirkungen des Vorliegens einer Vulvodynie auf die Lebensqualität der Patientinnen gravierend sind. Es zeigten sich, auch verglichen mit anderen dermatologischen Erkrankungen, welche die Vulva betrafen, substantielle Einschränkungen der Lebensqualität. [59]

## **1.2 Fragestellung**

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit wurden die Konzentrationen der Immunmediatoren Interleukin 4 und Interleukin 12 bei 132 Patientinnen im Vaginalsekret bestimmt. Es wurde darüber hinaus ein mikrobiologischer Abstrich aus dem hinteren Scheidengewölbe untersucht. Unter den Patientinnen befanden sich sowohl solche, welche gynäkologische Beschwerden (Vulvodynie, Pruritus, Fluor) angaben, als auch beschwerdefreie.

Es soll nun untersucht werden, ob zwischen der Interleukinkonzentration im Vaginalsekret und den klinischen Beschwerden der Patientinnen sowie dem Vorliegen pathogener Erreger im mikrobiologischen Abstrich ein Zusammenhang besteht.

## II MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Patientinnen

#### 2.1.1 Altersverteilung

Das Patientenkollektiv umfasst 132 Frauen im Alter von 17 bis 75 Jahren. Das durchschnittliche Patientenalter beträgt 39 Jahre. Der Altersmedian liegt bei 45 Jahren. Im Vergleich zur Normalverteilungskurve wird ersichtlich, dass das Alterskollektiv einen größeren Anteil jüngerer Frauen beinhaltet.

Die Altersverteilung der Patientinnen wird in den folgenden Grafiken dargestellt.

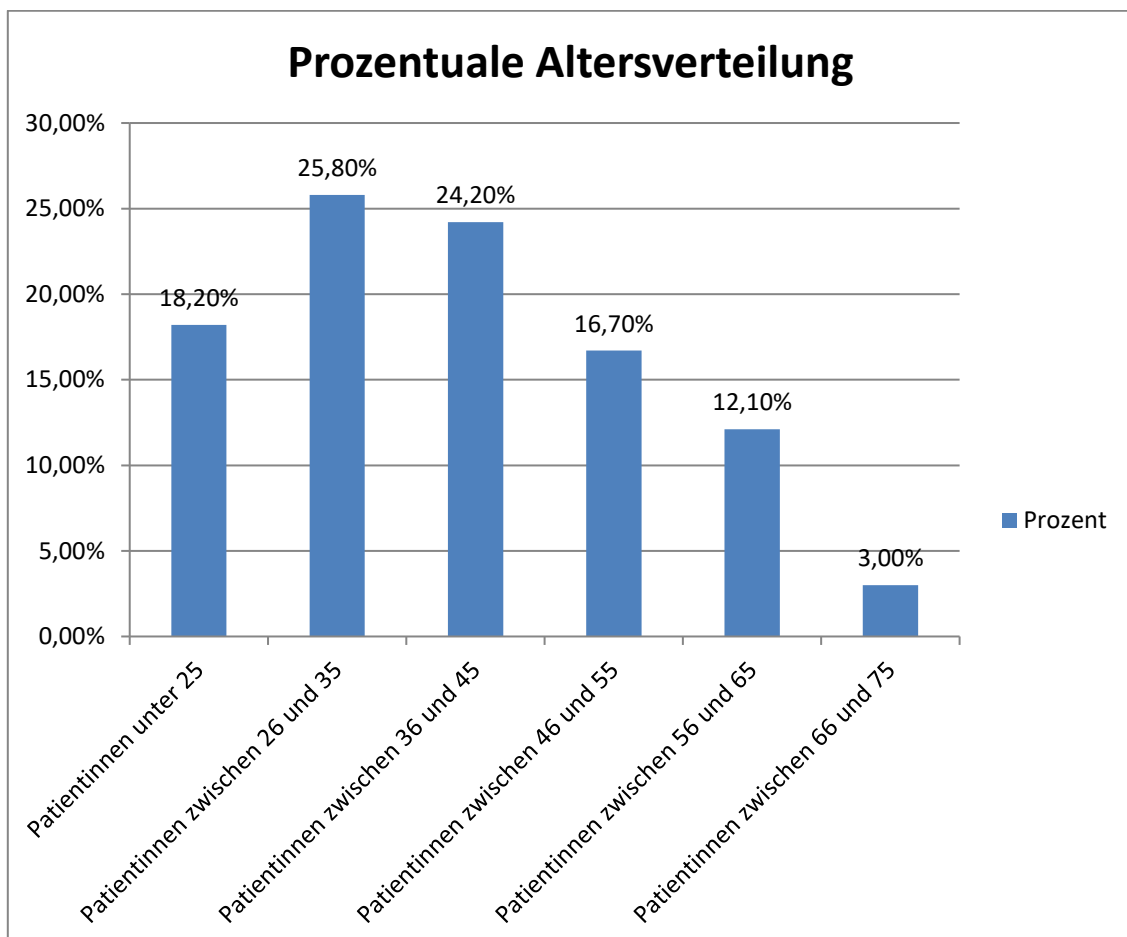
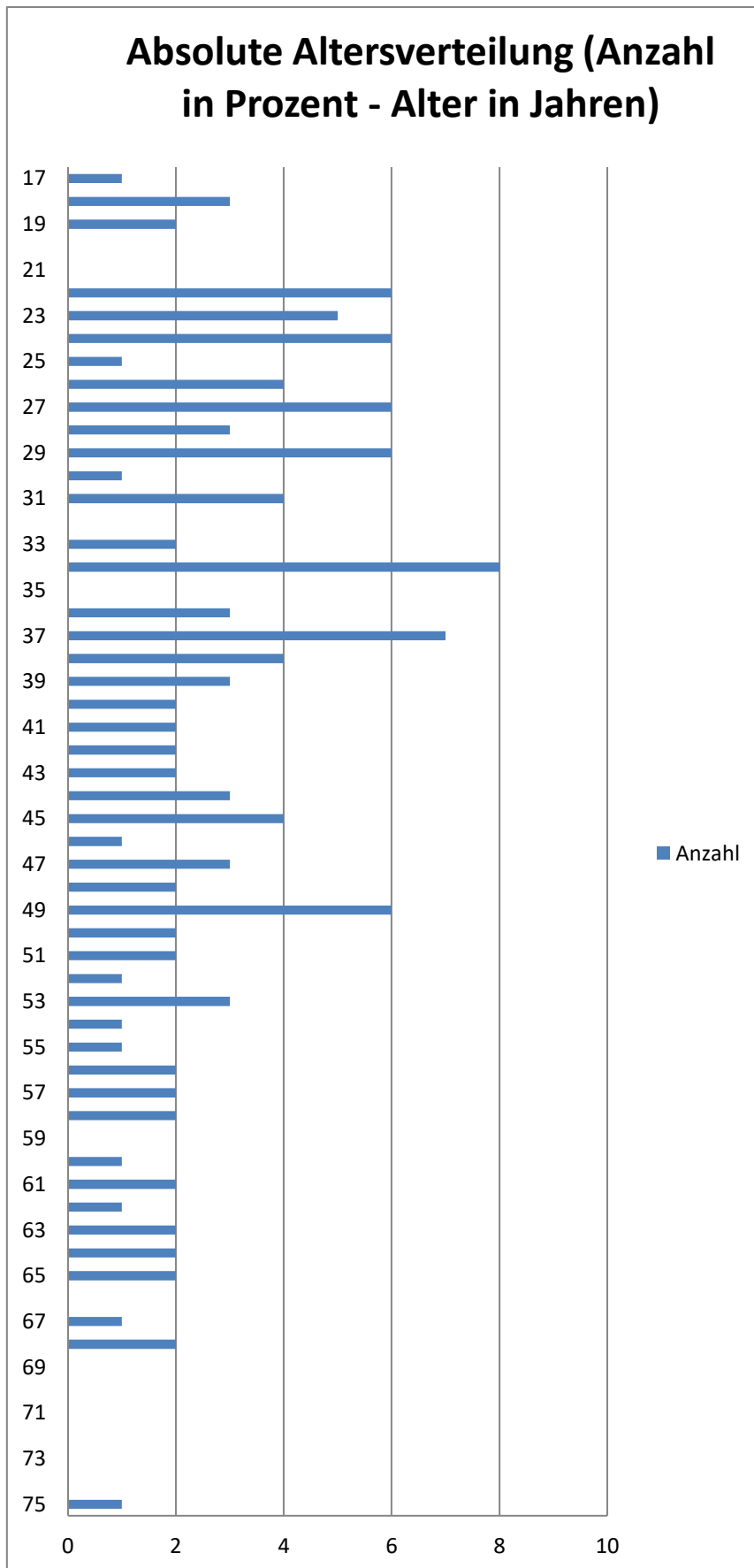
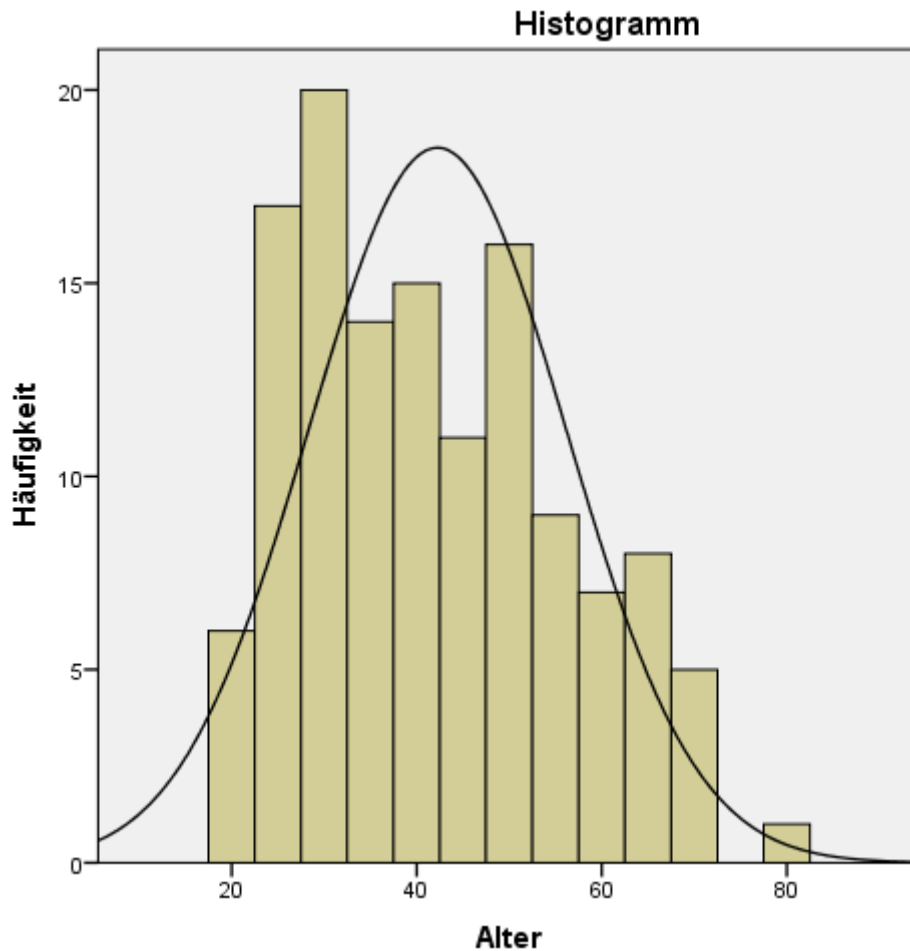


Abbildung 6: Prozentuale Altersverteilung der Patientinnen



**Abbildung 7: Absolute Altersverteilung der Patientinnen**



**Abbildung 8: Vergleich des Patientenkollektivs mit der Normalverteilung**

### 2.1.2 Beschreibung des Kollektivs

Unter den erhobenen Daten befinden sich Daten von drei Patientinnen, die zu dem Zeitpunkt schwanger waren. Die Daten dieser Patientinnen werden nicht einbezogen. 28 Patientinnen (21,2%) waren zum Zeitpunkt der Untersuchung postmenopausal; deren Daten werden mit einbezogen.

### 2.1.3 Angaben von gynäkologischen Beschwerden durch die Patientinnen

Es handelt sich bei den Patientinnen sowohl um solche, welche das Facharztzentrum von Prof. Weißenbacher in München im Rahmen der regulären gynäkologischen Vorsorge aufsuchten, als auch um solche, welche sich aufgrund von Beschwerden vorstellten. Unter den angegebenen Beschwerden fanden sich „Schmerzen und Brennen“, welche als Vulvodynie interpretiert werden können. Darüber hinaus wurde von manchen Patientinnen Pruritus angegeben.



## 2.2 Kultur

### 2.2.1 Materialentnahme

Für die Anlage der Kultur wird mit einem sterilen Abstrichtupfer aus dem hinteren Scheidengewölbe etwas Material entnommen. Im Rahmen der gynäkologischen Untersuchung kann das Watteende des Abstrichtupfers zur Probeentnahme in die Vagina eingeführt werden, wobei darauf zu achten ist, dass der Tupfer nicht mit der Haut in Berührung kommt, um zu vermeiden, dass die Probe mit Bakterien der physiologischen Hautflora kontaminiert wird.

Der Abstrichtupfer wird in das zugehörige Röhrchen gegeben. In diesem befindet sich ein kohlehaltiges AufbewahrungsmEDIUM, welches eine unkontrollierte Vermehrung der Keime verhindert. Das Röhrchen wird mit einem Stopfen verschlossen.

### 2.2.2 Kulturanlage auf Agarplatten

Das Material wird mit dem Abstrichtupfer auf verschiedene Agarplatten aufgebracht und mit einem autoklavierten Glasstäbchen ausgestrichen, um einen Vereinzelungsausstrich zu erhalten.

Es erfolgt die Anlage auf einem schafsbluthaltigen Blutagar sowie auf einem CHROMagar Orientation, welcher durch Farbumschläge ein leichteres Identifizieren der Ergebnisse ermöglicht. Auf die Blutagarplatte wird zusätzlich ein Plättchen mit Nalidixin aufgebracht (Verwendung findet hierbei das Präparat der Firma Sensi Disc), welches das Wachstum von Enterobacteriaceae hemmt. In dem so entstandenen Hemmhof sind Kokken besser sichtbar.

Zum Nachweis von Streptokokken wird eine Selektivplatte mit Neomycin angelegt, auf welcher das Wachstum anderer Keime verhindert wird. Die Bebrütung erfolgt in CO<sub>2</sub>-angereicherter Atmosphäre.

Die Döderleinflora kann mittels eines Laktoagars nachgewiesen werden. Dieser muss ebenfalls in einer CO<sub>2</sub>-angereicherten Atmosphäre bebrütet werden.

Für die Anzucht von *Candida albicans* wird ein CHROMagar *Candida* verwendet.

Um das Wachstum von *Gardnerella vaginalis* zu ermöglichen, wird ein Blutagar mit Humanblut benötigt.

Zum Nachweis von Anaerobiern wird ebenfalls der schafsbluthaltige Blutagar verwendet.

Dieser muss in anaerober Atmosphäre bebrütet werden. Die anaerobe Atmosphäre wird mittels eines GENbox anaer Säckchens hergestellt und mit einem Indikatorplättchen nachgewiesen. Hierbei wird das Präparat der Firma Oxoid verwendet. Dieses ist weiß, bei Kontakt mit Sauerstoff erfolgt ein Farbumschlag ins Pinke.

Alle Agarplatten werden im Brutschrank bei 37°C bebrütet. Die Laktoagarplatten verbleiben für 48 Stunden im Brutschrank, das Wachstum der Anaerobier benötigt vier Tage, alle übrigen Platten verbleiben für 24 Stunden.

### 2.2.3 Grampräparat

Bereits direkt bei Entnahme des Materials aus der Vagina wird ein Ausstrich auf einem gläsernen Objektträger angefertigt.

Bei der nun folgenden Gram-Färbung handelt es sich um eine Differenzierungsfärbung. Durch das Einfärben mit einer Kristallviolett-Lösung, welcher Phenol zugesetzt wurde, werden alle Bakterien eingefärbt. Im nächsten Schritt werden mittels Lugolscher Lösung Farbstoff-Iod-Komplexe gebildet, wodurch nun alle Bakterien blau gefärbt sind. Bei dem darauffolgenden Entfärbvorgang mit Ethanol werden gramnegative Bakterien wieder entfärbt, wohingegen grampositive Bakterien aufgrund ihrer mehrschichtigen Mureinhülle die blaue Färbung beibehalten. Es folgt eine Gegenfärbung mittels Fuchsin, welche die entfärbten, gramnegativen Bakterien eine rote Farbe annehmen lässt. Das Präparat muss zunächst trocknen, um dann mikroskopisch beurteilt werden zu können.

Zum Mikroskopieren der Präparate wird eine tausendfache Vergrößerung verwendet, welche durch ein Ölimmersionsobjektiv mit hundertfacher Vergrößerung in Kombination mit einem Okular mit zehnfacher Vergrößerung erreicht werden kann.

Nun lassen sich grampositive und gramnegative Erreger differenzieren. Darüber hinaus lassen sich Leukozyten identifizieren, der Nachweis einer Leukozytose wird so möglich.

## 2.3 Enzymelinked Immunosorbent Assay (ELISA)

### 2.3.1 Vaginalspülung

Um mittels einer Vaginalspülung Material für die Ermittlung der Interleukinkonzentrationen zu erhalten, wurden zunächst bei jeder der Patientinnen mit Hilfe einer sterilen Einmalspritze

2 ml physiologische Kochsalzlösung in die Vagina eingebracht. Die Konzentration der Kochsalzlösung betrug hierbei 0,9%. Im Anschluss wurde die Kochsalzlösung unter Zuhilfenahme eines Watteträgers im hinteren Scheidengewölbe mit dem Vaginalsekret vermenget. Die so entstandene Suspension wurde mit derselben Spritze wieder entnommen.

### 2.3.2. Grundlagen

Unter einem ELISA versteht man ein Nachweisverfahren, welches es mittels einer enzymatisch bedingten Farbreaktion ermöglicht, die Konzentration des gesuchten Antigens photometrisch zu bestimmen.

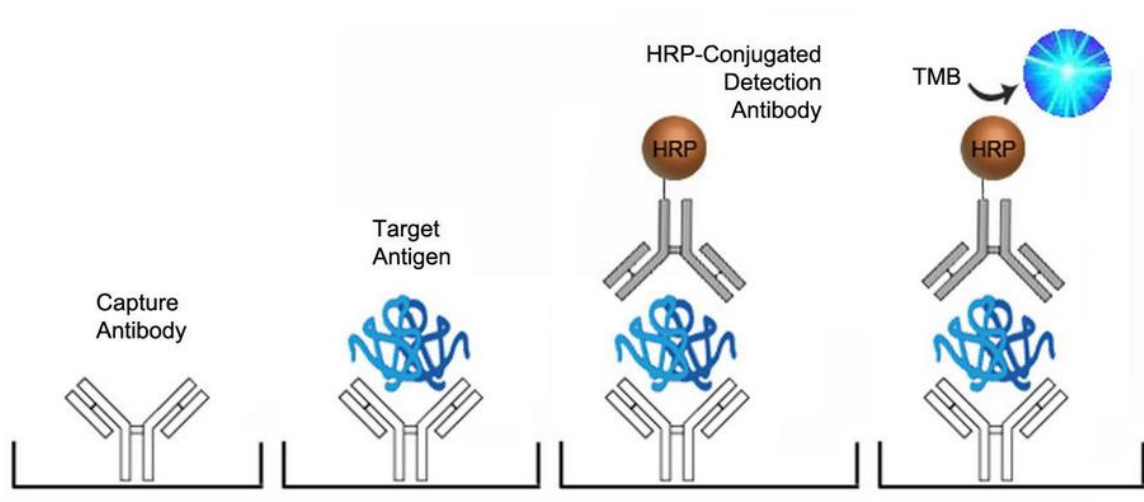
Bei dem hier verwendeten Sandwich-ELISA sind die Antikörper, welche an das zu untersuchende Antigen binden, fest an die Mikroküvette gebunden.

Nach Zugabe des zu untersuchenden Materials bindet das Antigen an den Antikörper. Um ungebundene Antigene zu entfernen, erfolgt ein Waschvorgang.

Nach dem Waschvorgang wird ein zweiter Antikörper, welcher an ein Enzym gekoppelt ist und ebenfalls an das zu bestimmende Antigen bindet, hinzugefügt. Es entsteht ein Antikörper–Antigen–Antikörper–Komplex; von dieser Struktur leitet sich die Bezeichnung „Sandwich-ELISA“ ab. Bei dem gekoppelten Enzym handelt es sich zumeist um HRP, eine Meerrettichperoxidase (englisch: horseradish). Man bezeichnet das gekoppelte Enzym als Reporterenzym. Überschüssige Reste werden durch einen erneuten Waschvorgang entfernt.

Durch HRP kann TMB (Tetramethylbenzidin) aktiviert werden, wodurch es zum Farbumschlag ins Blaue kommt.

Die Farbintensität kann mit dem Photometer bestimmt werden. Durch den Vergleich mit einer Verdünnungsreihe bekannter Konzentration kann nun die Konzentration des interessierenden Antigens ermittelt werden.



**Abbildung 9: Sandwich ELISA [Quelle: ILSBio]**

### 2.3.3 IL-4 ELISA

Im Folgenden werde ich den IL-4 ELISA erläutern.

#### 2.3.3.1 Durchführung

Zur Bestimmung der Konzentration von IL-4 werden benötigt:

- Mikroküvetten, welche mit IL-4 Antikörpern beschichtet sind
- humanes IL-4 Standardpulver und Standardpuffer
- Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP) (100-fach konzentriert) sowie zugehörige Verdünnungslösung
- Waschpuffer
- stabilisiertes Chromogen (TMB)
- Stopplösung

Die Reagenzien müssen zur Lagerung auf 2 - 8°C gekühlt werden. Vor der Verwendung erfolgt das Erwärmen auf Raumtemperatur.

Es wird eine Verdünnungsreihe hergestellt, indem das Standardpulver im Standardpuffer

aufgelöst wird; beginnend mit einer Konzentration von 500 pg/ml werden 0,3 ml der Lösung in ein Gefäß mit 0,3 ml Standardpuffer gegeben. Dieser Schritt wird mehrmals wiederholt, so dass sich schließlich Konzentrationen von 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml und 7,8 pg/ml ergeben.

Die Streptavidin-Peroxidase wird mit Verdünnungslösung vermischt (10 µl pro 1,0 ml). Ebenso wird der konzentrierte Waschpuffer mit destilliertem Wasser verdünnt (1 Einheit Waschpuffer, 24 Einheiten Wasser).

Nun werden in die Mikroküvetten jeweils 100 µl der verschiedenen Konzentrationen der Verdünnungsreihe in aufsteigender Konzentration einpipettiert. Die Proben der Patientinnen werden ebenfalls einpipettiert (100 µl). Es werden 50 µl des Biotin-Konjugats hinzugefügt, anschließend erfolgt eine zweistündige Inkubation bei Raumtemperatur. Im darauffolgenden Waschvorgang werden Antikörper, welche nicht gebunden haben, entfernt. Die Mikroküvetten werden umgedreht, abgeklopft und auf saugfähiges Fließpapier gegeben; sie werden dann viermal mit dem Waschpuffer gefüllt. Dieser wird jeweils auf dieselbe Weise wieder entleert.

Danach werden jeweils 100 µl der Streptavidin-Peroxidase-Lösung hinzupipettiert. Es wird eine halbe Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Es schließt sich wiederum ein viermaliger Waschvorgang an.

Um die Farbreaktion zu initiieren, werden 100 µl des Chromogens hinzugegeben. Nun folgt eine Inkubation von fünfzehn Minuten bei Raumtemperatur im Dunklen; es kommt zum Farbumschlag ins Blaue.

Durch den Abbruch der Reaktion mittels Stopplösung erfolgt ein Farbumschlag nach gelb.

### 2.3.3.2 Auswertung

Unter Zuhilfenahme des Spektralphotometers kann nun die optische Dichte ermittelt werden.

Aus den Dichte-Messwerten der Standardverdünnungsreihe kann eine Standardkurve erstellt werden, welche es erlaubt, den verschiedenen Extinktionswerten verschiedene Interleukinkonzentrationen zuzuordnen.

## 2.3.4 IL-12 ELISA

### 2.3.4.1 Durchführung

Die Konzentrationsbestimmung von IL-12 verläuft analog zu derjenigen von IL-4. Im Folgenden werden die Unterschiede zwischen beiden Verfahren erläutert.

Zur Bestimmung der Konzentration von IL-12 werden benötigt:

- Mikroküvetten, welche mit IL-12 Antikörpern beschichtet sind
- humanes IL-12 Standardpulver und Standardpuffer
- alle übrigen Reagenzien identisch mit denen der IL-4 - Bestimmung

Die Verdünnungsreihe wird analog zu der für die IL-4-Bestimmung hergestellt. Sie unterscheidet sich lediglich darin, dass ausgehend von der 500 pg/ml –Konzentration in der Lösung jeweils 200 µl und 0,2 ml Standardpuffer vermennt werden. Die sich ergebenden Konzentrationen sind wiederum 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml und 7,8 pg/ml.

Streptavidin-Peroxidase sowie auch der Waschpuffer werden identisch zur IL-4-Bestimmung hergestellt.

Zur Konzentrationsbestimmung werden in die Mikroküvetten jeweils 50 µl der verschieden konzentrierten Lösungen der Verdünnungsreihe und 50 µl der Proben von den Patientinnen einpipettiert.

Es werden nun 100 µl des Biotin-Konjugats hinzugefügt. Im Anschluss an die zweistündige Inkubation bei Raumtemperatur erfolgt der viermalige Waschvorgang in bereits erläuteter Art und Weise.

Daraufhin wird wiederum die Streptavidin-Peroxidase hinzugegeben und erneut für dreißig Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es schließt sich wiederum ein viermaliger Waschvorgang an.

Zur Initiation der Farbreaktion werden 100 µl Chromogen hinzupipettiert. Die fünfzehnminütige Inkubation erfolgt im Dunklen. Es kommt zum Farbumschlag nach blau. Nach Abbruch der Reaktion mittels Stopplösung schlägt die Farbe nach gelb um.

#### 2.3.4.2 Auswertung

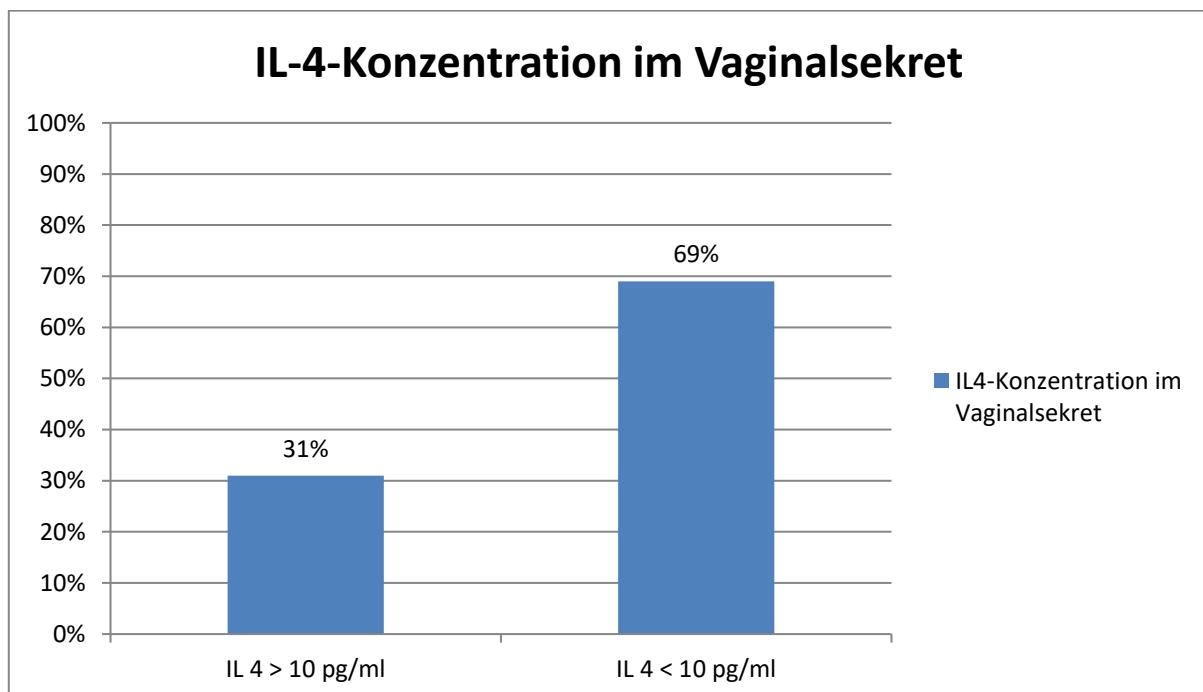
Die Auswertung erfolgt analog zu derjenigen der IL-4-Bestimmung mit Hilfe eines Spektralphotometers und einer aus der Standardverdünnungsreihe ermittelten Standardkurve. Durch die Zuordnung verschiedener Extinktionswerte zu verschiedenen Interleukinkonzentrationen können diese in den Proben der Patientinnen ermittelt werden.

### 2.4 Statistische Analysen

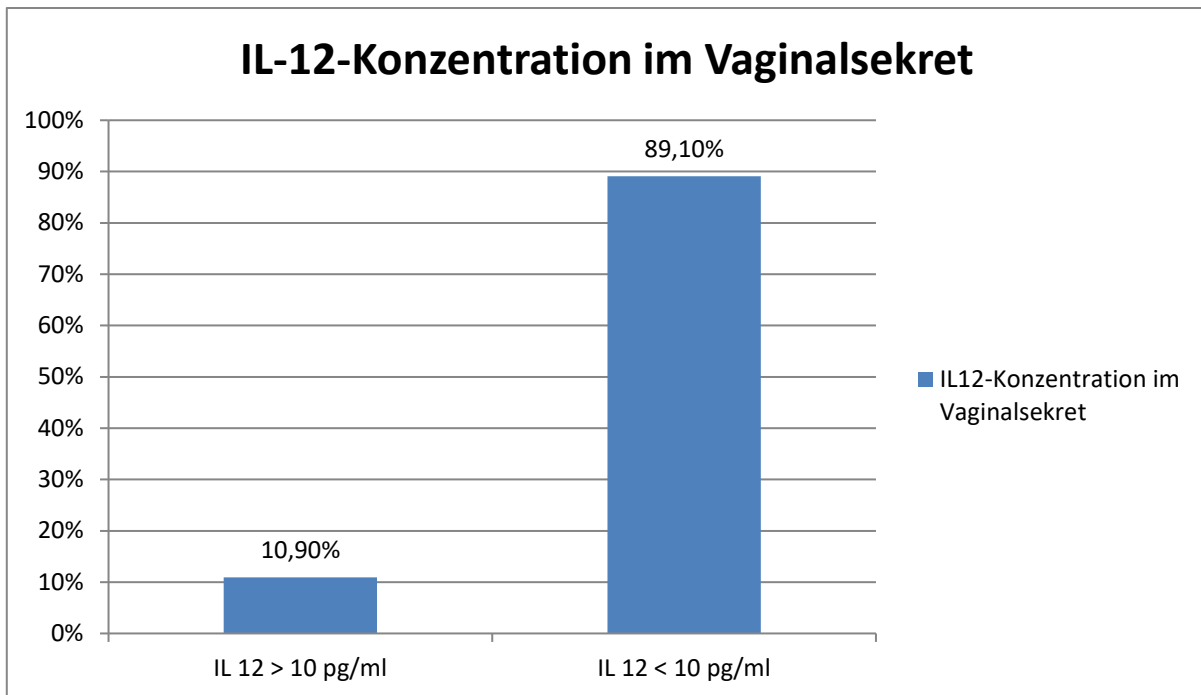
Mit Hilfe der Programme Microsoft Excel sowie IBM SPSS wurden die erhobenen Daten ausgewertet.

Von den untersuchten 132 Patientinnen wurden die Daten von drei Patientinnen aufgrund bestehender Schwangerschaft von der statistischen Analyse ausgeschlossen. Zunächst wurde errechnet, bei wie vielen der verbleibenden 129 Patientinnen sich erhöhte Interleukinwerte für die Interleukine 4 und 12 im Vaginalsekret fanden. Als „erhöht“ wurden, ausgehend von dem vom Labor angegebenen Normbereich, Werte ab 10 pg/ml definiert.

Die graphische Darstellung dieser Ergebnisse findet sich nachstehend:



**Abbildung 10: IL-4-Konzentration im Vaginalsekret**

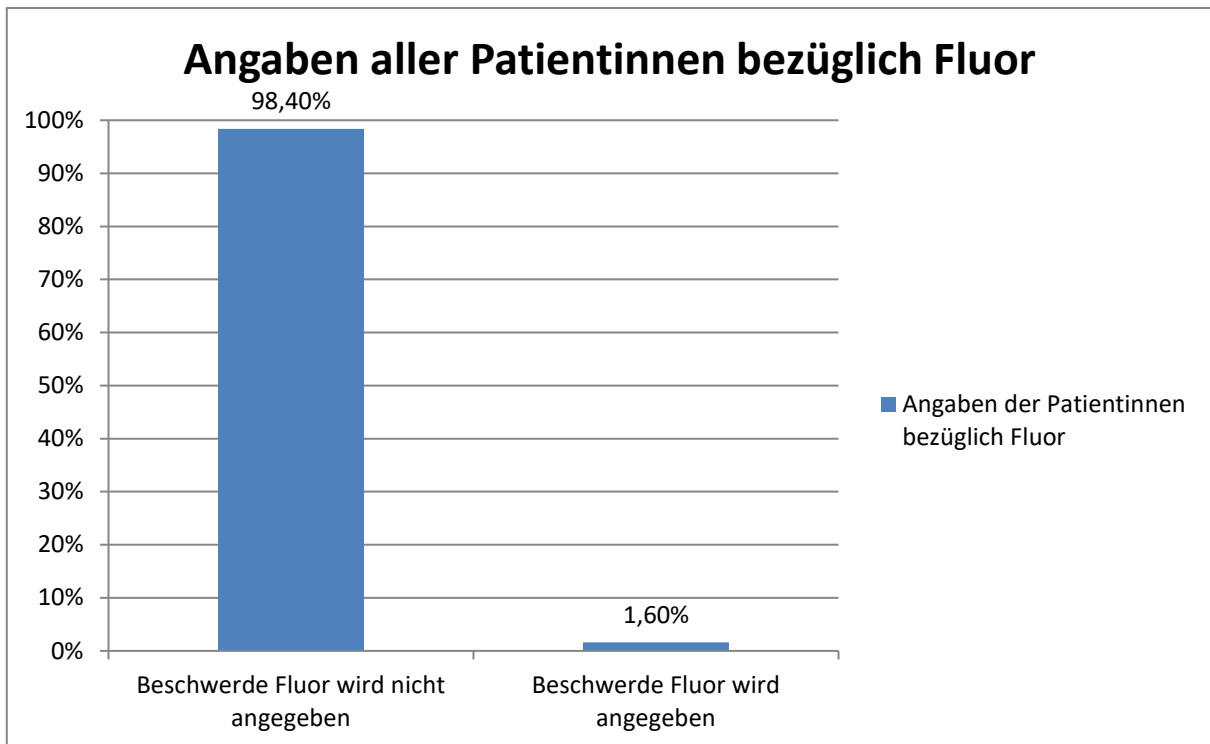


**Abbildung 11: IL-12-Konzentration im Vaginalsekret**

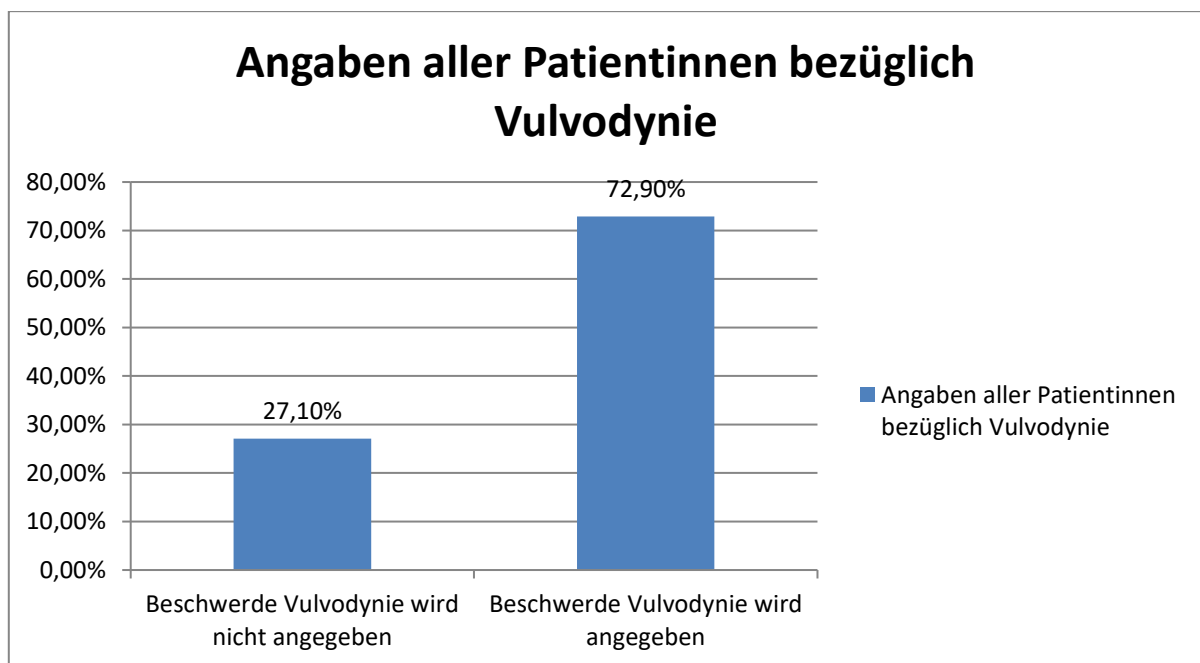
Um zunächst herauszufinden, ob generell ein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen eines erhöhten Interleukinwerts im Vaginalsekret und dem Auftreten klinischer Beschwerden besteht, wurde berechnet, wie viele aller untersuchten und befragten Patientinnen überhaupt Beschwerden angaben. Im Anschluss daran wurde weiter differenziert, wie viele der Patientinnen, bei welchen ein erhöhter Interleukinwert erhoben wurde, Beschwerden angaben. Um eine Kontrollgruppe als Vergleich heranziehen zu können, wurde analysiert, wie hoch der Prozentsatz an Beschwerden bei den Patientinnen ohne erhöhten Interleukinwert ist.

Die Diagramme finden sich nachstehend:

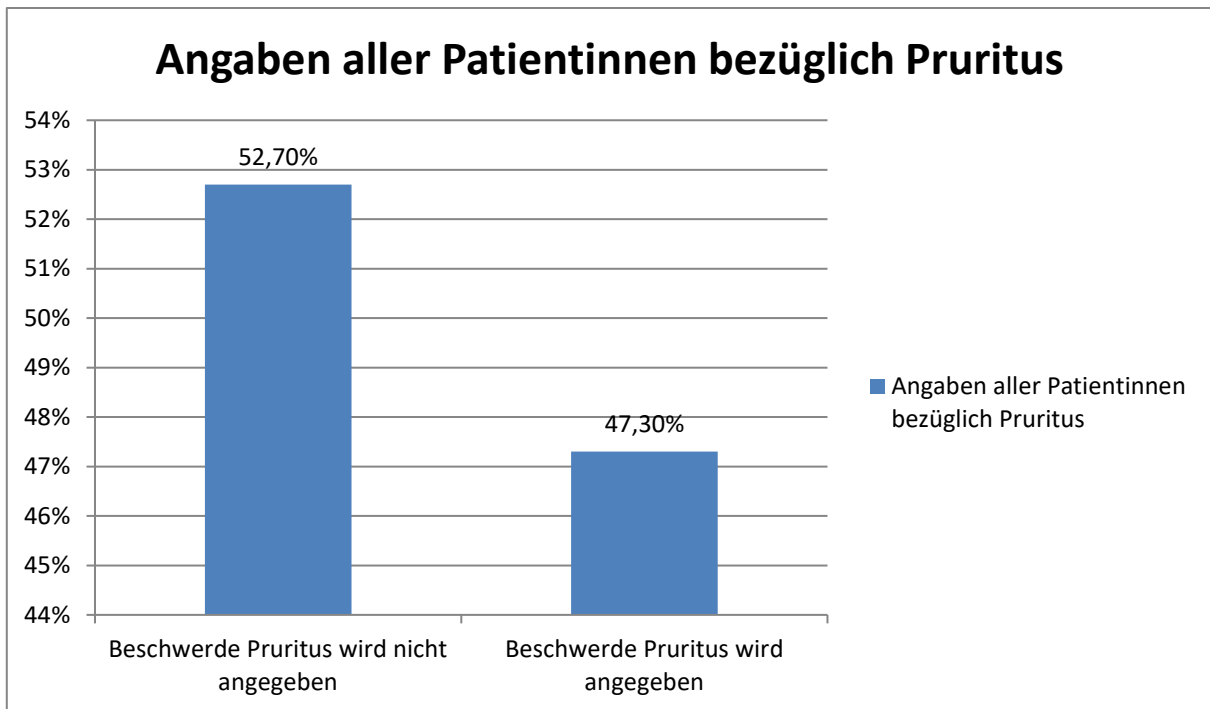




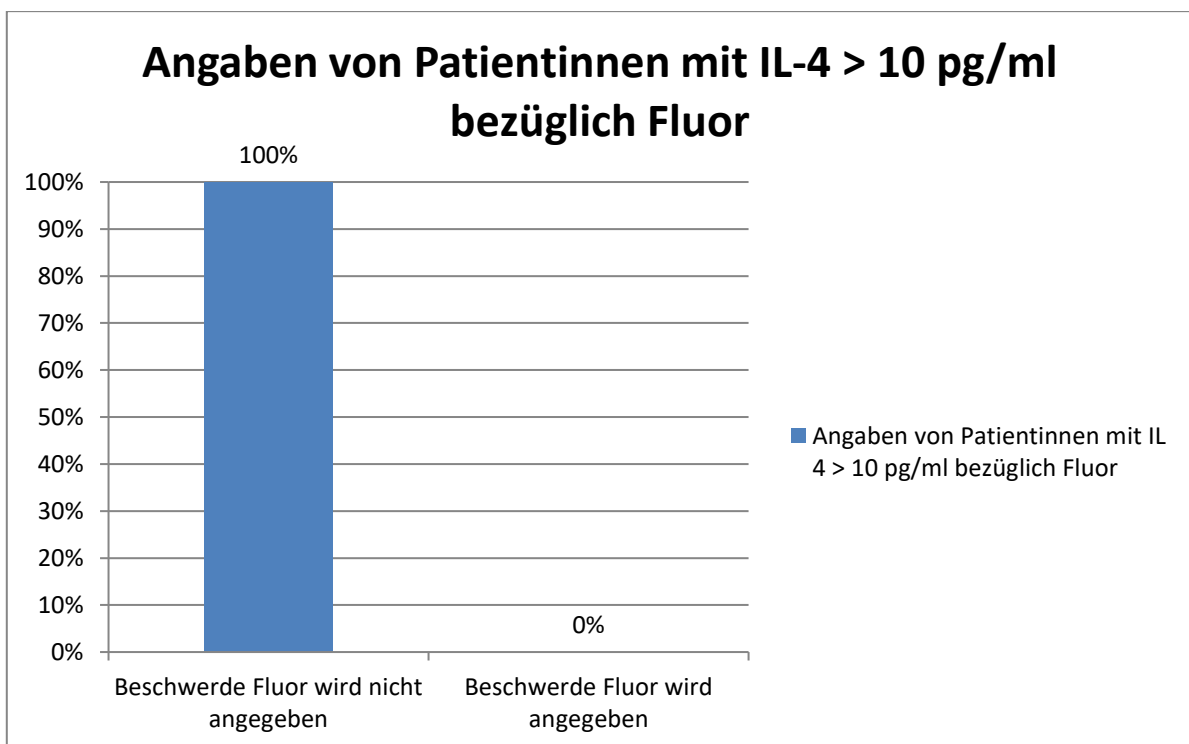
**Abbildung 12: Angaben aller Patientinnen bezüglich Fluor**



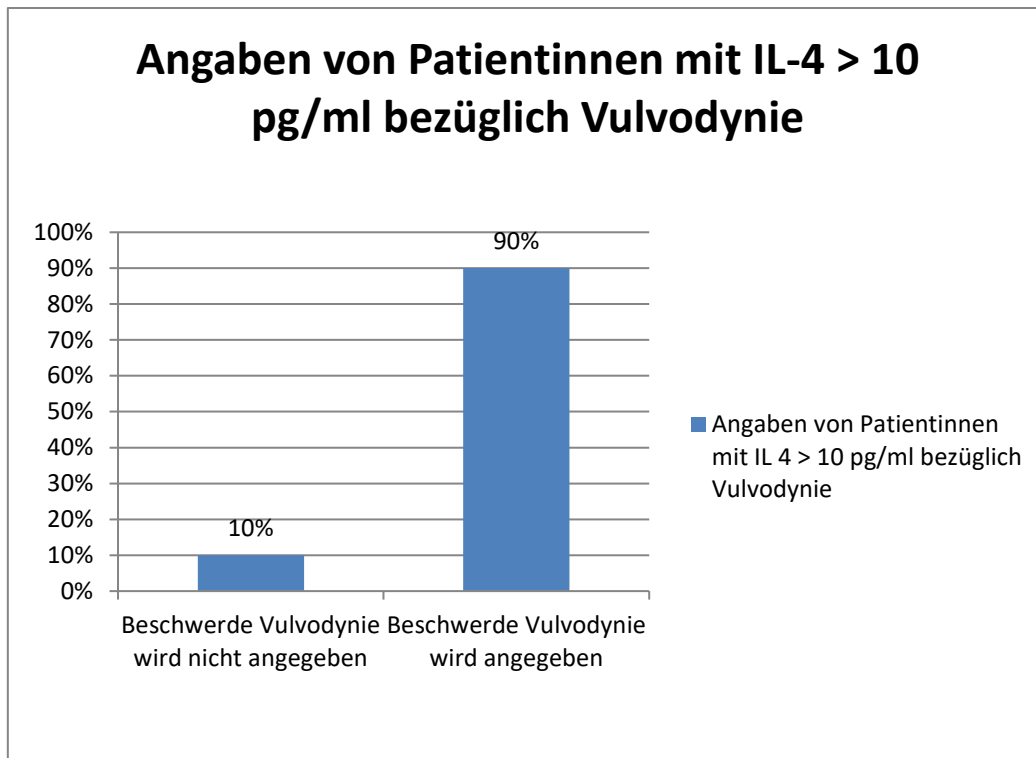
**Abbildung 13: Angaben aller Patientinnen bezüglich Vulvodynie**



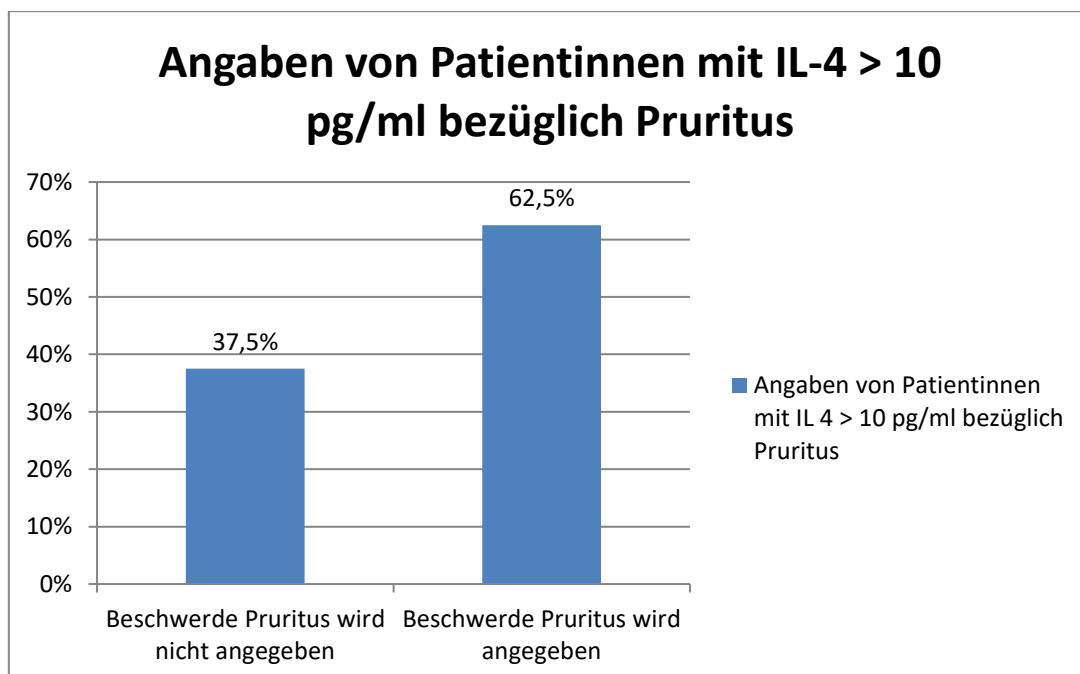
**Abbildung 14: Angaben aller Patientinnen bezüglich Pruritus**



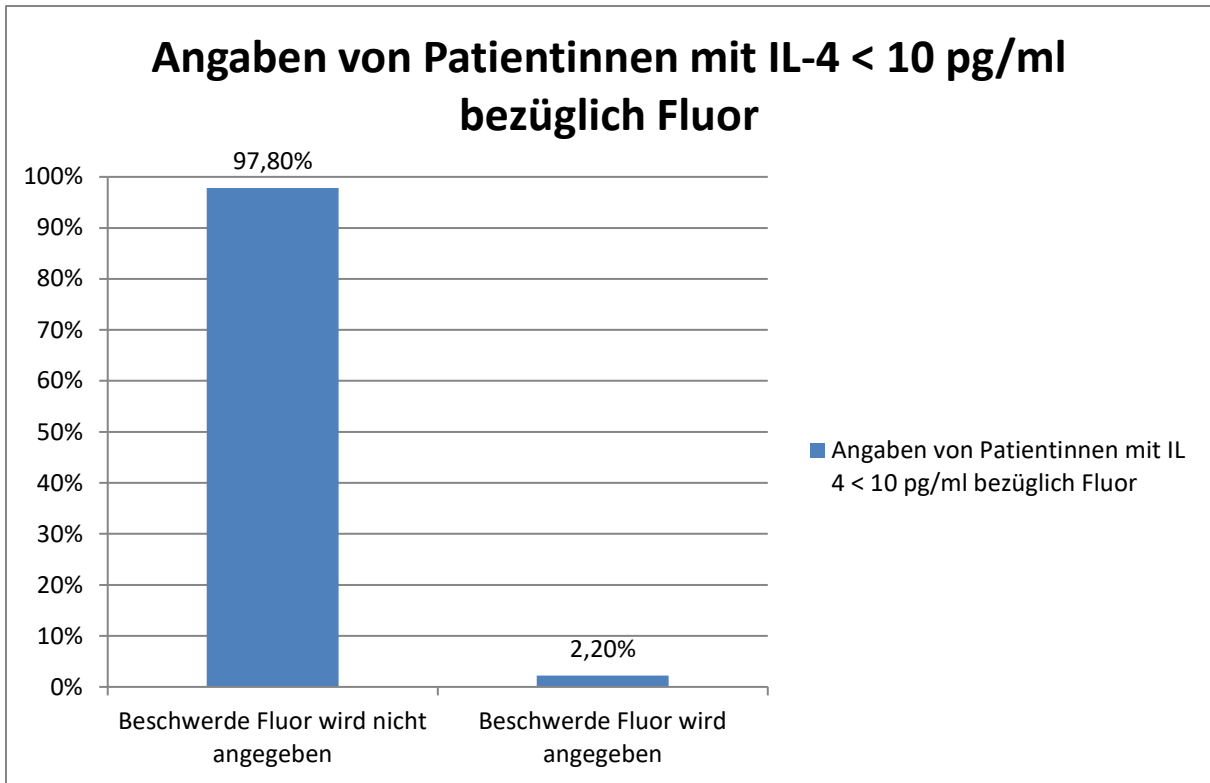
**Abbildung 15: Angaben aller Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml bezüglich Fluor**



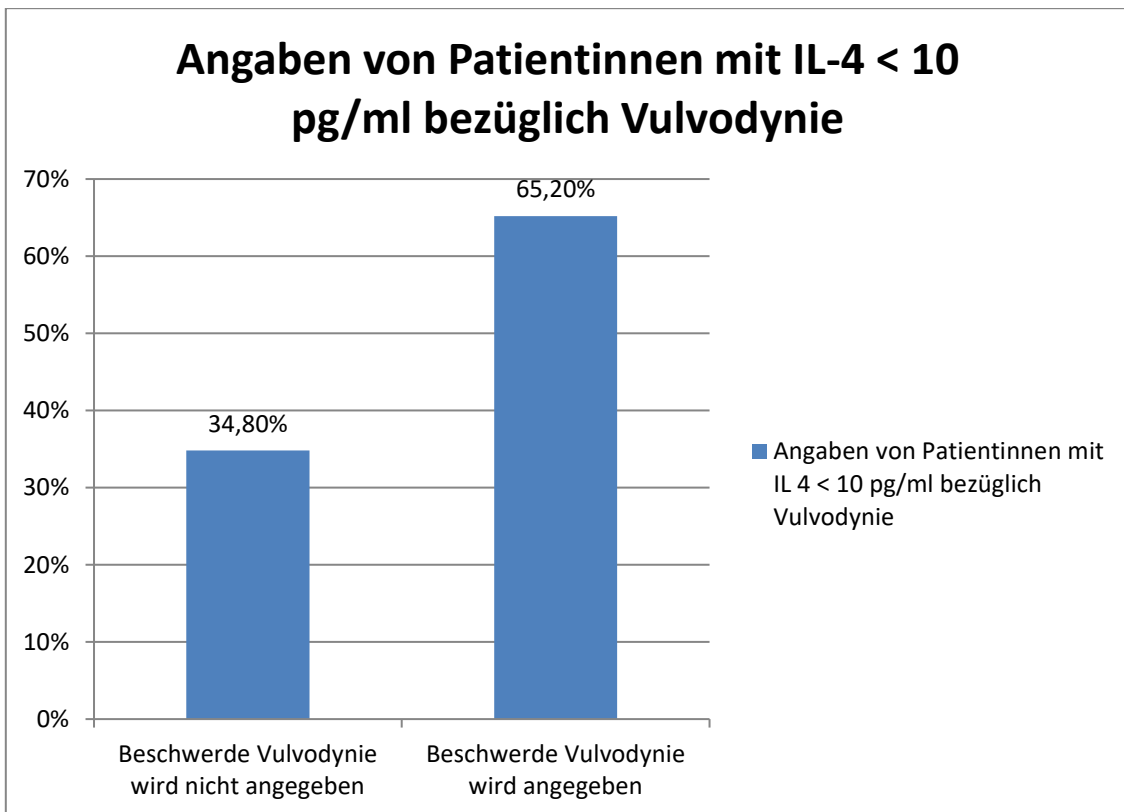
**Abbildung 16: Angaben von Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml bezüglich Vulvodynie**



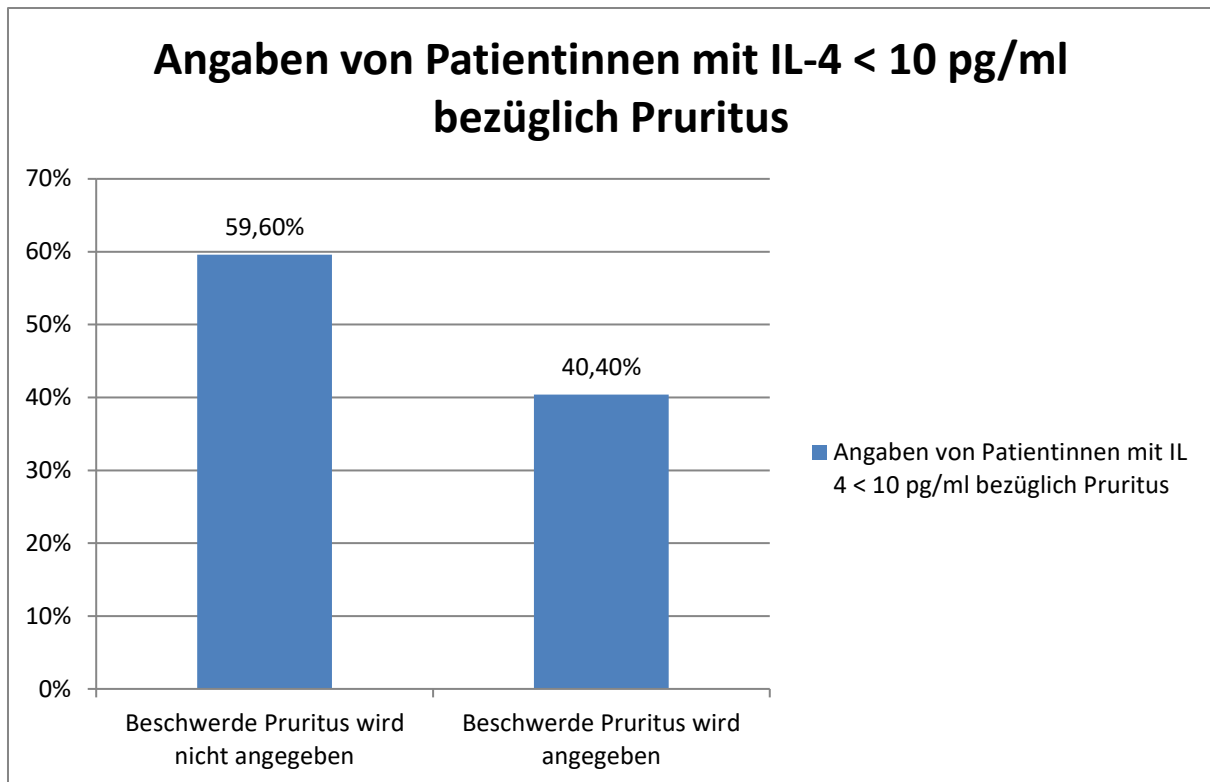
**Abbildung 17: Angaben von Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml bezüglich Pruritus**



**Abbildung 18: Angaben von Patientinnen mit IL-4 < 10 pg/ml bezüglich Fluor**



**Abbildung 19: Angaben von Patientinnen mit IL-4 < 10 pg/ml bezüglich Vulvodynie**

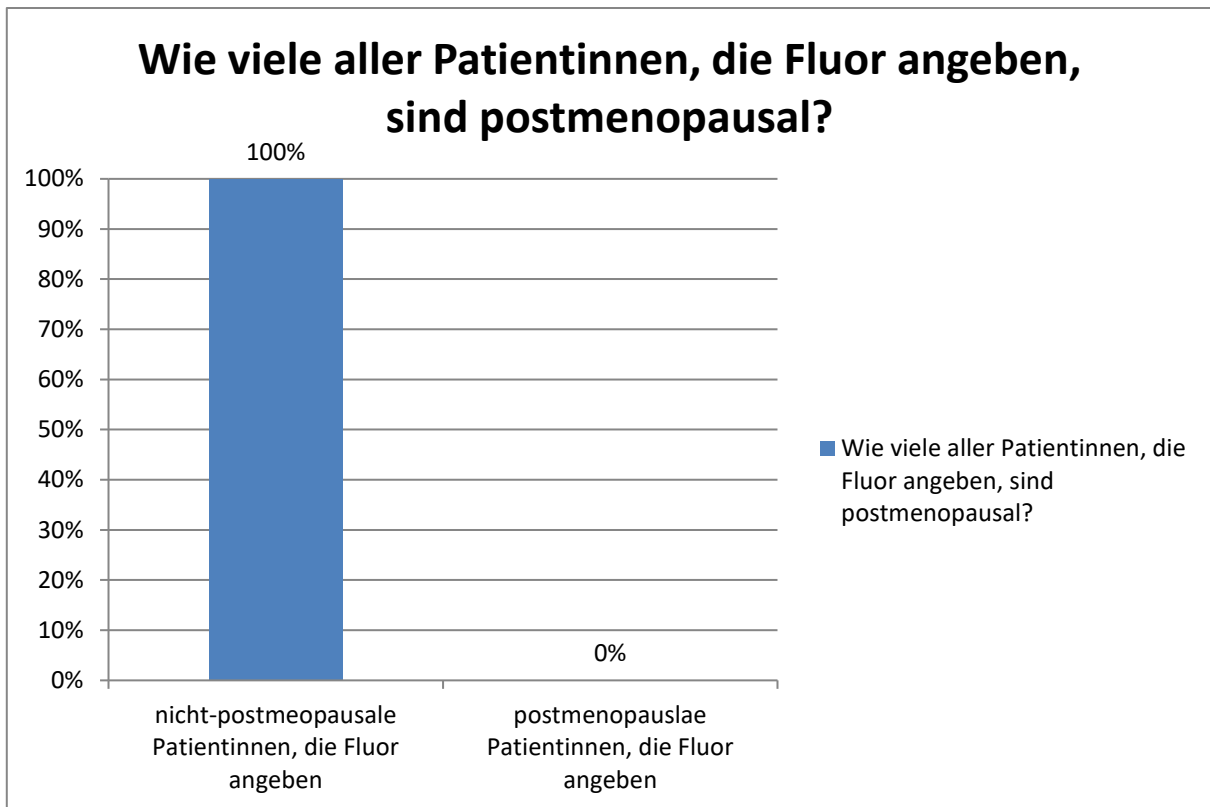


**Abbildung 20: Angaben von Patientinnen mit IL-4 < 10 pg/ml bezüglich Pruritus**

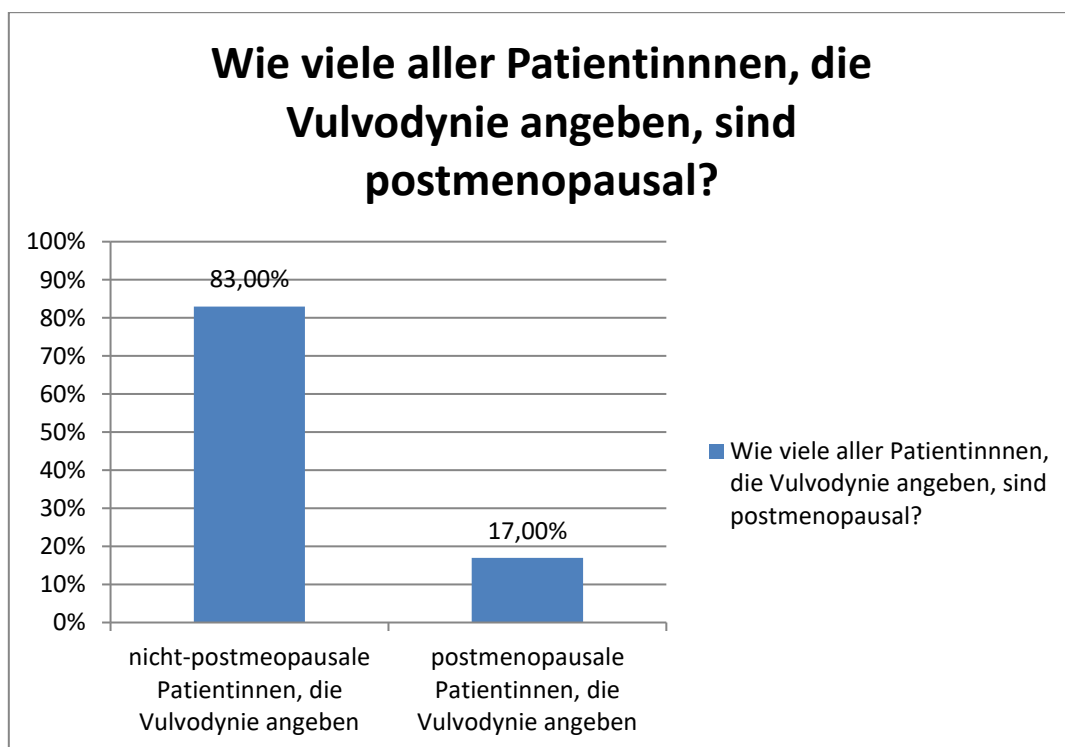
Um auszuschließen, dass es sich bei den aufgetretenen Beschwerden um ein Phänomen handelt, welches keinen immunologischen Hintergrund hat, sondern im Zusammenhang mit der Postmenopause steht, wurde zwischen fertilen und postmenopausalen Patientinnen unterschieden.

Es wurde zunächst untersucht, wie viele der Patientinnen, welche eine bestimmte Beschwerde angaben, zu dem Zeitpunkt postmenopausal waren.

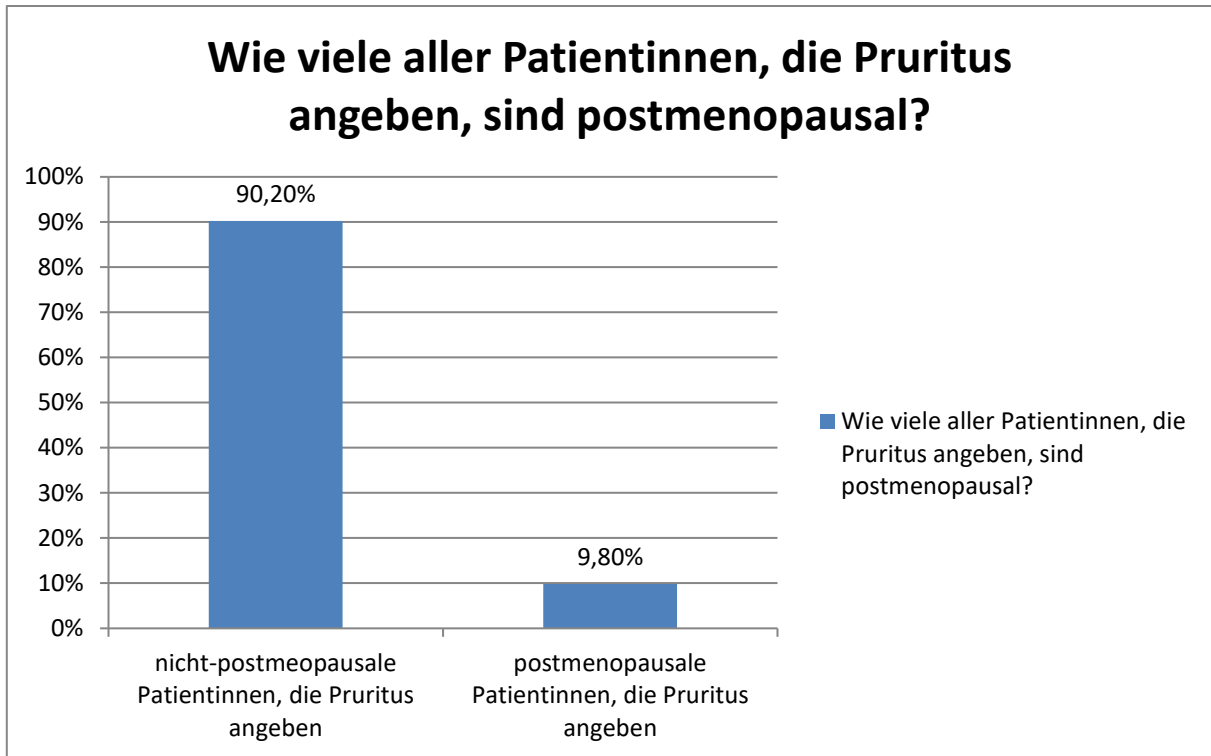
Um hierbei noch konkreter unterscheiden zu können, wurde berechnet, wie viele der Patientinnen mit erhöhtem Interleukinwert, welche Beschwerden angaben, postmenopausal waren.



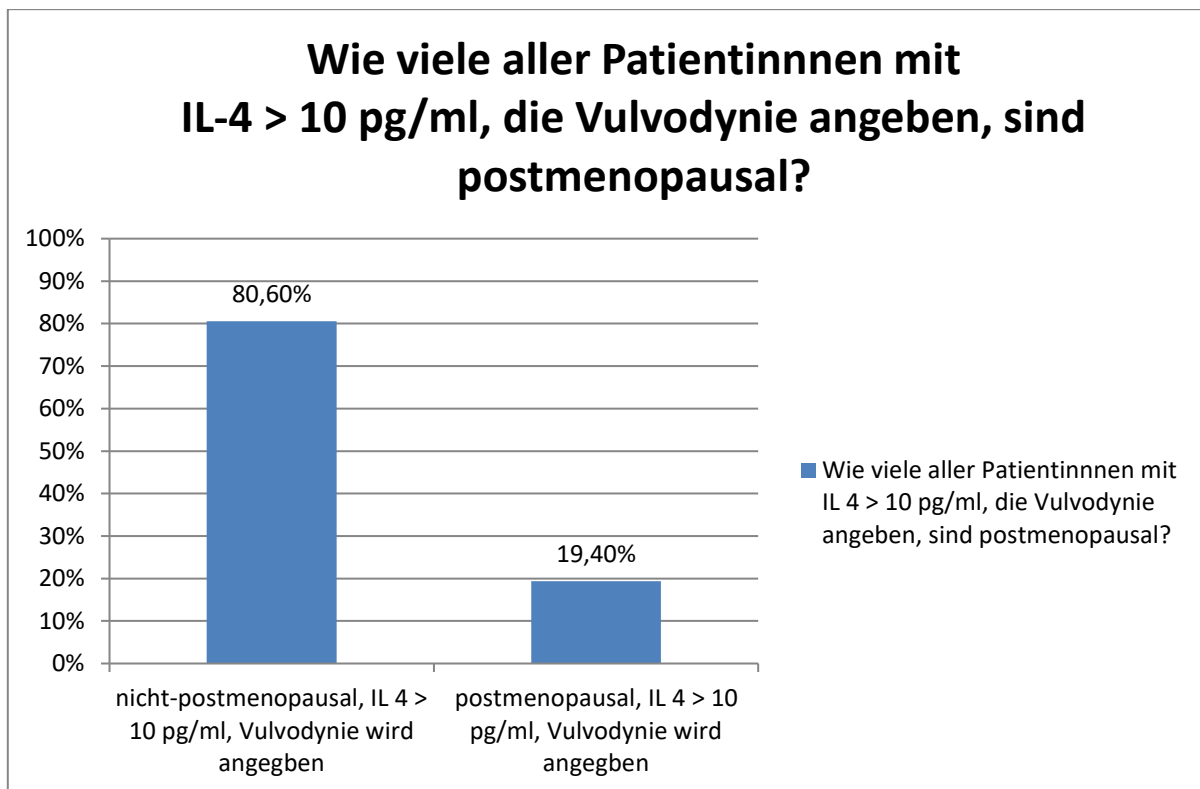
**Abbildung 21: Wie viele aller Patientinnen, die Fluor angeben, sind postmenopausal?**



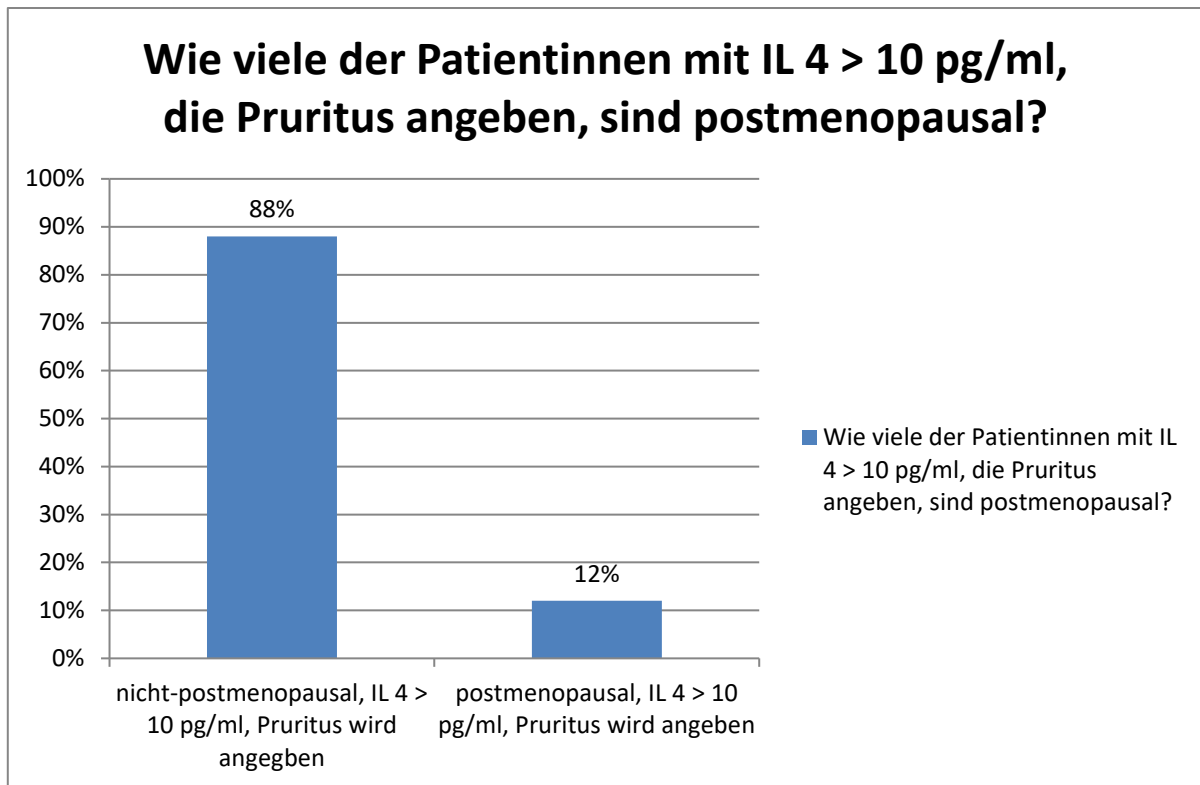
**Abbildung 22: Wie viele aller Patientinnen, die Vulvodynie angeben, sind postmenopausal?**



**Abbildung 23: Wie viele aller Patientinnen, die Pruritus angeben, sind postmenopausal?**



**Abbildung 24: Wie viele aller Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml, die Vulvodynie angeben, sind postmenopausal?**



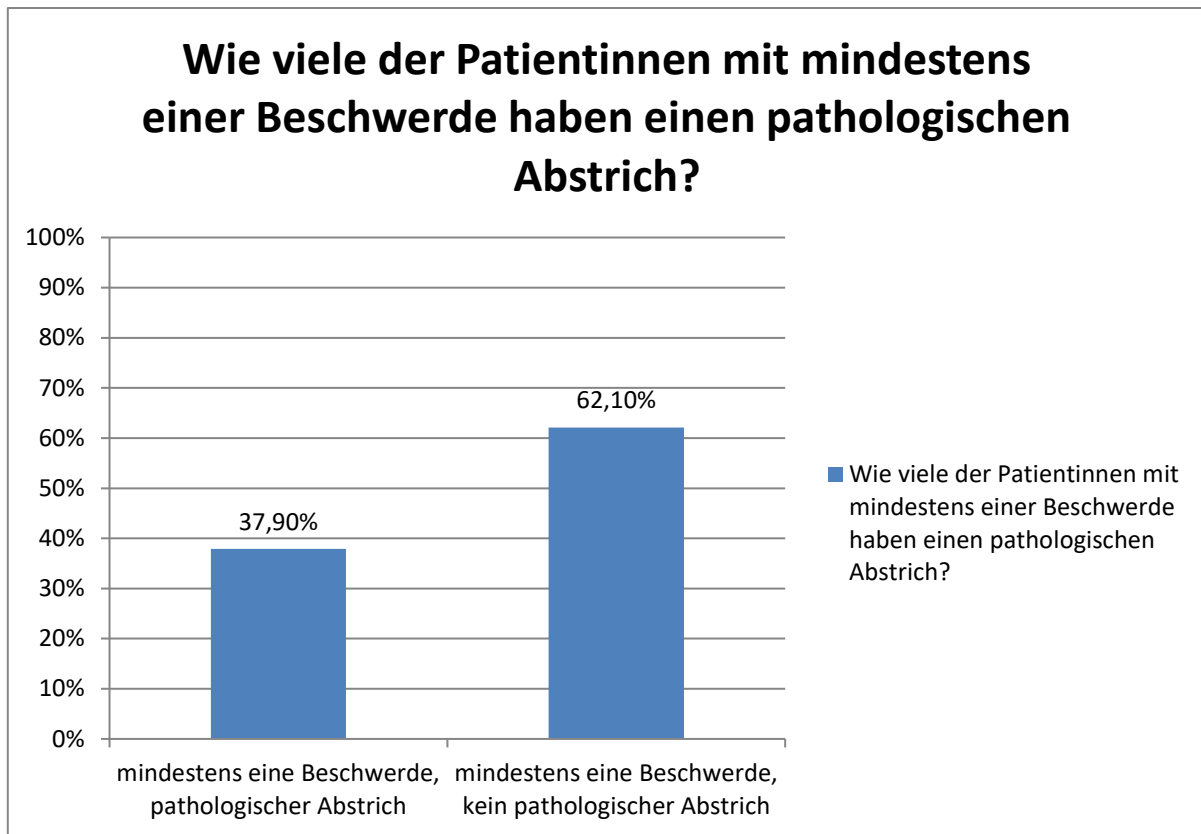
**Abbildung 25: Wie viele der Patientinnen mit IL-4 > 10 pg/ml, die Pruritus angeben, sind postmenopausal?**

Des Weiteren wurde der vaginale Abstrich der Patientinnen auf Pathogenität untersucht. Als pathogen wurden all diejenigen Erreger gewertet, welche nicht physiologischerweise zur Haut-, beziehungsweise Vaginalflora zählen, beispielsweise *Klebsiella pneumoniae* oder *Corynebakterium minutissimum*. Als pathogen wurden darüber hinaus diejenigen Abstriche gewertet, deren Befund Keime ergab, welche zwar nur fakultativ pathogen sind, jedoch „massenhaft“ (Anzahl von  $10^5$  pro ml wurde überschritten) vorlagen. Hierbei handelt es sich beispielsweise um *E. Coli*.

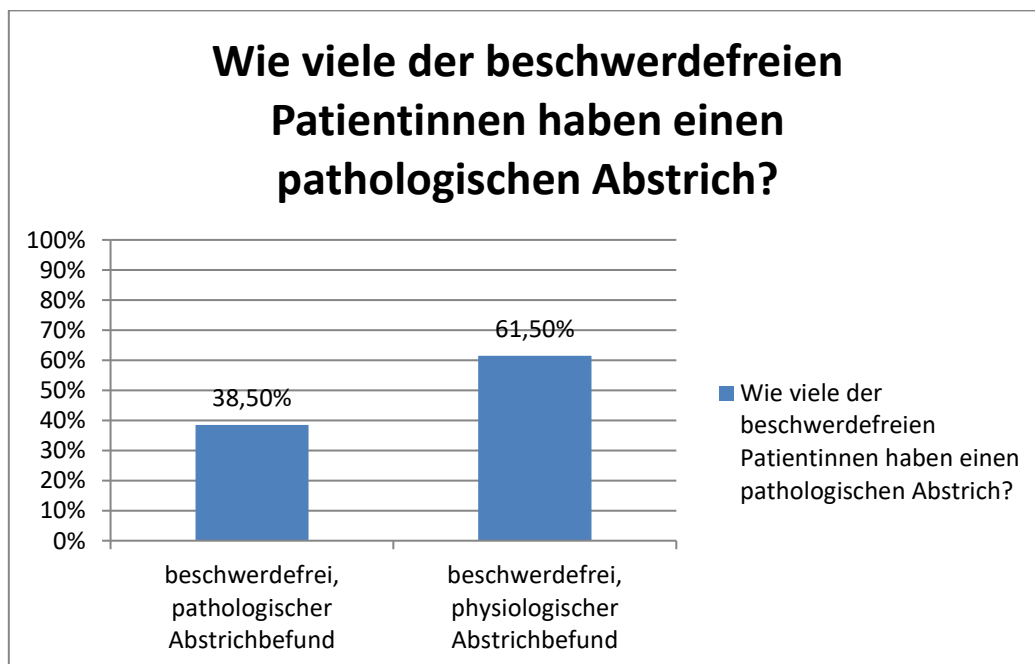
Es wurde hierbei weiter differenziert zwischen Patientinnen mit Beschwerden und solchen, welche laut eigenen Angaben beschwerdefrei waren, sowie zwischen Patientinnen mit erhöhtem IL-4 im Vaginalsekret und solchen, bei denen sich für IL-4 keine erhöhten Werte fanden.

Zwischen den Beschwerden Pruritus und Vulvodynie wurde bei diesem Aspekt der Auswertung nicht weitergehend unterschieden. Als „Patientinnen mit Beschwerden“ wurden solche betrachtet, welche entweder die eine oder die andere oder beide Beschwerden angaben.

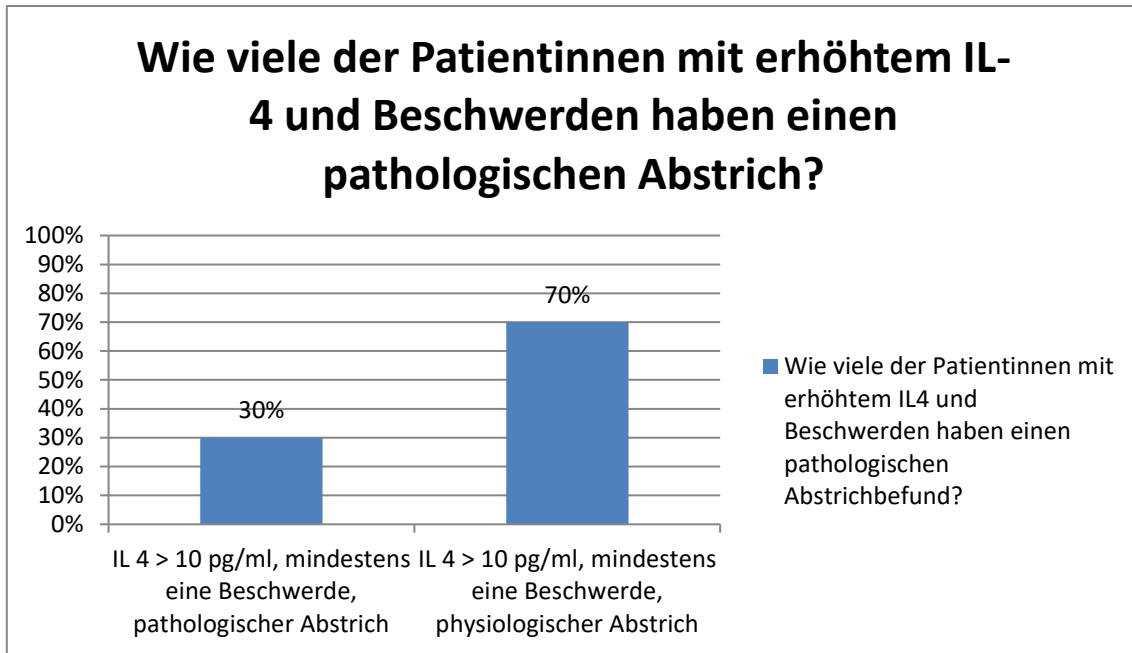




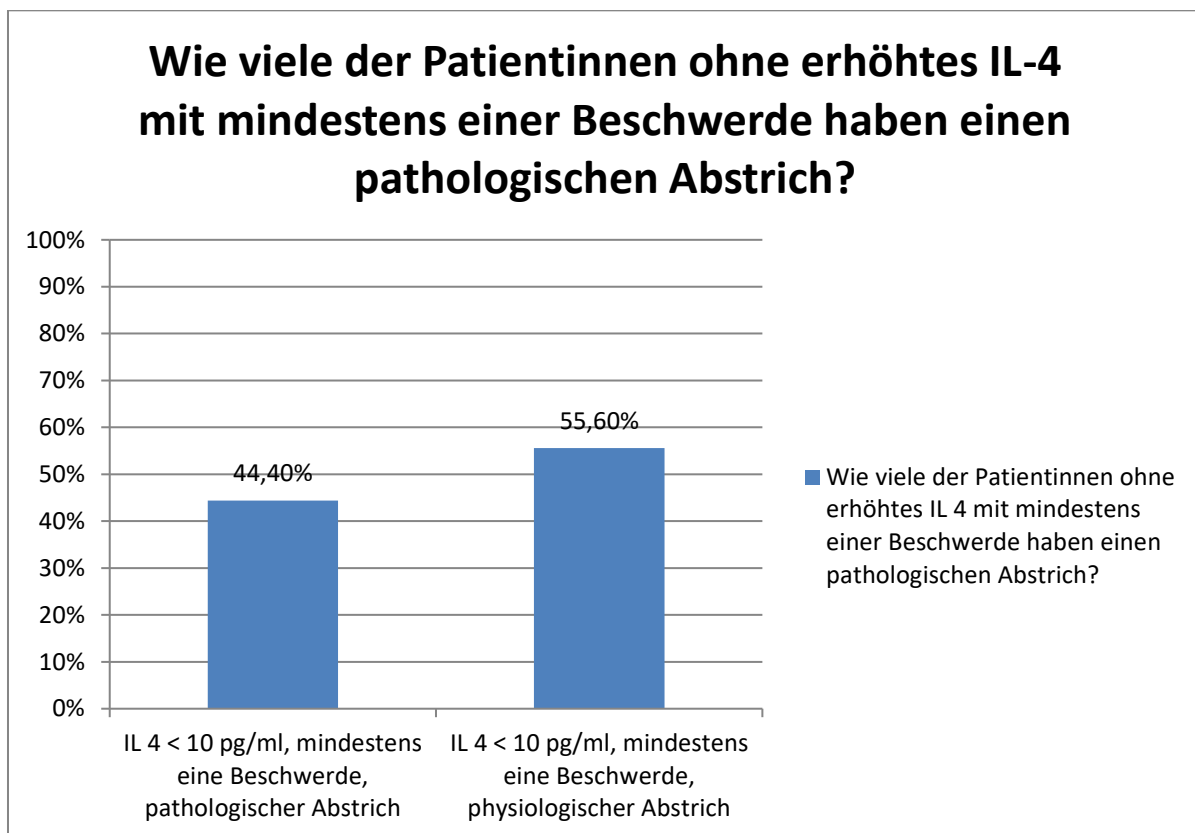
**Abbildung 26: Wie viele der Patientinnen mit mindestens einer Beschwerde haben einen pathologischen Abstrich?**



**Abbildung 27: Wie viele der beschwerdefreien Patientinnen haben einen pathologischen Abstrich?**



**Abbildung 28: Wie viele der Patientinnen mit erhöhtem IL-4 und Beschwerden haben einen pathologischen Abstrich?**



**Abbildung 29: Wie viele der Patientinnen ohne erhöhtes IL-4 mit mindestens einer Beschwerde haben einen pathologischen Abstrich?**

### III. ERGEBNISSE

Da sich bei lediglich 10,9% (14 Personen) der Patientinnen ein erhöhtes IL-12 im Vaginalsekret fand, wurde darauf verzichtet, IL-12 gesondert auszuwerten. Wenn ein erhöhter Interleukinwert erwähnt wird, ist somit stets ein IL-4-Wert größer 10 pg/ml gemeint.

Es wurde ebenfalls darauf verzichtet, die Beschwerde „Fluor“ näher zu betrachten, da sie von nur zwei der befragten Patientinnen angegeben wurde. Die Ergebnisse konzentrieren sich hinsichtlich der Beschwerden somit auf Vulvodynie und Pruritus.

Wie den vorstehenden Grafiken zu entnehmen ist, ist die Prävalenz für die Beschwerde „Vulvodynie“ im gesamten Kollektiv sehr hoch; 72,9% der Befragten gaben Vulvodynie an. Es lässt sich allerdings feststellen, dass die Prävalenz der Vulvodynie in der Gruppe der Patientinnen mit erhöhten Interleukinwerten mit 90% noch deutlich höher ist, wohingegen in der Kontrollgruppe (IL-4 < 10 pg/ml) nur 65,2% diese Beschwerde angaben.

Es wurde die Korrelation nach Pearson bestimmt, wonach der IL-4-Wert mit dem Vorliegen der Beschwerde Vulvodynie positiv korreliert. Es handelt sich um ein signifikantes Ergebnis bei einem Signifikanzniveau von 0,05.

#### Korrelationen

|            |                          | IL-4  | Vulvodynie |
|------------|--------------------------|-------|------------|
| IL-4       | Korrelation nach Pearson | 1     | ,199*      |
|            | Signifikanz (2-seitig)   |       | ,024       |
|            | N                        | 129   | 129        |
| Vulvodynie | Korrelation nach Pearson | ,199* | 1          |
|            | Signifikanz (2-seitig)   | ,024  |            |
|            | N                        | 129   | 129        |

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

#### Abbildung 30: Korrelation nach Pearson I

Bezüglich der Beschwerde „Pruritus“ verhält es sich recht ähnlich. Insgesamt gaben 47,3% aller befragten Patientinnen Pruritus an. In der Gruppe mit erhöhtem IL-4 äußerten sogar 63% diese Beschwerde. Bei den Patientinnen mit unauffälligem Interleukinwert waren es hingegen nur 40,4%, bei welchen diese Beschwerde vorlag.

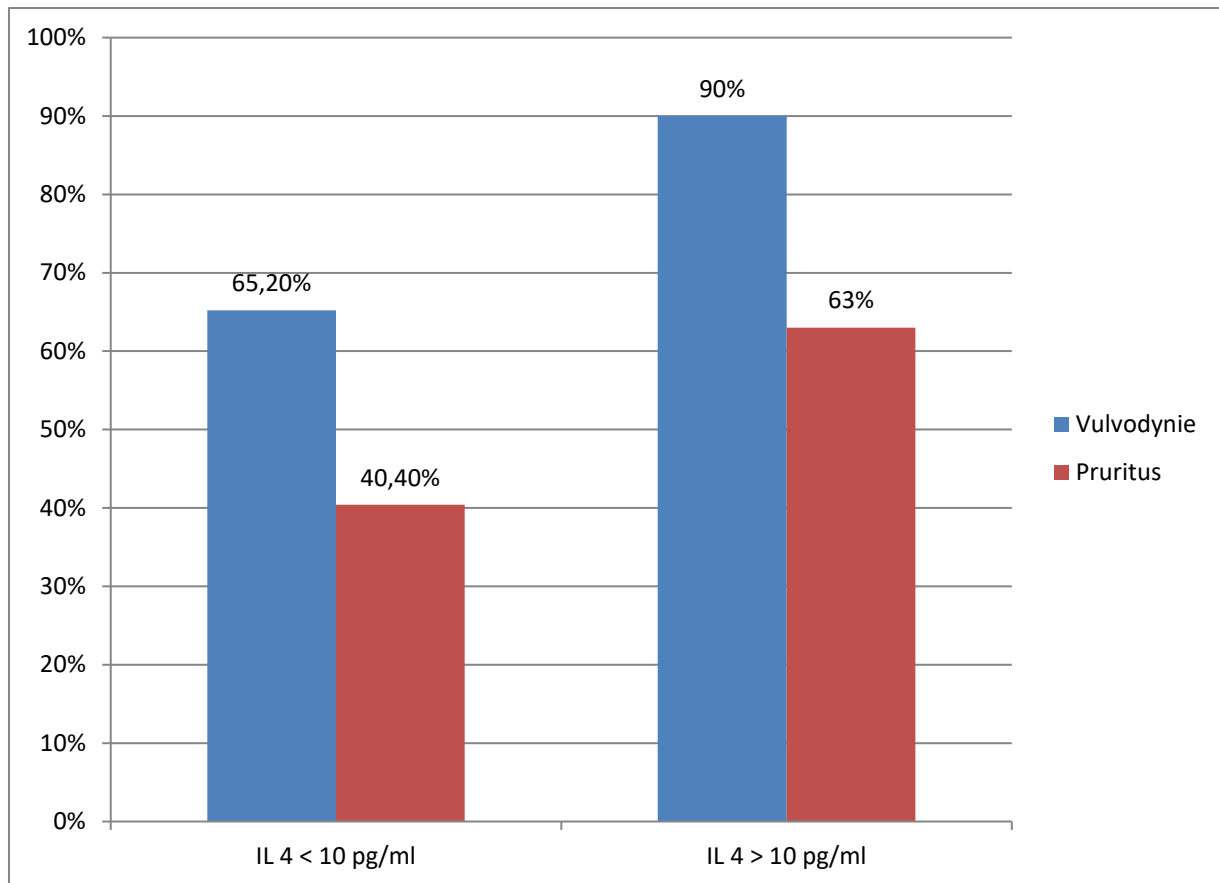
Auch hier wurde die Korrelation nach Pearson bestimmt. Die zugehörige Tabelle findet sich nachstehend. Es besteht eine positive Korrelation, welche als Tendenz gesehen werden kann, jedoch auf einem Signifikanzniveau von 0,05 nicht signifikant ist.

### Korrelationen

|          |                          | IL-4 | Pruritus |
|----------|--------------------------|------|----------|
| IL-4     | Korrelation nach Pearson | 1    | ,092     |
|          | Signifikanz (2-seitig)   |      | ,302     |
|          | N                        | 129  | 129      |
| Pruritus | Korrelation nach Pearson | ,092 | 1        |
|          | Signifikanz (2-seitig)   | ,302 |          |
|          | N                        | 129  | 129      |

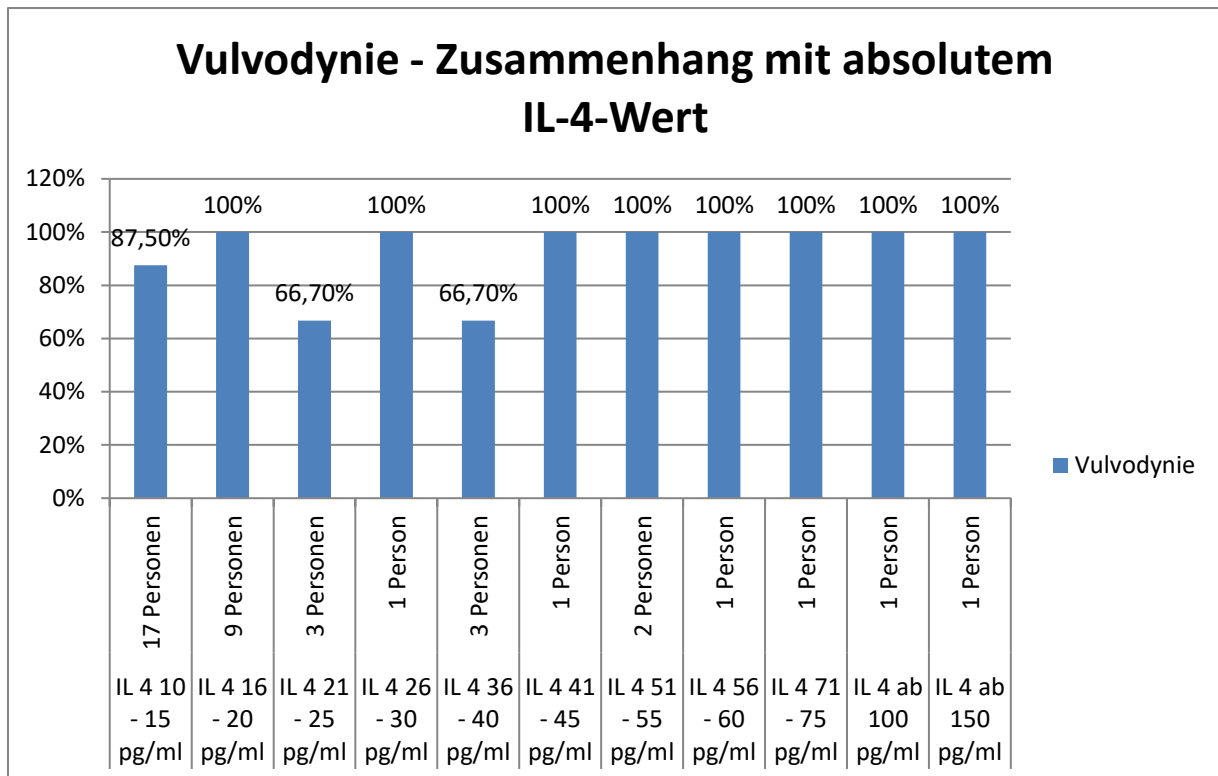
**Abbildung 31: Korrelation nach Pearson II**

Es lässt sich somit sagen, dass die beiden Beschwerden Vulvodynie und Pruritus in der Gruppe mit erhöhtem IL-4 deutlich häufiger angegeben wurden als in der Kontrollgruppe ohne erhöhten Wert. Die Unterschiede betragen 24,8 Prozentpunkte für Vulvodynie und 22,6 Prozentpunkte für Pruritus. Hieraus lässt sich schließen, dass ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Interleukinwert für IL-4 im Vaginalsekret und dem Vorliegen der Beschwerden besteht.



**Abbildung 32: Vulvodynie und Pruritus bei erhöhtem bzw. nicht erhöhtem Wert für IL-4**

Um herauszufinden, ob lediglich ein Vorliegen von IL-4 (d.h. beliebiger Wert > 10 pg/ml) oder auch die Höhe des gefundenen Wertes für das Auftreten der Beschwerde Vuvlodynie eine Rolle spielt, wurde überprüft, wie hoch die Prävalenz der Vulvodynie bei den jeweiligen Werten ist. Die gefundenen Werte wurden in 5 pg/ml – Schritte eingeteilt. Die grafische Darstellung findet sich nachstehend:



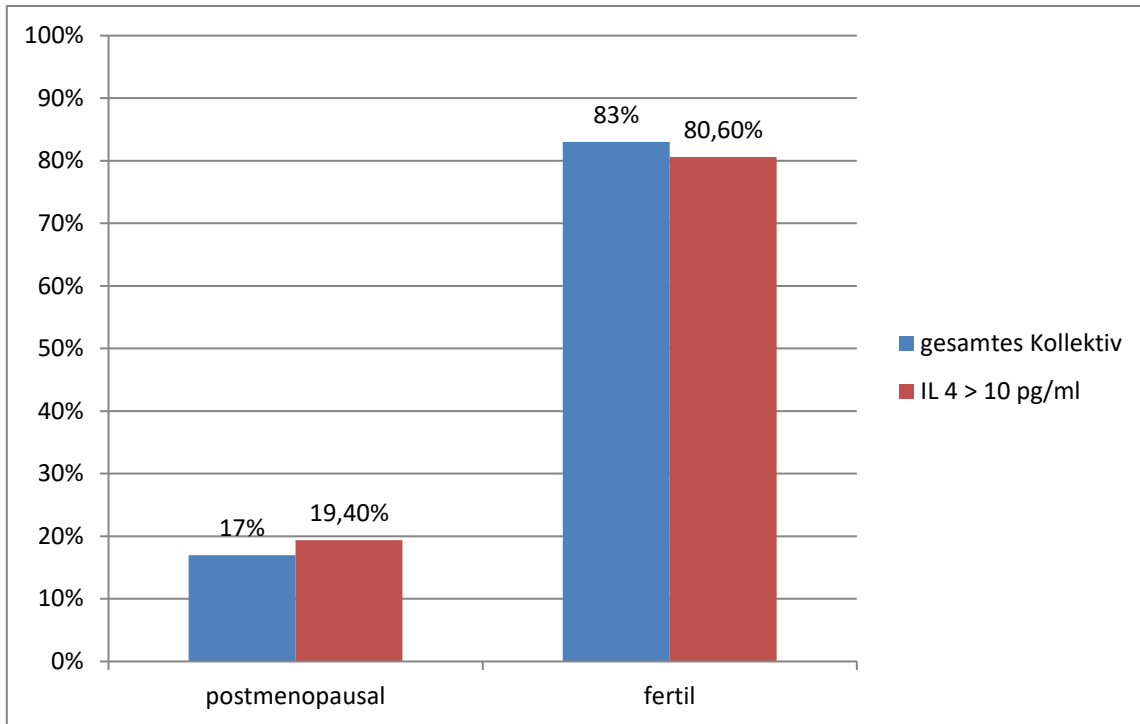
**Abbildung 33: Auftreten der Beschwerde Vulvodynie im Zusammenhang mit der Höhe des IL-4-Wertes**

Zwar lässt sich dahingehend eine Tendenz feststellen, dass ein höherer Wert mit einer größeren Beschwerdeprävalenz einhergeht, jedoch ist die Aussagekraft aufgrund der geringen Fallzahlen pro Wertebereich recht eingeschränkt. Bei einem größeren Patientenkollektiv ließe sich die Vermutung unter Umständen belegen.

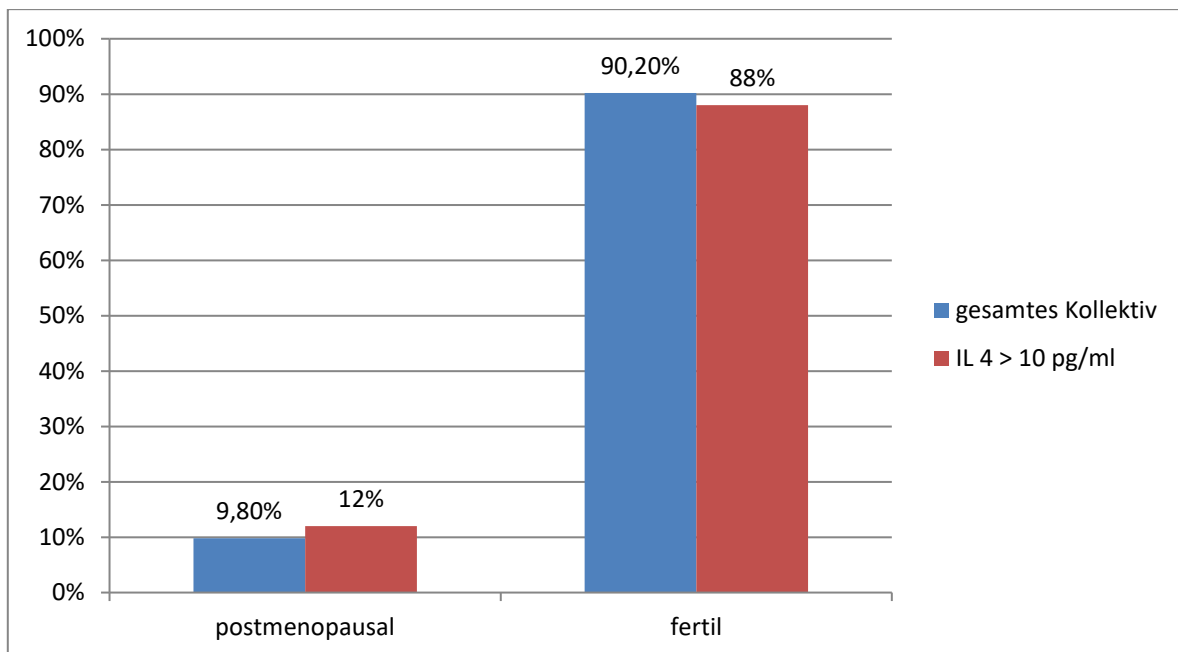
Die Unterscheidung zwischen fertilen und postmenopausalen Patientinnen ergab Folgendes: 17% aller Patientinnen, welche Vulvodynie angaben, waren postmenopausal und demzufolge 83% fertil. In der Gruppe der Patientinnen mit erhöhtem Interleukinwert waren 19,4% derer, welche Vulvodynie angaben, postmenopausal und 80,6% fertil.

Bezüglich der Angaben von Pruritus ergibt sich Ähnliches. 9,8% der Patientinnen, welche über Pruritus klagten, waren postmenopausal, 90,2% fertil. In der Gruppe der Patientinnen mit erhöhtem Interleukinwert waren 12% derer, welche Pruritus angaben, postmenopausal und 88% fertil.

Somit ist davon auszugehen, dass diese Beschwerden ihre Begründung nicht in der Postmenopause finden, sondern es ließ sich vielmehr herausfinden, dass die Prävalenz dieser Beschwerden bei den fertilen Frauen um ein Vielfaches höher ist.



**Abbildung 34: Vulvodynie - Unterscheidung zwischen postmenopausal und fertile**



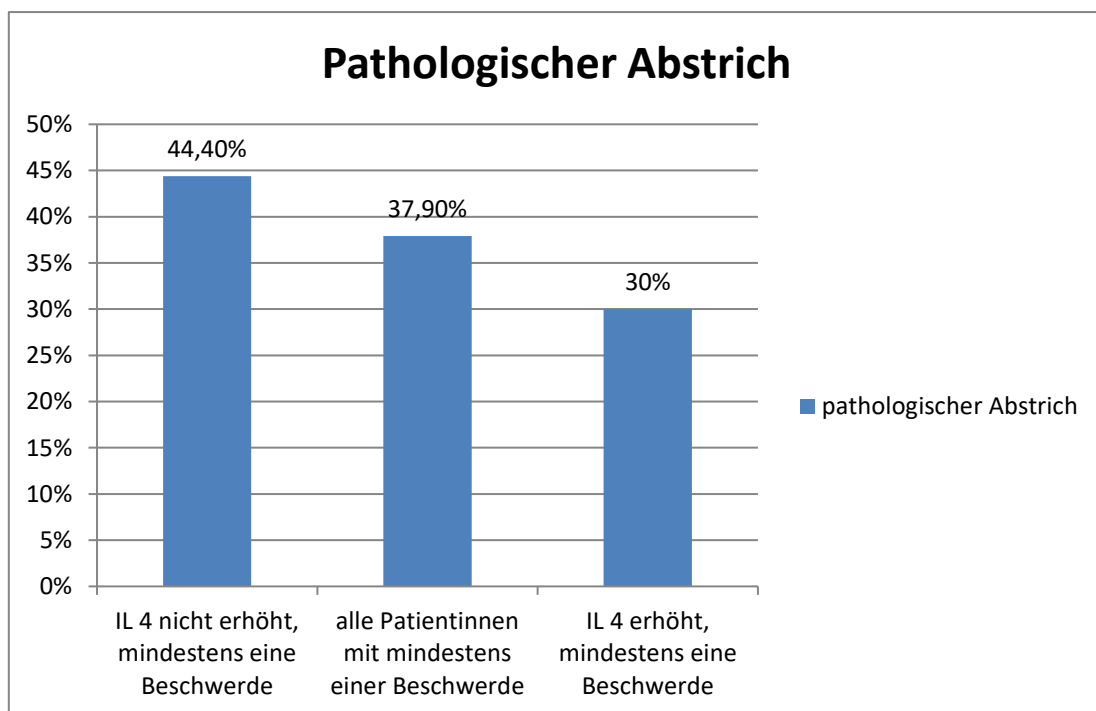
**Abbildung 35: Pruritus - Unterscheidung zwischen postmenopausal und fertile**

Bezüglich der Befunde der Vaginalabstriche ließ sich gemäß der im Punkt „Statistische Analysen“ aufgeführten Grafiken ermitteln, dass sich die Prävalenzen eines pathologischen

Abstriches in der Gruppe der beschwerdefreien Patientinnen und in der Gruppe der Patientinnen mit Beschwerden recht ähnlich waren (37,9% in der Beschwerde-Gruppe, 38,5% in der beschwerdefreien Gruppe).

Um den Effekt von IL-4 besser untersuchen zu können, wurde darüber hinaus bei den Patientinnen, welche Beschwerden äußerten, noch unterschieden zwischen Patientinnen mit erhöhtem IL-4 und solchen, deren Wert im Normbereich lag. Es zeigte sich, dass bei den Patientinnen ohne erhöhtes IL-4 (IL-4 < 10 pg/ml im Vaginalsekret, mindestens eine Beschwerde) mit 44,4% im Vergleich zur Gesamtgruppe (alle Patientinnen mit mindestens einer Beschwerde) öfter ein pathologischer Abstrich nachgewiesen wurde als in der Gesamtgruppe (37,9%, siehe oben). Bei den Patientinnen mit erhöhtem IL-4 (IL-4 > 10 pg/ml, mindestens eine Beschwerde) fand sich hingegen nur bei 30% ein pathologischer Abstrich.

Es ließe sich somit darauf schließen, dass die Beschwerden der Patientinnen in der Gruppe mit erhöhtem IL-4 tatsächlich im Zusammenhang mit dem erhöhten IL-4 stehen und nicht primär mit dem Vorliegen eines Erregers, da ja in dieser Gruppe weniger pathologische Abstriche gefunden wurden als in der Vergleichsgruppe.



**Abbildung 36: Vorliegen pathologischer Abstriche bei Patientinnen mit Beschwerden in Zusammenhang mit IL-4**



#### IV. DISKUSSION

Bedauerlich ist, dass die Befunde der vierzehn IL-12-positiven Patientinnen, die stets im Zusammenhang mit mindestens einer klinischen Beschwerde standen, nicht ausgewertet werden konnten. Dies gilt insbesondere, da bei neun der vierzehn Patientinnen mit erhöhtem IL-12 der IL-4-Wert ebenfalls erhöht war, so dass sich lediglich bei fünf Patientinnen eine isolierte Erhöhung von IL-12 fand. Es steht zu vermuten, dass bei einer Untersuchung mit einem deutlich größeren Kollektiv ausreichend Patientinnen mit einer isolierten IL-12-Erhöhung gefunden werden könnten und so eine zuverlässige Aussage getroffen werden könnte.

Das Interleukin 12 spielt eine zentrale Rolle bei der Immunantwort durch die TH<sub>1</sub> Helferzellen und kann auch an der Genese von Autoimmunerkrankungen beteiligt sein. [20]

Die Prävalenz der Vulvodynie erweist sich in der vorliegenden Untersuchung mit 72,9% im gesamten Kollektiv als erstaunlich hoch, verglichen mit der im Jahre 2012 im Rahmen einer Studie in Michigan ermittelten Prävalenz von etwa 8%. [1]. In der „Ärzte Zeitung“ wird von einer Prävalenz von etwa drei bis vierzehn Prozent ausgegangen, welche ebenfalls weit unter dem hier ermittelten Wert liegt. [2] Dies mag zum einen daran liegen, dass die hier als Vulvodynie betitelten Symptome nicht vollständig den Diagnosekriterien entsprechen. Es handelte sich hier nur um eine einmalige Befragung, wohingegen die Diagnosekriterien ein drei- bis sechsmonatiges Vorliegen der Beschwerden verlangen. Auch lagen die Beschwerden nicht in der den Diagnosekriterien entsprechenden Schwere vor, welche so weit geht, dass die Patientinnen kaum noch gehen, Unterwäsche tragen oder Berührung zulassen können. [21] Zum anderen liegt die tatsächliche Prävalenz auch laut ISSVD (International Society for the Study of vulvovaginal disease) über den im Rahmen von Studien ermittelten Werten. [3] Des Weiteren wurde im Rahmen der Befragung noch nicht nach Ursachen der Beschwerden differenziert, wodurch streng genommen manche der im Rahmen der Untersuchung erhobenen Vulvodynie-Beschwerden vielmehr dem Komplex A der Klassifikation der ISSVD zuzuordnen wären, welcher sich durch eine Assoziation mit einer spezifischen Krankheit auszeichnet. [4]

Es stellt sich die Frage, worauf sich der signifikante Unterschied in der Angabe von Vulvodynie zwischen der Gruppe mit erhöhten IL-4-Werten (90%) und der Kontrollgruppe ohne erhöhtes IL-4 (65,2%) gründet. Eine vermehrte Angabe von derlei Beschwerden aufgrund des Wissens um den erhöhten Wert und damit verbundene psychologische Effekte ist auszuschließen, da die Patientinnen zum Zeitpunkt der Beschwerdeäußerung keinerlei

Kenntnisse über die Werte hatten. Ebenso sind eine suggestive Fragestellung und erhöhte Erhebung von Beschwerdeangaben aufgrund erhöhter Werte im Sinne eines Rosenthal-Effektes ausgeschlossen, da die Werte prinzipiell erst nach der Befragung erhoben wurden.

Im Rahmen der Immunantwort sind T-Helferzellen dafür verantwortlich, Antigene, welche ihnen von antigenpräsentierenden Zellen präsentiert werden, zu erkennen und daraufhin die Immunantwort einzuleiten. CD4 positive T<sub>2</sub>-Helferzellen interagieren nach dem Erkennen eines Antigens mit B-Lymphozyten über Zytokine, unter anderem mittels IL-4. IL-4 induziert die Differenzierung der B-Zellen zu Plasmazellen. [5] Hauptsächlich wird IL-4 von TH<sub>2</sub>-Zellen produziert und verringert wiederum die Produktion von TH<sub>1</sub> Zellen. Die Aufgabe der TH<sub>2</sub>-Zellen liegt primär in der Einleitung der humoralen Immunantwort durch die Aktivierung der B-Zellen. [6, 7]

Des Weiteren beeinflusst IL-4 B-Zellen dahingehend, dass es für den Immunglobulin-Klassenwechsel von IgM hin zu IgG und IgE mit verantwortlich ist. [8, 9]

Da es sich bei Interleukin 4 um ein antientzündliches Zytokin handelt [10], könnte davon ausgegangen werden, dass die Erhöhung von IL-4 im Vaginalsekret mit einer lokalen Immunsuppression einhergeht. Unter Umständen könnten angegebene Beschwerden in Zusammenhang mit diesem lokalen Immundefizit gestellt werden. Diese Vermutung kann untermauert werden durch die Ergebnisse der Studie von E. Cenci aus dem Jahr 1997, welche ebenfalls besagt, dass eine IL-4 –Erhöhung zu Allergie und Infektion prädisponiert. [11]

Witkin [12] kam in seinen Untersuchungen zu dem Schluss, dass rezidivierende Vaginitiden im Sinne einer Allergie entstehen können und mit einer Erhöhung von IgE einhergehen. Wenn nun berücksichtigt wird, dass der Antikörperklassenwechsel hin zu IgE durch IL-4 mit verursacht wird, kann hier ein Zusammenhang zu vaginalen Beschwerden wie vor allem Brennen und Juckreiz gesehen werden. Auch bei W. Ledger ist zu lesen, dass ein Zusammenhang zwischen vaginalem Brennen – was wiederum dem hier verwendeten Gebrauch des Begriffes Vulvodynie entspricht – und hohen IgE-Spiegeln im Vaginalsekret besteht. [13]. Somit liegt die hohe Prävalenz der Vulvodynie bei gleichzeitig erhöhtem IL-4 im Vaginalsekret nahe.

Von einigen Autoren wird die Vulvodynie im klassisch definierten Sinn als psychisch verursachter oder zumindest mit-verursachter Symptomenkomplex gesehen. [22, 23] Es steht die These im Raum, dass biologische Faktoren wie genetische Prädispositionen, Traumata, Infektionen oder psychophysiologische Prozesse als Auslöser oder aufrechterhaltende

Faktoren beteiligt sein können. Auch psychologische und soziale Aspekte werden für Ursachen des Symptomenkomplexes der Vulvodynie gehalten. Hier wären beispielsweise Persönlichkeitsmerkmale, akuter Stress, belastende Kindheitserlebnisse, aktuelle Konflikte und zwischenmenschliche Belastungen zu nennen. [24]

Diese komplexen Hintergründe mit einzubeziehen war nicht Ziel der vorliegenden Arbeit, könnte jedoch an anderer Stelle durchaus auch von Relevanz für das Vorliegen von Vulvodynie sein.

Als Ursachen für vaginalen Pruritus sind die Atopische Dermatitis, die Allergische Kontaktdermatitis, Psoriasis, Lichen sclerosus, Lichen simplex und die vaginale Candidose zu nennen. [14] Die Hauptursache unter den genannten, *Candida albicans*, wurde bei dem hier untersuchten Patientenkollektiv lediglich dreimal nachgewiesen, eine der drei Patientinnen wurde in die Auswertung der Daten nicht mit eingeschlossen, da sie zum Zeitpunkt der Untersuchung schwanger war, bei den anderen beiden Patientinnen war IL-4 nicht erhöht, eine der beiden gab vaginalen Pruritus an. Es kann somit geschlussfolgert werden, dass in der hier vorliegenden Untersuchung *Candida albicans* nicht als relevante Ursache für den angegebenen Pruritus gesehen werden kann.

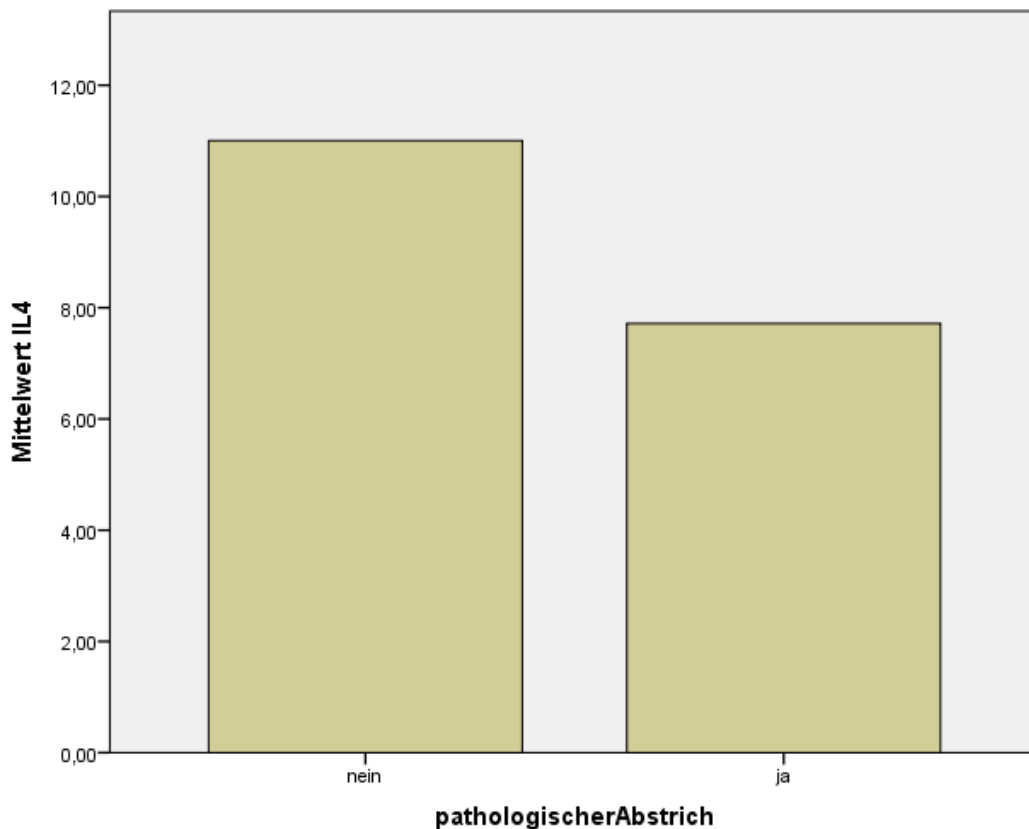
Im Altersbereich von über sechzig Jahren gründet sich der vaginale Juckreiz auf viele verschiedene Ursachen. [15] Da im Rahmen der erhobenen Daten Pruritus zum allergrößten Teil von fertilen Frauen angegeben wurde, werde ich hier nicht im Speziellen auf die geriatrischen Patientinnen eingehen.

Als weitere Überlegung ist anzubringen, dass eine Wechselbeziehung zwischen dem prinzipiellen Vorliegen einer Atopie und IL-4 nachgewiesen ist. [16] Da Atopie und Allergie mit Pruritus einhergehen, ist eine Art atopische Reaktion, die in Zusammenhang mit IL-4 steht und für den Pruritus ursächlich sein könnte, in Erwägung zu ziehen.

Bezüglich pathogener Keime in Vulva und Vagina lässt sich sagen, dass sich die Pathogenität oftmals nicht an der Art der Erreger, sondern an der Quantität seines Auftretens festmachen lässt. Auch bei gesunden Frauen lassen sich durchaus in Konzentrationen von  $10^4$  bis  $10^5$  pro ml fakultativ pathogene Keime finden, durch die nicht zwingend eine Infektion entsteht. Obligat pathogene Keime sind beispielsweise Gonokokken, *Staphylococcus aureus* oder Streptokokken der Gruppe A. Laut Literatur handelt es sich bei den am häufigsten vorkommenden Keimen um *Gardnerella vaginalis*, Mykoplasmen, Streptokokken, *Candida albicans* und Chlamydien. [17, 18]

Bei der hier vorliegenden Auswertung der Kulturen wurde von einer normalen vaginalen Flora ausgegangen, wenn fakultativ pathogene Keime die definitionsgemäß „geringe Konzentration“ (Anzahl von  $10^4$  bis  $10^5$  pro ml) nicht überschritten und keine obligat pathogenen Keime nachgewiesen werden konnten.

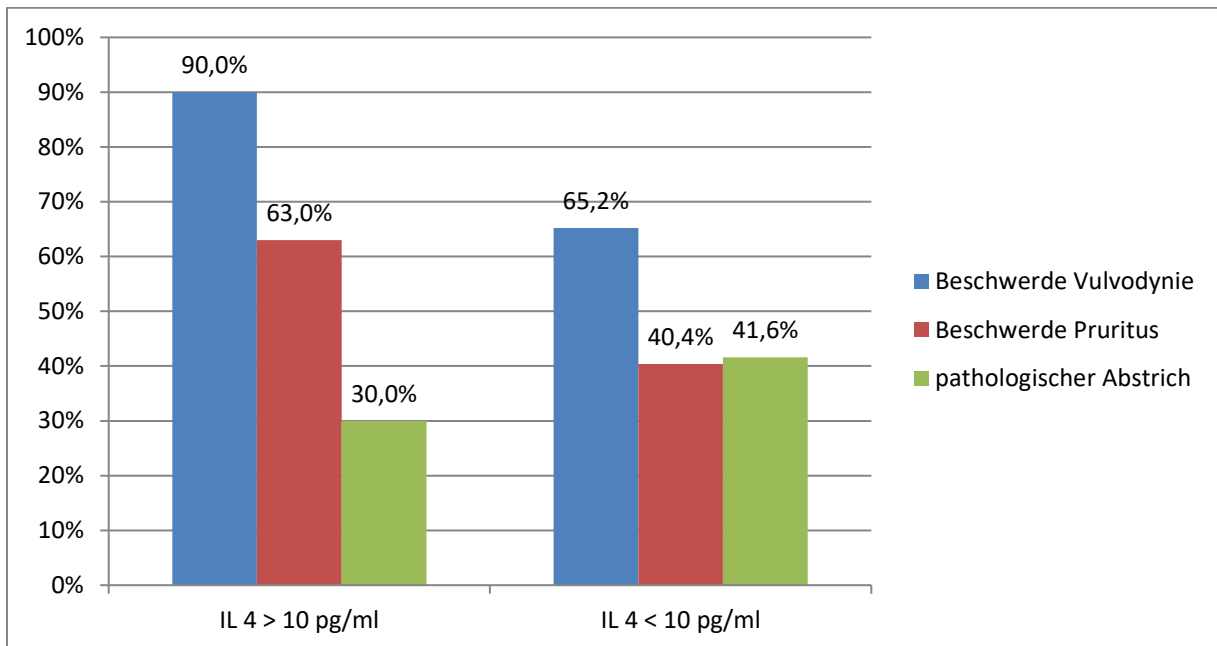
Die Ursache für die geringere Anzahl an pathologischen Abstrichen in der IL-4 positiven Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe könnte sich darauf gründen, dass IL-4 mit einer Aktivierung des Immunsystems einhergeht und auf diesem Wege bereits mehr Erreger beseitigt wurden als bei den Patientinnen ohne aktive Immunreaktion. [19] Denn obgleich es sich bei IL-4 um ein antiinflammatorisches Zytokin handelt, spricht ein erhöhter Spiegel letztendlich dafür, dass eine Immunantwort vorliegt.



**Abbildung 37: Vorliegen pathologischer Abstriche im Zusammenhang mit IL-4 im Vaginalsekret**

Es lässt sich somit schlussfolgern, dass bei den angegebenen Beschwerden eine immunologische Komponente ursächlich beteiligt ist, da in der Gruppe der Patientinnen mit

erhöhtem Interleukin 4 trotz geringerer Anzahl an pathologischen Abstrichen häufiger Beschwerden angegeben wurden als von den Patientinnen, deren IL-4 nicht erhöht war. Der erhöhte IL-4-Wert und die daraus folgende lokale Wirkung könnten somit als prädisponierende Faktoren für Vulvodynie und Pruritus gesehen werden.



**Abbildung 38: Gegenüberstellung von Beschwerden und pathologischen Abstrichen in der Gruppe mit erhöhtem IL-4 gegenüber der Gruppe mit normwertigem IL-4**

## V. ZUSAMMENFASSUNG

Abschließend lässt sich somit sagen, dass das Erheben klinischer gynäkologischer Beschwerden in Zusammenschau mit vaginalem Abstrich und den Interleukinen 4 und 12 im Vaginalsekret folgende Resultate ergeben hat:

Es besteht ein Zusammenhang zwischen Interleukin 4 im Vaginalsekret und dem Auftreten der Beschwerden Vulvodynie (hier definiert als „Schmerzen und Brennen“) sowie zwischen dem Vorliegen von IL-4 und der Beschwerde Pruritus. Bei einem erhöhten Interleukinwert von > 10 pg/ml konnten beide Beschwerden deutlich häufiger nachgewiesen werden als in der Vergleichsgruppe. Die Korrelation zwischen IL-4 und Vulvodynie ist statistisch signifikant auf einem Signifikanzniveau von 0,05.

Erhöhte IL-4 Werte sind demzufolge vermutlich eine der Ursachen für Vulvodynie und Pruritus.

Ob die Höhe des IL-4-Wertes, welcher im Vaginalsekret gefunden wurde, eine Rolle spielt, ließ sich nicht zuverlässig herausfinden, da hierfür ein größeres Patientinnenkollektiv von Nöten gewesen wäre. Allerdings lässt sich eine Tendenz dahingehend erkennen, dass die Beschwerden umso öfter auftreten, je höher der Wert ist.

Da die Prävalenz der Beschwerden Pruritus und Vulvodynie sowohl in der Gruppe mit erhöhten IL-4-Werten als auch in der Vergleichsgruppe bei den fertilen Frauen um ein Vielfaches höher ist als bei den postmenopausalen Patientinnen, lassen sich die Beschwerden wohl kaum als Folge der Postmenopause deuten, sondern müssen sich auf eine andere Ursache gründen.

Pathologische Vaginalabstriche fanden sich bei beschwerdefreien Patientinnen und solchen, die Beschwerden äußerten, in ähnlich hoher Anzahl (62,1% und 61,5%). Unter den vorkommenden Erregern fand sich ein breites Spektrum. Überwiegend lagen fakultativ pathologische Erreger in „massenhafter“ ( $> 10^5$  pro ml) und damit als pathologisch zu wertender Konzentration vor.

Es konnte gezeigt werden, dass sich bei Patientinnen ohne erhöhtes IL-4 deutlich häufiger ein pathologischer Vaginalabstrich fand als bei den Patientinnen mit erhöhten IL-4-Werten. Dies lässt zwei Schlussfolgerungen zu. Zum einen kann der Zusammenhang zwischen hohem IL-4-Wert und einem selteneren Vorliegen pathologischer Abstriche dadurch zu erklären sein, dass durch das Eingreifen des Immunsystems bereits Erreger beseitigt wurden, so dass keine Pathologie im Abstrich gefunden werden kann. Zum anderen lässt sich darauf schließen, dass die Ursache der Beschwerden eher eine andere ist als eine infektiöse, da diese ja andernfalls mittels der kulturellen Erregerdiagnostik nachgewiesen worden wäre. Der Schluss liegt somit nahe, dass die Beschwerden bei der hier im Patientinnenkollektiv häufig vorkommenden Konstellation aus „Vorliegen einer Beschwerde, erhöhtes IL-4, keine Pathologie im Abstrich“ im Zusammenhang mit der IL-4-Erhöhung selbst steht.

Die Beschwerde Fluor konnte, da sie lediglich von zwei Patientinnen angegeben worden war, nicht ausgewertet werden.

Interleukin 12 zeigte sich nur bei einem sehr geringen Anteil der Patientinnen als erhöht und scheint somit in Bezug auf die Fragestellung von keiner großen Relevanz zu sein.

## **VI. ANHANG**

### **6.1 Literaturverzeichnis**

- [1] Reed, Barbara et al., 2012: Prevalence and demographic characteristics of vulvodynia in a population-based sample, in: American Journal of Obstetrics and Gynecology, 206 (2), S. 170.e1–170.e9.
- [2] Nach Symptomen einer Vulvodynie fragen, in: Ärztezeitung 7.12.2011, Springer Verlag, <https://www.aerztezeitung.de/medizin/krankheiten/haut-krankheiten/article/682387/nach-symptomen-vulvodynie-fragen.html>.
- [3] Roth, Petra, Physiotherapeutisches Management bei Dyspareunie und Vulvodynie, Pelvisuisse, Wetzikon / Zürich.
- [4] Prof. Kohl, Michael K., Dr. Mehring, Gudrun, 2012: Schmerzhafter Vulva, Frauenklinik Kantonsspital Baden.
- [5] Prof. Weissenbacher, Ernst-Reiner, et al., 2014: Immunology of the Female Genital Tract. Berlin Heidelberg: Springer Verlag.
- [6] Dr. Walraph, Erwin, Grundwissen der Immunologie, Fachlabor für Immunologie, <http://www.dr-walraph.de/grundwissen.htm>.
- [7] Holländer, Georg Andreas Peter, 2006: Immunologie, Grundlagen für Klinik und Praxis. München: Elsevier.

- [8] Stavnezer, Janet, Guikema, Jeroen, Schrader, Carol, 2008: Mechanism and Regulation of Class Switch Recombination, in: Annual Review of Immunology, 26, S. 261 – 292.
- [9] Holter, W., et al., 1992: Regulation of interleukin-4 production in human mononuclear cells. in: European Journal of Immunology, 22 (10), S. 2765 – 2767.
- [10] Straub, Rainer, 2006: Vernetztes Denken in der biomedizinischen Forschung. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht GmbH und Co. KG.
- [11] Cenci, Elio, et al., 1997: TH<sub>1</sub> and TH<sub>2</sub> cytokines in mice with invasive aspergillosis, in: Infection and Immunity, 65 (2), S. 564 – 570.
- [12] Witkin, Steven, et al., 1988: Recurrent vaginitis as a result of sexual transmission of IgE antibodies, in: American Journal of Obstetrics and Gynecology, 159 (1), S. 32 – 36.
- [13] Ledger, William, Witkin, Steven, 2016: Vulvovaginal Infections. Taylor & Francis Group.
- [14] Lambert, Julien, 2014: Pruritus in Female Patients, in BioMed Research International, 2014, Article ID 541867.
- [15] Kaur, J., Kalys, J., 2017: Study of pruritus vulvae in geriatric age group in tertiary hospital, in: Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases, 38 (1), S. 15 – 21.



- [16] Izuhara, K., 2000: Atopy and the human IL-4 receptor alpha chain, in: Journal of Allergy and Clinical Immunology, 106 (1 Pt 2), S. 65 – 71.
- [17] Weyerstahl, Thomas, Stauber, Manfred, <sup>3</sup>2013: Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- [18] Informationsbroschüre Kinderwunschzentrum Darmstadt,  
<http://www.gynaktuell.de/text.php3?thema=3&artikel=49&seq=1&la=de>.
- [19] Burgmeister, Gerd-Rüdiger, Pezzutto, Antonio, Ulrichs, Timo, <sup>2</sup>2007: Taschenatlas der Immunologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- [20] Segal, B., Klinman, D., Shevach, E., 1997: Microbial products induce autoimmune disease by an IL-12-dependent pathway, in: Journal of Immunology, 158 (11), S. 5087 – 5090.
- [21] Dr. med. Stücker, A., Vulvodynie und Vestibulitis, J. W. Goethe Universität Frankfurt am Main.
- [22] Harth, Wolfgang, Gieler, Uwe, 2006: Psychosomatische Dermatologie. Berlin Heidelberg: Springer Verlag.
- [23] Hausteiner-Wiehle, C., et al., 2013: Umgang mit Patienten mit nicht-spezifischen funktionelle und somatoformen Körperbeschwerden. Stuttgart: Schattauer GmbH.

- [24] Hoefert, Hans-Wolfgang, 2010: Psychologie in der Arztpraxis. Göttingen: Hogrefe Verlag.
- [25] CSL Behring, Geschichte der Immunologie, <http://www.immun-experte.de/web/immun-experte/geschichte-der-immunologie>.
- [26] CSL Behring, Geschichte der Immunologie, <http://www.immun-experte.de/web/immun-experte/immunglobuline>.
- [27] Wikipedia, Artikel „Immunologie“, [https://de.wikipedia.org/wiki/Immunologie#Fr.C3.BCHe\\_Beobachtungen](https://de.wikipedia.org/wiki/Immunologie#Fr.C3.BCHe_Beobachtungen).
- [28] Robert Koch Institut, Artikel „Robert Koch“, [http://www.rki.de/DE/Content/Institut/Geschichte/robert\\_koch\\_node.html](http://www.rki.de/DE/Content/Institut/Geschichte/robert_koch_node.html).
- [29] Hofmann, Friedrich, 2010: Geschichte der Medizin: Louis Pasteur, Joseph Meister und die Tollwutimpfung, in: Deutsches Ärzteblatt, 107 (27), A-1345, B-1189, C-1169.
- [30] Paul Ehrlich Institut, Artikel „Paul Ehrlich“, <http://www.pei.de/DE/institut/paul-ehrlich/lebenslauf-paul-ehrlich/lebenslauf-paul-ehrlich-node.html>.
- [31] Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Artikel „Georges Köhler“, <https://www.uni->

- [32] Peter, H., Pichler, W., Müller-Ladner, U., <sup>3</sup>2012: Klinische Immunologie. München: Elsevier GmbH.
- [33] Amboss miamed, Artikel „Gewebshormone“.
- [34] ImmunDefektCentrum (sic) der Charité, Artikel „Zytokine und Interferone“, <http://www.immundefekt.de/zytokine.shtml>.
- [35] Walensi, Dr. med. Mikolaj, Interleukin-4, in: DocCheck Flexikon, <http://flexikon.doccheck.com/de/Interleukin-4>.
- [36] National Center for Biotechnology Information, Artikel „IL-4“, [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3565?report=full\\_report](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3565?report=full_report).
- [37] Choi, P., Reiser, H., 1988: IL-4: role in disease and regulation of production, in: Clinical and Experimental Immunology, 113 (3), S. 317 – 319.
- [38] Herschey, G, et al., 1997: The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor, in: New England Journal of Medicine, 337 (24), S. 1720 – 1725.
- [39] Carr, C., et al., 1991: Disulfide assignments in recombinant mouse and human interleukin 4, in: Biochemistry, 30 (6), S. 1515 – 1523.

- [40] Walter, M., et al., 1992: Crystal structure of recombinant human interleukin-4, in: The journal of Biological Chemistry, 267 (28), S. 20371 – 20376.
- [41] Gadani, Sachin, et al., 2012: Interleukin-4: A Cytokine to Remember, in: The Journal of Immunology, 189 (9), S. 4213 – 4219.
- [42] Guenova, E., et al., 2015: IL-4 abrogates TH<sub>17</sub> cell-mediated inflammation by selective silencing of IL-23 in antigen-presenting cells, in: Proceedings of the National Academy of Sciences, 112 (7), S. 2163 – 2168.
- [43] Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie, Artikel “TH<sub>17</sub>-Zellen”,  
<http://dgrh.de/818.html>.
- [44] Römer, Gunnar, Interleukin 12, in: DocCheck Flexikon,  
<http://flexikon.doccheck.com/de/Interleukin-12>
- [45] Wikipedia, Artikel „Interleukin12“, [https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin\\_12](https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin_12)
- [46] Kalinski, P., et al., 1997: IL-12-deficient dendritic cells, generated in the presence of prostaglandin E<sub>2</sub>, promote type 2 cytokine production in maturing human naive T helper cells, in: The Journal of Immunology, 159 (1), S. 28 – 35.

- [47] Wang, Kathy, Frank, David, Ritz, Jerome, 2000: Interleukin-2 enhances the response of natural killer cells to interleukin-12 through up-regulation of the interleukin-12 receptor and STAT4, 95, S. 3183 – 3190.
- [48] Temblay, Jeffrey, et al., 2007, Production of IL-12 by Peyer patch–dendritic cells is critical for the resistance to food allergy, in: The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 120 (3), S. 659 – 665.
- [49] Trinchieri, Giorgio, 2003: Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity, in: Nature, 3, S. 133 – 146.
- [50] Hill, J., et al., 2005: Characterization of vaginal microflora of healthy, nonpregnant women by chaperonin-60 sequence-based methods, in: American Journal of Obstetrics & Gynecology, 193 (3), S. 682 – 692.
- [51] Breckwoldt, Meinert, Kaufmann, Manfred, Pfleiderer, Albrecht, <sup>5</sup>2008: Gynäkologie und Geburtshilfe. Stuttgart: Thieme Verlag.
- [52] Mylonas, Ioannis, 2016: Sexuell übertragbare Erkrankungen: Ein Leitfaden für Frauenärzte. Berlin Heidelberg: Springer Verlag.
- [53] Petersen, Eiko, <sup>5</sup>2011: Infektionen in Gynäkologie und Geburtshilfe: Lehrbuch und Atlas. Stuttgart: Thieme Verlag.
- [54] Fessler, Beate, 2009: Orales Probiotikum für eine gesunde Vaginalflora, in:

Deutsche Apothekerzeitung (34).

- [55] Suske-Zirpel, Petra, 2010: Femibion Flor Intim, in: Pharmazeutische Zeitung online, 48.
- [56] Kohl, Michael, 2012: Vulvodynie, Vestibulitis, in: Frauenheilkunde aktuell, 1/12.
- [57] Moyal-Baracco, M, Lynch, P, 2004: Terminology and classification of vulvodynia: a historical perspective, in: The Journal of Reproductive Medicine, 49 (10), S. 772 – 777.
- [58] Sadovnik, L, 2000: in: The Journal of Reproductive Medicine, 45, S. 679.
- [59] Ponte; Maya, et al., 2009: Effects of Vulvodynia on quality of life, in: Journal of the American Academy of Dermatology, 60 (1), S. 70 – 76.
- [60] Yoon, H., Chung, W. Shim, B.: 2007, Botulinum Toxin A for the management of vulvodynia, in: International Journal of Impotence Research, 19 (1), S. 84 – 87.
- [61] Petersen, Eiko, 2013: Diagnostik und Therapie bei Beschwerden im äußeren Genitalbereich, in: Universimed, 9/13.

## **6.2 Danksagung**

Mein Dank gilt meinem Doktorvater Univ. Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Prof. h.c. Dr. h.c. E. R. Weissenbacher.

### **6.3 Eidesstattliche Erklärung**

Ich, Marina Derondeau, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel „Zusammenhang zwischen gynäkologischen Beschwerden, Interleukin 4 und Interleukin 12 im Vaginalsekret und Erregern im Vaginalabstrich“ selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel genutzt habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet.

Ich versichere außerdem, dass ich die beigefügte Dissertation nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe und dass diesem Promotionsverfahren keine endgültig gescheiterten Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

München, 30.3.2022, Marina Derondeau