

AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR FRAUENHEILKUNDE UND GEBURTSHILFE  
PROF. DR. BIRGIT SEELBACH-GÖBEL  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Nichtinvasive Zytokinbestimmung aus Fruchtwasser  
nach frühem vorzeitigem Blasensprung –  
Korrelation von Zytokinwerten und fetalen Parametern**

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Nadine Hock

2021



AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR FRAUENHEILKUNDE UND GEBURTSHILFE  
PROF. DR. BIRGIT SEELBACH-GÖBEL  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Nichtinvasive Zytokinbestimmung aus Fruchtwasser  
nach frühem vorzeitigem Blasensprung –  
Korrelation von Zytokinwerten und fetalen Parametern**

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Nadine Hock

2021

Dekan:	Prof. Dr. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Birgit Seelbach-Göbel
2. Berichterstatter:	PD Dr. Ludwig Deml
Tag der mündlichen Prüfung:	22.07.2021

**Inhaltsverzeichnis**

Abkürzungsverzeichnis.....	IV
1 Einleitung .....	1
1.1 Frühgeburtlichkeit.....	1
1.1.1 Definition und Epidemiologie .....	1
1.1.2 Ätiologie und Pathogenese .....	2
1.1.3 Folgen für das Frühgeborene .....	4
1.2 Früher vorzeitiger Blasensprung .....	5
1.2.1 Definition und Epidemiologie .....	5
1.2.2 Ätiologie und Pathogenese .....	5
1.2.3 Vorgehen beim frühen vorzeitigen Blasensprung .....	6
1.2.3.1 Infektionsüberwachung.....	7
1.2.3.2 Antibiotikatherapie .....	8
1.2.3.3 RDS-Prophylaxe und Tokolyse .....	9
2 Fragestellung .....	10
3 Material und Methoden .....	11
3.1 Studiendesign.....	11
3.2 Studienpopulation.....	11
3.3 Das Expectant Management .....	12
3.4 Gewinnung des Probenmaterials .....	13
3.5 Analyse des Fruchtwassers.....	14
3.5.1 Zytokinbestimmung mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay.....	14
3.5.2 IL-6-Bestimmung mittels Lateral Flow Immunoassay .....	15
3.6 Statistische Auswertung .....	16
3.7 Geräte und Utensilien.....	17
3.8 Materialien .....	18
4 Ergebnisse .....	19

4.1	Analyse der Zytokine aus nichtinvasiv gewonnenem Fruchtwasser .....	19
4.1.1	Verlauf von IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$ .....	19
4.1.2	Vergleich der beiden Messmethoden ELISA und Point-of-Care-Test .....	22
4.2	Untersuchung des Schwangerenkollektivs .....	24
4.2.1	Allgemeine Beschreibung der maternalen Parameter .....	24
4.2.2	Die Zytokine im Zusammenhang mit dem Schwangerschaftsalter bei PPRM, bei Geburt und der Dauer des Blasensprungs .....	27
4.3	Untersuchung des Neugeborenenkollektivs .....	30
4.3.1	Allgemeine Beschreibung der fetalen Parameter.....	30
4.3.2	IL-6 im Zusammenhang mit dem Apgar-Score .....	32
4.3.3	IL-6 im Zusammenhang mit dem Geburtsgewicht .....	34
4.3.4	Analyse des IL-6 aus Fruchtwasser und Nabelschnurblut .....	34
4.3.5	Fetales Inflammationssyndrom in Korrelation zum Amnioninfektionssyndrom.	35
4.3.6	Verhalten der Entzündungswerte bezüglich neonataler Krankheitsbilder.....	37
4.3.6.1	Analyse der Entzündungsparameter bezüglich des RDS .....	37
4.3.6.2	Analyse der Entzündungsparameter bezüglich einer Sepsis.....	39
4.3.6.3	Korrelation der Entzündungsparameter IL-6 und CRP .....	44
4.3.7	Interleukinwerte und Nachweis pathogener Keime .....	44
5	Diskussion.....	47
5.1	Analyse der Interleukinwerte aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser.....	47
5.1.1	Analyse des Interleukin-6 .....	47
5.1.2	Analyse des Interleukin-8 .....	50
5.1.3	Analyse des Tumornekrosefaktor- $\alpha$ .....	51
5.2	Vergleich der IL-6 Konzentrationen mittels ELISA und Point-of-Care-Test .	53
5.3	Untersuchung des Neugeborenenkollektivs .....	55
5.3.1	Analyse der allgemeinen fetalen Parameter .....	55
5.3.2	Analyse der Interleukinwerte aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser und dem Nabelschnurblut .....	60

5.3.3	Verhalten der Interleukinwerte bei neonataler Morbidität.....	61
5.3.4	Die Interleukinwerte bei fetalem Inflammationssyndrom.....	63
5.3.5	Die Interleukinwerte bei Atemnotsyndrom .....	64
5.3.6	Die Interleukinwerte bei septischem Geschehen .....	66
5.4	Limitationen und Stärken der Studie.....	71
6	Zusammenfassung.....	73
	Abbildungsverzeichnis .....	75
	Tabellenverzeichnis .....	77
	Literaturverzeichnis .....	78
	Danksagung .....	89
	Erklärung .....	90

**Abkürzungsverzeichnis**

AIS	Amnioninfektionssyndrom
BPD	bronchopulmonale Dysplasie
BSA	bovine serum albumin
CRH	Corticotropin-releasing hormone
CRP	C-reaktives Protein
CTG	Kardiotokographie
dtb	day to birth
E. coli	Escherichia coli
E. faecalis	Enterococcus faecalis
ELBW	Extremely Low Birth Weight
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EOS	early-onset Sepsis
FIRS	fetal inflammatory response syndrome
FW	Fruchtwasser
GBS	hämolisierende Streptokokken der Gruppe B
hIL-6	human Interleukin-6
HPA	Hypothalamic-pituitary-adrenal-axis
HRP	Meerrettichperoxidase
ICSI	intracytoplasmatische Spermieninjektion
IL	Interleukin
IVH	intraventrikuläre Hämorrhagie
LBW	Low Birth Weight
LOS	late-onset Sepsis
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
MW	Mittelwert
n.a.	nicht angegeben
NB	Nabelschnurblut
NEC	nekrotisierende Enterokolitis
NG	Neugeborene
opB	ohne pathologischen Befund
PDA	persistierender Ductus arteriosus
PBS	phosphate buffered saline

POCT	Point-of-Care-Test
PPROM	preterm premature rupture of membranes
PVL	periventriculäre Leukomalazie
RDS	respiratory distress syndrome
ROP	Retinopathia praematurorum
spp.	Spezies
SSA	Schwangerschaftsalter
SSW	Schwangerschaftswoche
Staph.	Staphylococcus
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor-alpha
V.a.	Verdacht auf
VLBW	Very Low Birth Weight
WHO	World Health Organization

# 1 Einleitung

## 1.1 Frühgeburtlichkeit

### 1.1.1 Definition und Epidemiologie

Laut der World Health Organization (WHO) wird eins von zehn Neugeborenen zu früh geboren. Global gesehen sind dies circa 15 Millionen Kinder pro Jahr, die Tendenz ist steigend [1]. In Deutschland wird seit 1980 eine zunehmende Frühgeburtenrate verzeichnet, die sich seit 2010 mit etwas über 9 % relativ konstant hält [2,3]. Gründe für die ansteigende Zahl sind unter anderem das höhere Alter der Erstgebärenden sowie die Anzahl der Mütter, die sich Fertilitätsbehandlungen unterziehen. Dies begünstigt die Zunahme von Mehrlingsschwangerschaften, die eher zu Frühgeburten führen. Außerdem werden ein schlechter Gesundheitszustand der Schwangeren sowie die bessere intensivmedizinische Betreuung, die die Überlebenschancen von sehr frühen Frühgeborenen steigen lässt, und iatrogen induzierte Entbindungen für die steigende Rate verantwortlich gemacht [4,5].

Eine Geburt vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche (SSW) wird als Frühgeburt bezeichnet [6]. Entsprechend der SSW kann die Einteilung in extrem frühe Frühgeborene ( $\leq 28+0$  SSW), in sehr frühe Frühgeborene ( $28+1$  SSW bis  $31+6$  SSW) und in moderate ( $32+0$  SSW bis  $36+6$  SSW) bzw. späte Frühgeborene ( $\geq 34+0$  SSW) erfolgen [6–8]. Parallel dazu ist die Klassifikation anhand des Geburtsgewichts üblich. Ein niedriges Geburtsgewicht (*Low Birth Weight*, LBW) ist als ein Gewicht unter 2500 g definiert, ein sehr niedriges Geburtsgewicht (*Very Low Birth Weight*, VLBW) als eines unter 1500 g und ein Geburtsgewicht von unter 1000 g wird als extrem niedriges Geburtsgewicht bezeichnet (*Extremely Low Birth Weight*, ELBW) [7,9].

Komplikationen, die sich aus der Frühgeburtlichkeit ergeben, sind weltweit mit 27 % die Haupttodesursachen von Kindern unter fünf Jahren [5,10]. In Deutschland sind circa 75 % der perinatal verstorbenen Kinder Frühgeborene, zwei Drittel davon betreffen diejenigen mit einem VLBW [11,12]. Zusätzlich sind mehr als die Hälfte der Langzeitfolgen, die ihre Ursache perinatal haben, auf die Frühgeburtlichkeit zurückzuführen [5].

### 1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Entstehung einer Frühgeburt scheint ein komplexes Zusammenspiel aus Pathophysiologie, Genetik und Umwelteinflüssen zu sein [13]. Es wird zwischen der spontanen und der iatrogen herbeigeführten Frühgeburt differenziert [14]. Aufgrund des medizinischen Wissenszuwachses und der verbesserten neonatologischen Betreuung ist vor allem der Anteil an ärztlich indizierten Frühgeburten gestiegen. Dadurch müssen auch vermehrt frühgeburtsassoziierte Risiken in Kauf genommen werden [5]. Eine vorzeitige Entbindung kann aufgrund maternaler oder fetaler Komplikationen wie der Präeklampsie oder intrauteriner Wachstumsrestriktion indiziert sein oder spontan ablaufen. Mit ca. 70 % erfolgt die Mehrheit der Frühgeburten spontan. Diese ereignen sich entweder aufgrund eines frühen vorzeitigen Blasensprungs oder aufgrund vorzeitiger Wehen, denen kein Blasensprung vorausgeht [5,15,16].

Die Entstehung einer Frühgeburt ist multifaktoriell bedingt und nur teilweise durch diverse Pathophysiologien zu erklären. Laut einer Studie von Roberto et al. laufen bei der Frühgeburt dieselben Prozesse ab wie bei einer termingerechten Geburt mit dem einzigen Unterschied des Schwangerschaftsalters (SSA) [17]. Andere Autoren beschreiben eine Unklarheit darüber, ob eine Frühgeburt den physiologischen Entwicklungen der reifen Geburt ähnelt oder pathologische Gründe eine Rolle spielen [13]. Ursachen sind laut Schneider et al. neben Mehrlingsschwangerschaften aufsteigende urogenitale Infektionen, Störungen der Plazentation oder die vorzeitige Plazentalösung. Weiterhin können fetale Fehlbildungen oder zervikale Veränderungen bei der Schwangeren wie die Zervixinsuffizienz eine Frühgeburt auslösen [18]. Lockwood et al. skizzieren vier Mechanismen, die den meisten Frühgeburten zugrunde liegen und in nachfolgender Abbildung dargestellt sind: die Aktivierung der mütterlichen bzw. fetalen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (*hypothalamic-pituitary-adrenal-axis*, HPA), deziduale Blutungen, pathologische Uterusdehnungen und, wie bereits erwähnt, ascendierende genitale und systemische Infektionen [13,15,19]. Diese Prozesse führen letztendlich zur Degeneration der extrazellulären Matrix von Zervix und fetalen Membranen und zur Aktivierung des Myometriums. Folgen davon sind die Dehnung des Muttermundes, der Blasensprung und das Einsetzen von Wehen [15]. So ist die Frühgeburt das Resultat vieler

komplexer heterogener Mechanismen [14], die zur Reifung der Zervix, zum vorzeitigen Blasensprung und zur Wehentätigkeit führen [15,19].

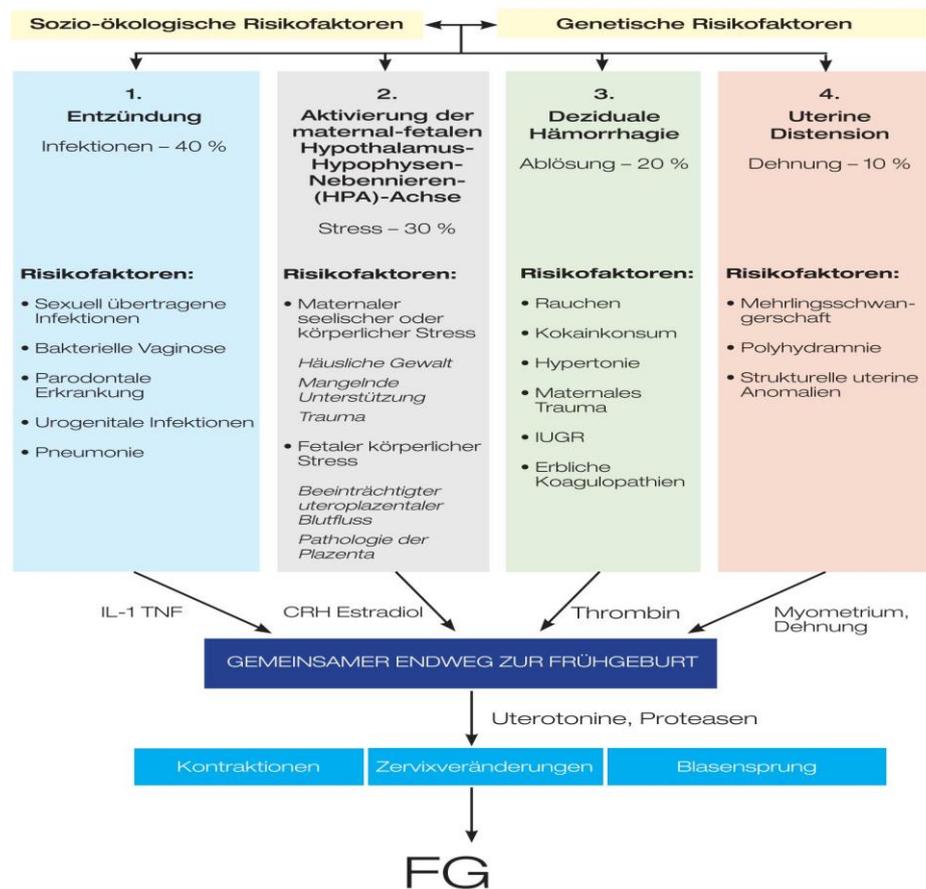


Abbildung 1: Grundmechanismen der Frühgeburt [13]

40 % der Frühgeburten werden mit aufsteigenden urogenitalen oder systemischen Infektionen in Verbindung gebracht. Dabei können die Erreger Uterus und Fruchtwasser befallen und das ungeborene Baby entweder über Vagina und Zervix erreichen oder von der maternalen Blutbahn über die Plazenta auf den Fetus übergehen. Außerdem können Erreger die Fruchthöhle durch Verletzungen bei invasiven Eingriffen oder über die Eileiter erreichen [16]. In einem Drittel der Fälle, in denen das Fruchtwasser von Bakterien befallen ist, können beim Feten positive Blutkulturen nachgewiesen werden [16]. Goldenberg et al. konnten eine Besiedelung mit genitalen Mycoplasmen Spezies (spp.) im Nabelschnurblut von Frühgeborenen kleiner der 32. SSW detektieren [20]. Ein Befall der Amnionhöhle führt häufig zu einer intraamniotischen Entzündung sowie zu einer fetalen Entzündungsantwort, dem fetalen Inflammationssyndrom (*fetal inflammatory response syndrome, FIRS*), welches durch erhöhte IL-6 Werte gekennzeichnet ist [21]. Diese Entzündungsreaktionen

können neben einer vorzeitigen Entbindung neonatale Morbidität wie die Sepsis, Hirn- oder Lungenschädigungen sowie Langzeitschäden für das Kind bedeuten [16,22]. Subklinische fetale Infektionen während der Schwangerschaft sind laut den Autoren häufiger als bisher angenommen und sollten aufgrund ihrer großen unmittelbaren sowie langfristigen Gefahr für die Kinder möglichst detektiert werden [16]. Auch ohne einen mikrobiologischen Nachweis kann in der Schwangerschaft eine sogenannte sterile Entzündungsreaktion ausgelöst werden. Die Folge ist eine gesteigerte Synthese von Entzündungsmediatoren und der proinflammatorischen Zytokine Interleukin (IL)-1 und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) sowie IL-6 und IL-8. Resultat ist eine Entzündungsantwort mit frühem vorzeitigem Blasensprung und Frühgeburt [11,13,15,16,23–26].

Es werden weitere Einflussfaktoren beschrieben, deren genauer Wirkmechanismus unbekannt ist. So ergibt sich für Frauen, die selbst zu früh auf die Welt gekommen sind oder bereits Frühchen geboren haben, ein erhöhtes Risiko [27,28]. Bezüglich der Geschlechterverteilung scheinen mehr männliche als weibliche Kinder als Frühchen zur Welt zu kommen [29]. Zu den demographischen Merkmalen, die mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit einer vorzeitigen Entbindung einhergehen, zählen Frauen mit niedrigem sozioökonomischen Status, niedrigem Bildungsstand und Unverheiratete [13,16,30]. Außerdem zählen mütterliches Untergewicht [31], eine geringe Gewichtszunahme während der Schwangerschaft [32], ein Alter der Gebärenden unter 20 oder über 35 Jahren [27,33,34], die Erkrankung mit einem Gestationsdiabetes mellitus [35], Rauchen und Stress zu den bekannten Risikofaktoren [13,16,27,28,36]. Bei Frauen mit Übergewicht kommt es signifikant häufiger zu iatrogenen Frühgeburten, ein erhöhtes Risiko für spontane Frühgeburten konnte in einer Metanalyse von McDonald et al. nicht nachgewiesen werden [37].

### **1.1.3 Folgen für das Frühgeborene**

Für die Frühgeborenen bedeutet eine nicht zeitgerechte Geburt Komplikationen - sowohl für die Zeit direkt nach der Geburt als auch langfristig. Bei Auftreten einer Chorioamnionitis wurden signifikant häufiger intrakranielle Blutungen, ein Atemnotsyndrom (*respiratory distress syndrome*, RDS) und ein niedriger 5-Minuten Apgar-Score verzeichnet [38]. Die intraventrikuläre Hämorrhagie (*intraventricular hemorrhage*, IVH), die periventrikuläre Leukomalazie (PVL), die nekrotisierende Enterokolitis (NEC), ein persistierender Ductus arteriosus (PDA), Infektionen,

Störungen im Stoffwechsel sowie Ernährungs- und Gedeihstörungen sind ebenfalls frühgeburtsassoziiert. Störungen des Nerven- und muskuloskelettalen Systems, sensorische Mangelercheinungen, schulische und Verhaltensauffälligkeiten sind Erscheinungsbilder, die langfristig berücksichtigt werden müssen [13,39,40].

## **1.2 Früher vorzeitiger Blasensprung**

### **1.2.1 Definition und Epidemiologie**

Bei einer termingerechten Geburt setzen die Wehen zwischen der 38. und 42. SSW ein, ohne dass es zuvor zur Ruptur der fetalen Membranen gekommen ist. Erfolgt der Blasensprung vor dem Einsetzen der regelmäßigen Wehen, spricht man unabhängig vom Gestationsalter von einem vorzeitigem Blasensprung. Ereignet sich dieser vor der 37. SSW, ist die Definition eines frühen vorzeitigen Blasensprungs (*preterm premature rupture of membranes*, PPRM) erfüllt [41,42]. Dieser tritt in ca. 2-5 % aller Schwangerschaften auf und ist mit einem Drittel der Frühgeburten assoziiert. Circa ein Viertel der neonatalen Todesfälle ereignet sich aufgrund eines frühen vorzeitigen Blasensprungs [43,44]. Als Hauptursachen des vorzeitigen Blasensprungs gelten aufsteigende urogenitale Infektionen [43,45–47]. Erfolgt der vorzeitige Blasensprung nahe des Geburtstermins, beträgt die Dauer bis zum Einsetzen der Wehentätigkeit etwa 24-72 Stunden, bei einem PPRM ist diese deutlich länger und sinkt mit zunehmendem Schwangerschaftsalter [42].

### **1.2.2 Ätiologie und Pathogenese**

Durch einen frühen vorzeitigen Blasensprung wird eine drohende vorzeitige Entbindung symptomatisch [44]. Im Kapitel der Ätiologie und Pathogenese der Frühgeburt wurden bereits die vier Mechanismen von Lockwood et al. skizziert, die dem Großteil der Frühgeburten zugrunde liegen. Diese sind die frühe Aktivierung der maternalen-fetalen HPA, deziduale Blutungen, pathologische Uterusdehnungen und aufsteigende urogenitale Infektionen. Durch die daraufhin aktivierten zellulären und hormonellen Prozesse sowie stressbedingt kommt es zur Dilatation der Zervix und infolge des Blasensprungs und der Wehentätigkeit zur Frühgeburt [15,19]. Daher gelten die beschriebenen multifaktoriellen Risikofaktoren sowohl für die Frühgeburt als auch für den vorzeitigen Blasensprung.

Das Amnioninfektionssyndrom (AIS), bei dem die Eihäute, die Dezidua, das Fruchtwasser sowie der Fet betroffen sein können, ist mit 20 % der PPRM assoziiert

und stellt sowohl für die Mutter als auch für das Kind eine Gefährdung dar [47,48]. Die Erreger ascendierender urogenitaler Infektionen können über die Stimulation der IL-1- und TNF- $\alpha$ -Produktion sowie die Synthese von Matrix-Metalloproteinasen (MMP) und Prostaglandinen die Wehentätigkeit initiieren [42]. Damit gehen eine Steigerung des intraamniotischen Drucks und das Entstehen von Scherkräften einher. Eine mechanische Uterusdehnung durch Druckerhöhung ergibt sich darüber hinaus aufgrund eines Polyhydramnions oder bei Mehrlingsschwangerschaften. Es kommt zu einer gesteigerten IL-8-, Prostaglandin E<sub>2</sub>- und MMP-Synthese mit anschließender Reizung der Gebärmutter, verminderter Kollagensynthese und gesteigerter Kollagenaseaktivität und damit zu einem vorzeitigen Blasensprung [42]. Ebenso führen Bakterien, die den Feten direkt infizieren, über Endo- und Exotoxine zum Auslösen einer maternalen Entzündungsantwort mit der Folge des vorzeitigen Blasensprungs [43,44].

### **1.2.3 Vorgehen beim frühen vorzeitigen Blasensprung**

Bei der Behandlung der Schwangeren mit einem frühen vorzeitigen Blasensprung steht die Risikoreduktion einer intrauterinen Infektion im Vordergrund. Es gilt, die Schwangeren in Bezug auf das Einsetzen der Wehen sowie intrauterine Entzündungszeichen zu beobachten und die Herzaktivität des Ungeborenen zu überprüfen. Gegebenenfalls muss die Geburt eingeleitet werden [42]. Wichtig sind ein differenziertes Abwägen von Vor- und Nachteilen des Zuwartens, die Einschätzung von Infektparametern, das Feststellen der Fruchtwassermenge, die Beurteilung der fetalen Versorgung sowie die Betreuung in einem Perinatalzentrum [43]. Zu den Vorteilen des konservativen Vorgehens und der Prolongation der Schwangerschaft zählt die Reduktion der neonatalen Morbidität. Diese ist aufgrund der fetalen Unreife in einem früheren Gestationsalter erhöht. Zu den Gefahren des konservativen Vorgehens zählen Nabelschnurvorfall, Plazentalösung, perinatale Infektionen und im schlimmsten Fall der Tod des Feten. Bei diesen Bedrohungen ist eine rasche Entbindung unter Antibiotikagabe indiziert. [49].

Die Berücksichtigung des Gestationsalters zum Zeitpunkt des frühen vorzeitigen Blasensprungs ist obligat. Ein Blasensprung vor der 20. SSW geht mit einer sehr schlechten Prognose für den Feten einher. Zwischen der 20. SSW und der 23. SSW ist die Lebensfähigkeit des Feten als kritisch einzuschätzen, in nur etwa 30 % der Fälle überleben die Neugeborenen. Ab der 24. SSW besteht für den Feten zu ca. 70 % eine

gute Überlebenschance, die mit jedem weiteren Tag im Bauch der Mutter um etwa 2-3 % steigt. Daher wird bis zur 34. SSW und gegebenenfalls darüber hinaus bei Ausschluss von maternalen und fetalen Infektionen, einem entsprechenden Fruchtwasserdepot, nach einer Lungenreifebehandlung und ggf. einer antibiotischen Therapie ein konservatives Vorgehen mit Einhalten von strikter Bettruhe der aktiven Geburtseinleitung vorgezogen. Droht ein Amnioninfektionssyndrom muss die Geburt unter Antibiotikatherapie eingeleitet werden. Für einen frühen vorzeitigen Blasensprung nach vollendeter 34. SSW gibt es bezüglich des maternalen und fetalen Infektions- und Outcome-Risikos keine einheitliche Empfehlung für das weitere Vorgehen [22,43,50,51].

Die Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften geben für das allgemeine Vorgehen neben der Bettruhe eine regelmäßige Kontrolle der maternalen Vitalparameter, Messungen des C-reaktiven Proteins (CRP), die sonographische Beurteilung der Fruchtwassermenge und die Kardiotokographie (CTG) des Feten vor. Auf eine digitale vaginale Untersuchung sollte ebenso wie auf einen transvaginalen Ultraschall verzichtet werden, da dadurch die Dauer bis zur Geburt verringert werden kann [49,50]. Zu einem konservativen, abwartenden Vorgehen, dem sogenannten Expectant Management, gehören zusätzlich eine Infektionsüberwachung, eine Antibiotikatherapie, die RDS-Prophylaxe und die Tokolyse.

### **1.2.3.1 Infektionsüberwachung**

Eine Infektionsüberwachung ist bei einem PPRM unabdingbar. Besteht ein Amnioninfektionssyndrom, gefährdet dies die Gesundheit von Mutter und Kind und das Risiko für eine Neugeborenen-Sepsis steigt auf ca. 10 %. In diesem Fall muss das Zuwarten der aktiven Geburtseinleitung weichen. Merkmale der Chorioamnionitis sind folgende [47]:

- Temperaturerhöhung der Mutter  $>38,0$  °C
- mütterliche oder fetale Tachykardie
- druckdolenter Uterus
- Zunahme der Wehentätigkeit
- übelriechendes, trübes Fruchtwasser

- Leukozytose (>20.000 / $\mu$ l)
- Erhöhung des CRP-Wertes

Diese Merkmale zeigen sich häufig allerdings erst bei Manifestation der Infektion, wenn das Morbiditätsrisiko bereits deutlich erhöht ist. Zur Beurteilung eines AIS eignet sich mit einer Sensitivität von 80,9 % und einer Spezifität von 75,0 % die Analyse des IL-6 aus dem Fruchtwasser. Positives Bakterienwachstum lässt sich nur in knapp 40,0 % der Fälle nachweisen. Je früher der Blasensprung erfolgt, desto mehr Kulturen zeigen ein positives Wachstum. Viele Stämme zeigen allerdings keine kulturelle Vermehrung, weswegen die tatsächliche bakterielle Besiedelung höher zu sein scheint. In jedem Fall sollten die CRP-Werte und die Leukozytenzahl im Blut der Mutter überwacht werden, da deren Anstieg hinweisend sein kann. Ebenso ist das CTG des Feten zum Einschätzen des fetalen Zustands in der Infektionsüberwachung von großer Bedeutung [43].

### **1.2.3.2 Antibiotikatherapie**

Leitliniengetreu wird bei einem frühen vorzeitigen Blasensprung ein Abstrich aus Zervix und/oder Vagina entnommen und sowohl nativ als auch mikrobiologisch auf Bakterien untersucht. Noch vor dem endgültigen Keimnachweis erhält die Mutter im Rahmen des Expectant Managements eine kalkulierte Antibiose. Dadurch wird dem Aufsteigen der Erreger von der Vagina in den Uterus entgegengewirkt [49]. Bei Keimnachweis erfolgt entsprechend die Anpassung des Antibiotikums [47]. Ein positiver Einfluss der antibiotischen Therapie auf das neonatale Atemnotsyndrom scheint laut Egarter et al. beschränkt und das Auftreten einer nekrotisierenden Enterokolitis nicht beeinflussbar [43]. Simhan und Canavan beschreiben dagegen eine Verminderung fetaler und neonataler Todesfälle und eine Verbesserung der neonatalen Morbidität, einschließlich einer Reduktion des RDS, der Sepsis, der IVH und der NEC durch die Antibiotikagabe von Ampicillin und Erythromycin [49]. In einem Cochrane Review von 2013 zur prophylaktischen Antibiotikatherapie beim PPRM aus randomisierten Placebo-kontrollierten Studien geht hervor, dass durch die vorbeugende Therapie die Latenzzeit vom Zeitpunkt des Blasensprungs bis zur Geburt verlängert und das Vorhandensein einer Chorioamnionitis signifikant gesenkt werden können. Weiterhin resultieren aus der Antibiotikagabe eine Reduktion des fetalen Infektionsrisikos sowie der neonatalen Kurzzeitmorbidität, der postnatalen Surfactantgabe und des Sauerstoffbedarfs. Allerdings sollte basierend auf dem

Cochrane Review auf die Gabe von Co-Amoxiclav verzichtet werden, da unter dieser Medikation das Risiko einer NEC steigt [22,52,53].

### **1.2.3.3 RDS-Prophylaxe und Tokolyse**

Glucocorticoide werden bei einem frühen vorzeitigen Blasensprung sowohl zur Induktion der strukturellen fetalen Lungenreife als auch zur Produktion des Surfactantfaktors eingesetzt. Einmalig werden zwischen der 24. SSW und der vollendeten 34. SSW Glucocorticoide verabreicht [50]. Mittel der Wahl ist Betamethason (Celestan®). Studien zufolge konnte daraufhin das Risiko der fetalen Sterblichkeit, des RDS, der NEC und der IVH ohne Zunahme von fetalen oder maternalen Infektionen reduziert werden [49,50,54,55].

Um die Wehentätigkeit hinauszuzögern, wird bei einem PPROM zwischen 24+0 SSW und 34+0 SSW und bei Ausschluss eines AIS die intravenöse Tokolyse für 48 Stunden empfohlen. In Studien zur Gabe von  $\beta_2$ -Sympathomimetika zur Wehenhemmung konnte allerdings weder die Frühgeburtenrate vermindert noch eine signifikante Schwangerschaftsprolongation herbeigeführt werden. Daher wird die Tokolyse nicht primär zur Reduktion der neonatalen Morbidität bzw. Mortalität eingesetzt. In diesen 48 Stunden soll durch die oben erwähnte Glucocorticoidgabe die fetale Lungenreifung induziert und das Risiko eines RDS gesenkt werden. Weiterhin kann die Patientin in diesem Zeitraum in ein Perinatalzentrum gebracht werden [43,47,49].

## 2 Fragestellung

Schwerpunktmäßig wurde in dieser Arbeit ein möglicher Zusammenhang zwischen den Zytokinen IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  aus nichtinvasiv gewonnenem Fruchtwasser nach PPRM mit definierten fetalen Parametern und dem neonatalen Outcome untersucht.

Zur Analyse des IL-6 wurden ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) und ein Point-of-Care-Test herangezogen. Deren Ergebnisse wurden hinsichtlich einer vergleichbaren Anwendung im klinischen Alltag bewertet. IL-8 und TNF- $\alpha$  wurden mittels ELISA untersucht.

Da für das Neugeborenen-Outcome ebenso der Schwangerschaftsverlauf relevant ist, wurden die Zytokine zunächst im Hinblick auf das Schwangerschaftsalter bei PPRM, bei Geburt sowie auf die Dauer des Blasensprungs untersucht.

Zur Beurteilung der fetalen Parameter wurden der Apgar-Score, das Geburtsgewicht, die IL-6 Werte aus dem Nabelschnurblut (NB) sowie der Nachweis pathogener Keime als Marker einer Infektion herangezogen. Outcome-Zielgrößen waren die neonatale Mortalität sowie das anhand erhöhter IL-6 Werte definierte fetale Inflammationssyndrom. Zur Beurteilung der Kurzzeitmorbidity wurden die Neugeborenen-Infektion, die Neugeborenen-Sepsis, die intraventrikuläre Hämorrhagie und die nekrotisierende Enterokolitis herangezogen. Weiterhin zählten ein persistierender Ductus arteriosus, das Atemnotsyndrom, die bronchopulmonale Dysplasie (BPD) und die Lungenhypoplasie sowie die Retinopathia praematurorum (ROP), die periventrikuläre Leukomalazie und die Hypoglykämie zu den untersuchten Krankheitsbildern.

Die Ergebnisse dieser Studie wurden anschließend im aktuellen wissenschaftlichen Kontext erörtert. Mithilfe der Entzündungswerte aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser sollen praktische Schlussfolgerungen zur Detektion intrauteriner Infektionen gezogen werden mit dem Ziel, das möglichst beste Management zur Verbesserung der kindlichen Morbidity zu erreichen.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Studiendesign**

Bei vorliegender Doktorarbeit handelt es sich um eine prospektive klinisch-experimentelle Studie über einen Zeitraum von einem Jahr. Die Patientinnen wurden von den Studienärzten über das Sammeln von Fruchtwasser nach frühem vorzeitigem Blasensprung zu Forschungszwecken aufgeklärt und nach deren schriftlichen Einwilligung in die Studie eingeschlossen. Die Befürwortung der Ethikkommission der Universität Regensburg liegt im Ethikantrag 06-098/Ammendment vom 25.10.2016 vor.

Die Fruchtwassergewinnung sowie die Analyse der Zytokinkonzentrationen aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser vom Zeitpunkt des frühen vorzeitigen Blasensprungs bis zur Geburt erfolgten in Zusammenarbeit mit F. Aigner. Frau F. Aigner untersuchte anschließend in ihrer Doktorarbeit „Die nichtinvasive Zytokinbestimmung aus Fruchtwasser nach frühem vorzeitigem Blasensprung – Korrelation von Zytokinwerten und mütterlichen Parametern“ [56] den Zusammenhang der Zytokine mit definierten maternalen Zielgrößen während der gesamten Latenzzeit. In dieser Arbeit wurden die Zytokine bezüglich relevanter Schwangerschaftsparameter und schwerpunktmäßig des neonatalen Outcomes ausschließlich in den letzten drei Tagen vor Geburt untersucht.

#### **3.2 Studienpopulation**

Grundlage der vorliegenden prospektiven Studie bildeten alle schwangeren Frauen mit einem frühen vorzeitigem Blasensprung zwischen 23+0 und 33+6 SSW sowie deren Neugeborenen, die von Januar bis Dezember 2017 in der Klinik St. Hedwig in Regensburg stationär aufgenommen wurden. Bei Mehrlingsschwangerschaften wurde nur der Fet eingeschlossen, bei dem der Blasensprung stattgefunden hatte. Ausgeschlossen wurden diejenigen Schwangeren, deren Fruchtwasser entweder nicht über 24 Stunden gesammelt werden konnte oder keine für die Messungen ausreichende Menge lieferte.

Bei einem anamnestisch angegebenen und bestehenden Fruchtwasseraustritt aus der Scheide wurde der frühe vorzeitige Blasensprung klinisch mittels SpekulumEinstellung, einer pH-Messung des Zervixsekrets und eines sonographisch festgestellten verminderten Fruchtwasserdepots diagnostiziert. Falls nötig wurde der

Actimprom®-Test zum Nachweis des Fruchtwasseraustritts durchgeführt. Die Patientinnen wurden im Rahmen des Expectant Managements behandelt, um die Schwangerschaft möglichst zu prolongieren.

### **3.3 Das Expectant Management**

In der Klinik St. Hedwig beinhaltete das tägliche Monitoring der Schwangeren leitliniengetreu die Kontrolle der Vitalparameter Blutdruck und Körpertemperatur, die Messung des CRP-Wertes sowie die Beobachtung weiterer Entzündungsparameter. Einmal wöchentlich wurde das Gesamtlabor abgenommen. Zur Überwachung der Vitalität des Feten erfolgte alle zwei bis drei Tage die abdominalsonographische Kontrolle der Herzaktion und die Bestimmung der Fruchtwassermenge sowie alle zwei Wochen die Biometrie des Feten. Die fetalen Herztöne wurden ab 26+1 SSW mittels eines vollständig geschriebenen CTG kontrolliert, bis 26+1 SSW wurde die Herzfrequenz kurz angeschrieben, die Wehentätigkeit wurde in jedem Schwangerschaftsalter registriert. Unter Bettruhe erhielten die Schwangeren zur Hemmung der Wehentätigkeit eine Bolustokolyse mittels des  $\beta_2$ -Sympathomimetikums Fenoterol (Partusisten®). Dreimal täglich erfolgte die prophylaktische intravenöse Breitbandantibiotikatherapie mit 2 g Ampicillin oder 1,5 g Cefuroxim. Im Falle eines positiven Chlamydien- oder Mycoplasmennachweises wurde die antibiotische Therapie entsprechend auf Clarithromycin oder ein anderes gegen den manifesten Erreger wirksames Makrolid umgestellt. Zur Lungenreifeinduktion erfolgte im Abstand von 24 Stunden die Gabe von 2 x 12 mg des Betamethasons Celestan®. Im Falle einer Notfallsituation erfolgte die zweimalige Gabe innerhalb von 12 Stunden, um eine Schnellreifung der fetalen Lunge zu induzieren.

Leitliniengetreu (bei Frühgeburten <36+0 SSW) war bereits vor der Entbindung ein Neonatologe im Kreißsaal anwesend. Aufgrund des erhöhten Infektionsrisikos bei einem Blasensprung  $\geq 18$  Stunden sowie aufgrund der Frühgeburtlichkeit wurden die Neugeborenen in die Kinderklinik verlegt. Weiterhin wurden bei diesen im Falle einer unzureichenden Antibiotika-Prophylaxe, d.h. weniger als zwei Gaben vor der Geburt, alle vier Stunden die Vitalparameter Puls, Atmung und Temperatur überprüft. Eine wiederholte ärztliche Beurteilung fand innerhalb der ersten 24 Lebensstunden statt. Erfolgte vor Geburt die zweimalige Antibiotikagabe, wurden die Neugeborenen routinemäßig überwacht. Die Frühchen <35+0 SSW wurden direkt nach der Geburt

auf die neonatologische Intensivereinheit der Klinik St. Hedwig aufgenommen und dort von Neonatologen betreut. Die postnatalen Entzündungsparameter aus dem Nabelschnurblut sowie weitere klinische Befunde wurden erfasst und den Neugeborenen anonymisiert zugeordnet. Nachdem die Konzentrationsbestimmungen der Zytokine aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser abgeschlossen waren, wurden alle Daten zusammengetragen, statistisch analysiert und hinsichtlich der Forschungsfragen bewertet.

### 3.4 Gewinnung des Probenmaterials

Die Schwangeren sammelten vom Tag des diagnostizierten Blasensprungs bis zum Tag der Geburt ihre von Vaginalsekret getränkten Binden in verschließbaren Tüten. Alle 24 Stunden wurden diese Binden mit einer kommerziell erhältlichen Knoblauchpresse in eine Petrischale ausgedrückt. Auf diese Weise lief die Fruchtwassergewinnung aus dem Vaginalsekret ab, siehe Abbildung 2. Die aliquotierten Proben von 100 µl bis 1000 µl Menge wurden mittels 200 µl und 1000 µl Eppendorf-Pipetten in jeweils 1,5 ml fassbare SafeSeal Tubes pipettiert. Beschriftet mit Datum, Menge des Fruchtwassers und anonymisierten Initialen der Schwangeren wurden die Reaktionsgefäße bis zur Konzentrationsbestimmung der Zytokine bei -80°C eingefroren. Im Verlauf erfolgte die Analyse der Entzündungswerte IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) und zum Vergleich die Bestimmung der IL-6 Werte mittels Lateral Flow Immunoassay. Das Auspressen der Binden war in zwölf von 20 Fällen möglich, die übrigen Binden lieferten kein ausreichendes Material. Die Auswertung der ELISA's erfolgte mit Microsoft Office Excel 2007, die Ergebnisse der Schnelltests lieferte das Testgerät direkt nach der Messung.



Abbildung 2: Das Gewinnen von Fruchtwasser mit der Knoblauchpresse

Klinische Daten und Laborwerte wurden den Patientenakten der Kinder und Mütter entnommen. Von Interesse waren der Apgar-Score bei Lebensminute 1 und 5, das Geburtsgewicht, der jeweilige Krankheitsverlauf, die fetalen Entzündungsparameter aus dem Nabelschnurblut, mikrobiologische Abstriche und Blutkulturen. Neben den kindlichen Parametern waren vorgeburtliche Angaben zum Schwangerschaftsverlauf von Bedeutung. Hierzu zählten das Schwangerschaftsalter bei PPRM und Geburt, maternale Infektionen und die Latenzperiode vom PPRM bis zur Geburt.

### **3.5 Analyse des Fruchtwassers**

#### **3.5.1 Zytokinbestimmung mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay**

In dieser Studie sollte das Vorkommen der Entzündungsmediatoren IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser untersucht werden. Hierfür wurde ein Sandwich-ELISA, der DuoSet ELISA für menschliches IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  der Firma R&D Systems, verwendet. Dieses immunologische Verfahren eignet sich, um spezifische Moleküle im Körpersekret nachzuweisen [57].

Zur Konzentrationsbestimmung wurden 96-Well-Mikrotiterplatten mit dem entsprechenden Antikörper, dem „Capture Antibody“ gegen die IL-6-, IL-8- und TNF- $\alpha$ -Antigene beschichtet. Nach Zugabe der Fruchtwasserproben und Einhalten der Inkubationszeit von zwei Stunden band das Antigen der Probe zunächst an den spezifischen Antikörper und es folgte eine Antigen-Antikörper-Reaktion. Nach einem darauffolgenden Waschschrift, um die nicht gebundenen Antigene zu entfernen, wurde ein zweiter Antikörper hinzugefügt. An diesen „Detection Antibody“ war das Enzym Meerrettichperoxidase (HRP) mittels eines Streptavidin-Proteins kovalent geknüpft. Proportional zur Menge des vorhandenen Antigens in der Probe wurde der „Detection Antibody“ an den vorhandenen Antigen-Antikörper-Komplex gebunden, wodurch sich ein Sandwich bildete, der das gesuchte Antigen in der Mitte hielt. Das an den Komplex gekoppelte Enzym HRP war in der Lage, ein anschließend hinzugefügtes farbloses Chromogen (Tetramethylbenzidin) bis zur Hinzugabe einer Stopplösung (2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) in einen Farbkomplex umzuwandeln. Hierbei war die Farbdichte proportional zur Menge der vorhandenen Antigene in der Probe. Um den Farbumschlag beurteilen zu können, wurden die Versuche parallel für eine Standardserie mit bekannten Konzentrationen durchgeführt. Die für die Spaltung benötigte Enzymaktivität wurde photometrisch mithilfe der Optischen Dichte erfasst. Von der Optischen Dichte

ausgehend wurde die Konzentration des Zytokins berechnet. Die Bestimmung der Antigenkonzentration in der Probe erfolgte anhand einer Kalibrationskurve [57].

Die für die Durchführung benötigten Reagenzien sind nachfolgend gelistet.

<b>Reagenz</b>	<b>Eigenschaften</b>
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS)	137 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 8,1 Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ; 1,5 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ; pH 7,2 – 7,4; 0,2 µm gefiltert
Waschpuffer	0,05 % Tween 20 in PBS; pH 7,2 – 7,4
Reagenzdiluent	1 % Bovine Serum Albumin (BSA) in PBS; pH 7,2 – 7,4; 0,2 µm gefiltert
Human IL-6 Capture Antibody	2 µg/ml Konzentration (gelöst in PBS)
Human IL-6 Detection Antibody	50 ng/ml Konzentration (gelöst in Reagenzdiluent)
Human IL-6 Standard	2,45 – 600 pg/ml Konzentrationen (gelöst in Millipore Wasser, verdünnt mit Reagenzdiluent)
Streptavidin-HRP	40-fach verdünnt (mit Reagenzdiluent)
Substratlösung	1:1-Mischung aus Farbreagenz A (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) und Farbreagenz B (Tetramethylbenzidine)
Stopplösung	2N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

Tabelle 1: Reagenzien für den ELISA

### 3.5.2 IL-6-Bestimmung mittels Lateral Flow Immunoassay

Ein weiteres Verfahren zur Bestimmung der IL-6 Werte aus den Fruchtwasserproben war der Point-of-Care-Test (POCT) von Milenia Biotec. Bei diesem Quickline Test konnte mittels eines Lateralfuss-Immunoassays humanes IL-6 (hIL-6) im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser quantitativ gemessen werden.

Das Lateralfuss-Verfahren ist eine biochemische Methode zum Nachweis von Antikörpern. Es besteht sowohl aus einer Dünnschichtchromatographie als auch aus einer Immunfärbung [58]. Mithilfe des Quickline Tests von Milenia Biotec ist der Nachweis von humanem IL-6 in Serum, Plasma, Liquor oder - wie in vorliegender Studie - in Fruchtwasser möglich. Zur Durchführung eines Tests wurden jeweils 100 µl Probenmaterial benötigt. Die Testeinheit war mit einer analytischen Membran beschichtet und enthielt zwei spezifische monoklonale Maus-anti-hIL-6 Antikörper. Der erste dieser Antikörper lag im Goldkonjugat vor. Nach Zugabe von 100 µl der Fruchtwasserprobe band das IL-6 der Probe an die Goldpartikel des ersten spezifischen Antikörpers. Anschließend erfolgte die Diffusion der Goldpartikel über eine Testlinie T in dieser Testeinheit. Dort war der zweite anti-hIL-6 Antikörper an die

Membran geknüpft. An diesen koppelten die Goldeinheiten, wodurch eine deutliche Linie sichtbar wurde. Während der Inkubationszeit von 20 Minuten färbte sich diese Linie direkt proportional zur IL-6 Konzentration der Fruchtwasserprobe. Überschüssige Goldpartikel wanderten weiter über den Teststreifen und wurden auf einer Kontroll-Linie C von konjugatspezifischen Antikörpern gebunden. Dadurch wurde diese sichtbar. Nur wenn diese Kontroll-Linie C nach 20 Minuten deutlich erkennbar war, durfte das Testergebnis des POCT verwendet werden. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die Testeinheit in den Milenia POC-Scan Reader gelegt und die quantitative Messung der IL-6 Konzentrationen mit einer Sensitivität von 50 pg/ml gestartet. Die Validität der Messung wurde durch die firmeneigene Software im POC-Scan Reader überprüft und der Messbereich für Werte zwischen 50 pg/ml und 10000 pg/ml definiert. Der Normbereich, der für gesunde Blutproben festgelegt wurde, betrug <100 pg/ml [59]. Werte unter 50 pg/ml wurden mit 49 pg/ml, Werte über 10000 pg/ml mit 10001 pg/ml in die Auswertung übernommen.



Abbildung 3: POC-Scan Reader mit Testeinheit des Milenia Quick Line

### 3.6 Statistische Auswertung

Statistisch untersucht wurden die eigens ausgewerteten Messergebnisse der beiden Messmethoden sowie die Daten aus den Patientenakten. Diese wurden in Microsoft Office Excel 2007 anonymisiert und systematisch zusammengetragen. Die Korrelationsanalyse nach Spearman, der Mann-Whitney-U-Test (Wilcoxon-Test) für unabhängige, nicht normalverteilte Stichproben zur Berechnung eines signifikanten Unterschieds sowie die graphische Darstellung dieser Auswertungen erfolgten mit GraphPad Prism. Statistisch signifikant galten Unterschiede mit einem p-Wert  $\leq 0,05$ . Entsprechend der Höhe des p-Wertes wurden die Graphen folgendermaßen gekennzeichnet:  $p \leq 0,05$  (\*),  $p \leq 0,01$  (\*\*),  $p \leq 0,001$  (\*\*\*)

### 3.7 Geräte und Utensilien

Die für die Studie benötigten Geräte und Utensilien sind in folgender Tabelle alphabetisch zusammengetragen.

<b>Produkt</b>	<b>Bezugsquelle</b>
Abdeckfolien für Mikrotiterplatten „Plate Sealers“	Corning, Inc., New York, USA
Edelstahl Knoblauchpresse	Precision Kitchenware
Einfrierbox „Cryo King“	Biologix Group Limited, Development Zone Jinan, Shandong China
Einkanal-Pipette „Research Plus“ 100 µl, 200 µl, 1000 µl	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Eisschrank (- 80 °C)	Thermo Fisher Scientific, Inc., Massachusetts, USA
ELISA-Auswertungsprogramm „Microsoft Excel“	Microsoft Corporation, Washington, USA
ELISA-Reader „E Max“	MWG-Biotech AG, Ebersberg, Deutschland
Falcon-Röhrchen „Polypropylene Conical Tube“ 50 ml	Corning, Inc., New York, USA
Gefrierschrank „Comfort“ (- 20 °C)	Liebherr-International AG, Bulle, Schweiz
Kühlschrank „Premium“ (5 °C)	Liebherr-International AG, Bulle, Schweiz
Mehrfachdispenser „HandyStep“	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
Milenia POC-Scan Reader	Milenia Biotec, Gießen, Deutschland
Petrischale „Tissue culture dish“ 100 mm x 20 mm	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen „TipStackPack“ 200 µl	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen 1000 µl	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
Präzisionsdispenser Tips 5 ml, 10 ml	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
Tubes „SafeSeal“ 1,5 ml	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland
Vortexgerät „Vortex Genie“	Scientific Industries, New York, USA
Ziplock Beutel blau 400 mm x 500 mm	neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland
8-Kanalpipettiereinheit	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
96-Well-Mikrotiterplatten „CostarAssayPlate“	Corning, Inc., New York, USA

Tabelle 2: Geräte und Utensilien

### 3.8 Materialien

Zur Analyse der Zytokinwerte aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser wurden der DuoSet Sandwich-ELISA der Marke R&D Systems, Minneapolis, USA, sowie der POC-Scan Reader von Milenia Biotec, Gießen, Deutschland, verwendet. Die dazugehörigen Materialien sind nachfolgend aufgelistet.

<b>Produkt</b>	<b>Bezugsquelle</b>
1 % BSA	Sigma-Aldrich Corporation, Missouri, USA
Human IL-6 DuoSet ELISA	R&D Systems, Minneapolis, USA
Human CXCL8/IL-8 DuoSet ELISA	R&D Systems, Minneapolis, USA
Human TNF- $\alpha$ DuoSet ELISA	R&D Systems, Minneapolis, USA
Incidin Plus 0,5 %	Hauseigene Apotheke, Universität Regensburg, Deutschland
Milenia QuickLine IL-6	Milenia Biotec, Gießen, Deutschland
Millipore Wasser	Hauseigenes Aufbereitungssystem, Universität Regensburg, Deutschland
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS)	Sigma-Aldrich Corporation, Missouri, USA
Schwefelsäure 2N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland
Substratlösung „Substrate Reagent Pack“	R&D Systems, Minneapolis, USA
Tween 20	Carl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland

Tabelle 3: ELISA- und POC-Scan-Kits zur Zytokinbestimmung und benötigte Materialien

## 4 Ergebnisse

Bei insgesamt 20 eingeschlossenen Schwangeren und deren Neugeborenen war in zwölf Fällen (60,0 %) eine adäquate nichtinvasive Gewinnung von Fruchtwasser über 24 Stunden möglich. Zwei der acht Fälle (25,0 %) ohne adäquate Fruchtwassergewinnung wurden aufgrund einer Sammelperiode <24 h ausgeschlossen, sechs Proben (75,0 %) erbrachten keine für die Analyse der Zytokinwerte ausreichende Fruchtwassermenge.

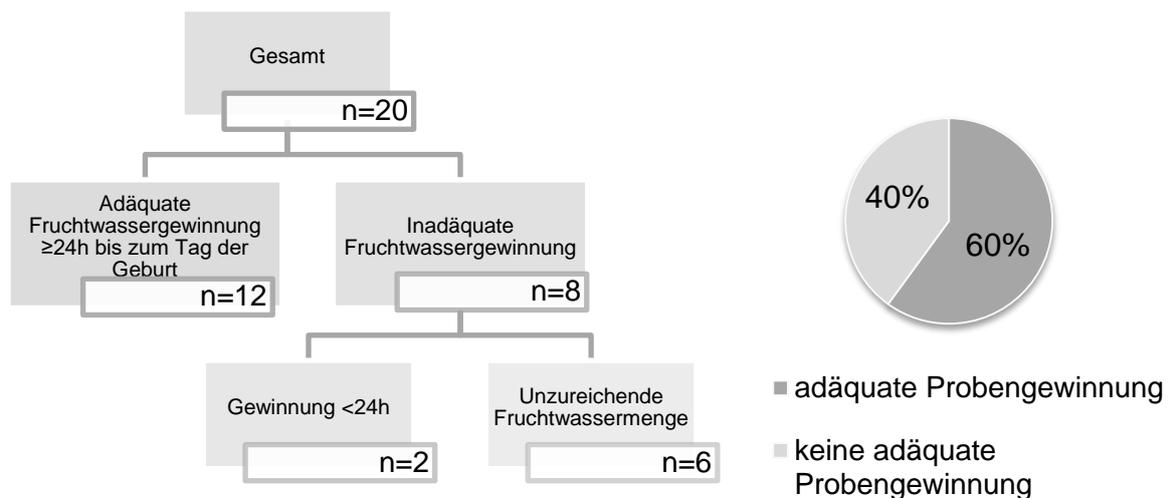


Abbildung 4: Kriterien der ein- und ausgeschlossenen Studienpopulation

### 4.1 Analyse der Zytokine aus nichtinvasiv gewonnenem Fruchtwasser

#### 4.1.1 Verlauf von IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$

Die Konzentrationen der Zytokine IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  wurden während der gesamten Latenzperiode von Blasensprung bis zur Geburt gemessen und in der Arbeit von F. Aigner analysiert [56]. In dieser Studie interessierten die Interleukinkonzentrationen der letzten drei Tage vor Geburt sowie im Vergleich mit neonatalen Parametern. Wie nachfolgend graphisch dargestellt, verhielten sich die jeweiligen IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser der zwölf untersuchten Schwangeren weitestgehend ähnlich. In neun von zwölf Fällen (75,0 %) kam es zu einem Anstieg der IL-6 Werte, je näher die Entbindung rückte, in drei Fällen (25,0 %) zu einem Abfall der Konzentrationen. Stiegen die Interleukinwerte im Verlauf an, betrug die Zunahme der Konzentrationen das 1,4- bis 5,4-fache, bei einem Abfall der Werte konnte ein Verlust um das 0,02- bis 0,5-fache verzeichnet werden. Die IL-6 Konzentrationen während der letzten drei Tage vor Geburt betragen im Mittel 16688,7 pg/ml (58 pg/ml – 132114 pg/ml).

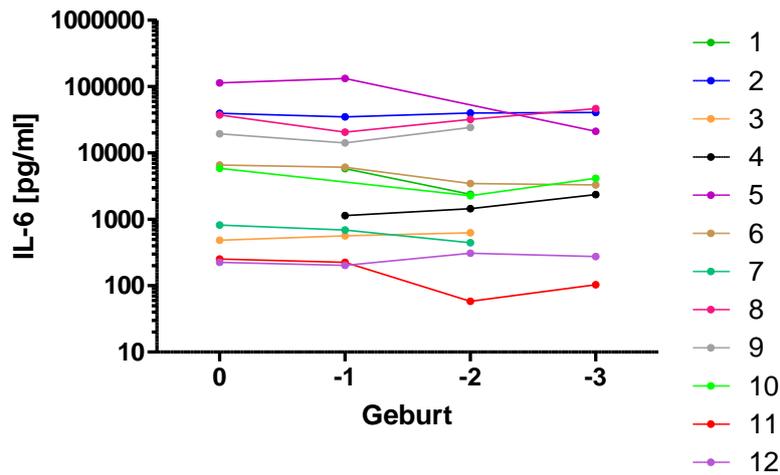


Abbildung 5: Verlauf der IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser

Sowohl der Verlauf als auch die Höhe der IL-8 Konzentrationen zeigten ähnliche Tendenzen wie die der IL-6 Werte. In der Hälfte der Fälle verhielten sich die Interleukinverläufe von IL-6 und IL-8 gleichermaßen. Stiegen die IL-6 Konzentrationen im Verlauf an, stiegen ebenso die IL-8 Konzentrationen und umgekehrt. Dies war bei Pat.-Nr. 1, 3, 4, 5, 7 und 11 der Fall. In zwei von zwölf Analysen (16,7 %) entsprachen die Verläufe von IL-8 nicht jenen von IL-6 (Pat.-Nr. 10, 12). In vier von zwölf Proben (33,3 %) zeigten die jeweiligen Konzentrationen zunächst unterschiedliche Verläufe, verhielten sich jedoch einen Tag vor Geburt (*day to birth*, dtb-1) bis zum Tag der Geburt (dtb-0) gleich (Pat.-Nr. 2, 6, 8, 9). Insgesamt war folglich in zehn von zwölf Fällen (83,3 %) der Verlauf von dtb-1 zu dtb-0 gleichsinnig. Die IL-8 Konzentrationen während der letzten drei Tage vor Geburt betragen im Mittel 33060,1 pg/ml (59 pg/ml – 325980 pg/ml).

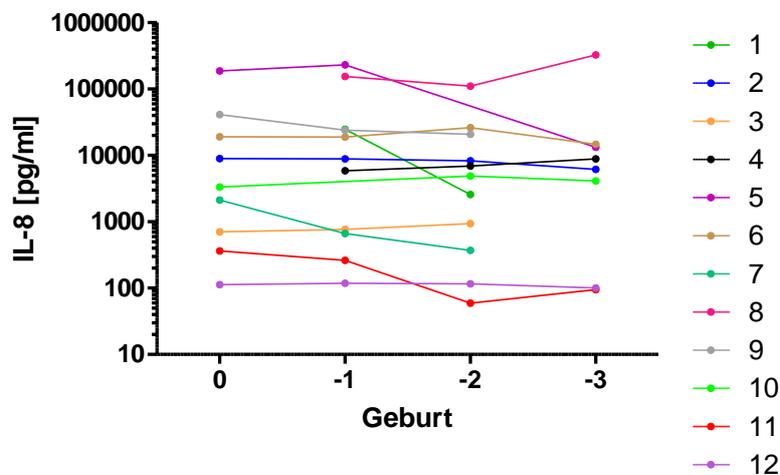


Abbildung 6: Verlauf der IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser

Die Verläufe des TNF- $\alpha$  unterschieden sich teilweise von IL-6 bzw. IL-8. Die folgende Abbildung zeigt die TNF- $\alpha$  Werte im nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser. In fünf von zwölf (41,7 %) untersuchten Fruchtwasserproben (Pat.-Nr. 4, 6, 10, 11, 12) entwickelten sich die TNF- $\alpha$  Konzentrationen ähnlich wie diejenigen des IL-6. Bei Pat.-Nr. 1 und 5 (16,7%) verhielten sich die jeweiligen Verläufe gegensinnig. In vier von zwölf Proben (33,3 %) (Pat.-Nr. 2, 3, 7, 9) zeigten IL-6 und TNF- $\alpha$  zunächst eine gegensätzliche Entwicklung, stiegen oder fielen aber von dtb-1 bis zu dtb-0 gleichermaßen. In nur einer Probe (8,3 %), bei Pat.-Nr. 8, unterschied sich der letzte Verlaufswert von dtb-1 zu dtb-0, während dagegen die Werte von dtb-3 bis dtb-1 gleichermaßen sanken bzw. stiegen. Die TNF- $\alpha$  Konzentrationen während der letzten drei Tage vor Geburt betragen im Mittel 360,6 pg/ml (0 pg/ml – 3945 pg/ml).

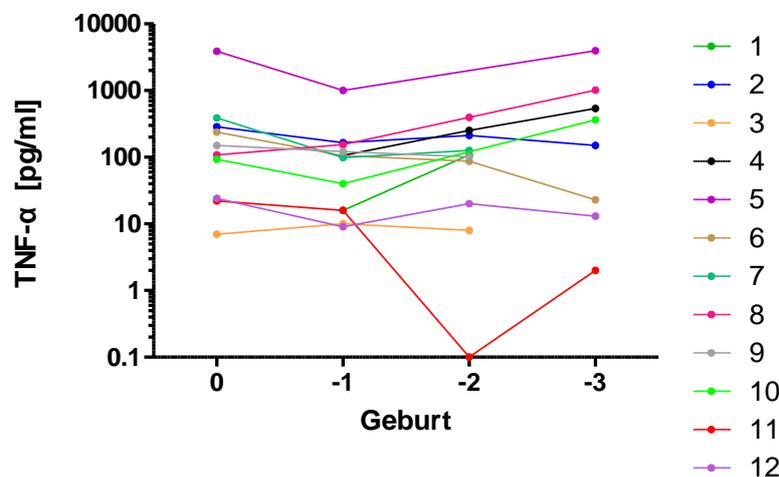


Abbildung 7: Verlauf der TNF- $\alpha$  Konzentrationen im Fruchtwasser

Zusätzlich wurde untersucht, ob die Zytokine während der letzten drei Tage vor Geburt in ihrer Höhe miteinander korrelierten. Wie Abbildung 8 zeigt, ergab die Korrelationsanalyse nach Spearman sowohl für den Zusammenhang von IL-6 und IL-8 als auch für den von IL-6 und TNF- $\alpha$  eine statistisch signifikante positive Korrelation ( $p \leq 0,0001$ ). Die Korrelation zwischen IL-6 und IL-8 fiel stärker aus als die für IL-6 und TNF- $\alpha$  ( $r_{(IL-6,IL-8)}=0,87$ ,  $r_{(IL-6,TNF-\alpha)}=0,74$ ).

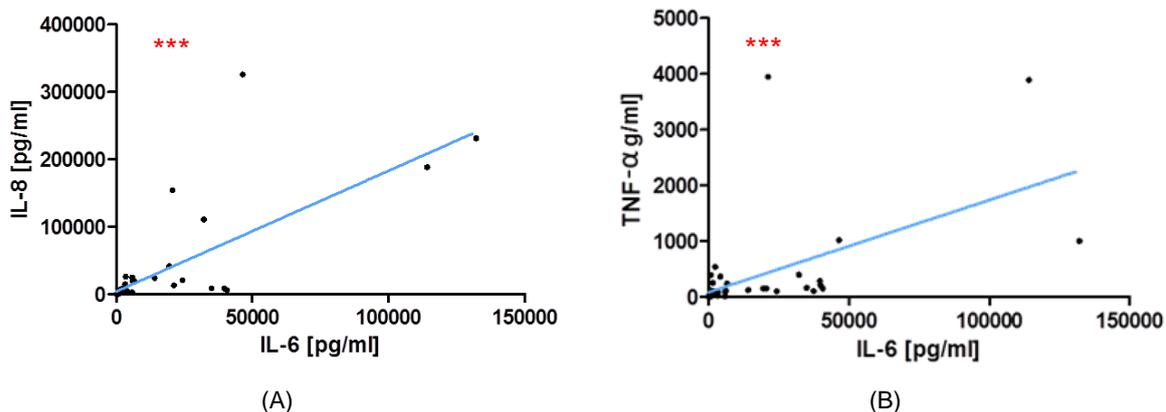


Abbildung 8: Korrelation der IL-6 und IL-8 Konzentrationen (A) sowie der IL-6 und TNF- $\alpha$  Konzentrationen (B) im Fruchtwasser, gemessen mittels ELISA

#### 4.1.2 Vergleich der beiden Messmethoden ELISA und Point-of-Care-Test

Zur Ermittlung der Zytokinkonzentrationen aus dem Fruchtwasser wurden zwei verschiedene Methoden verwendet. Als geltende Goldstandard-Methode wurde der ELISA für die Konzentrationsmessungen von IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  angewandt. Im Vergleich dazu wurden die IL-6 Konzentrationen zusätzlich mittels POCT analysiert. Die Ergebnisse beider Messmethoden wurden miteinander verglichen. Eine ausführliche Korrelationsanalyse der beiden Messmethoden wurde in der Doktorarbeit von F. Aigner durchgeführt, in die die Zytokinkonzentrationen der gesamten Zeit von Eintreten des PPRM bis zur Geburt in die Berechnung einbezogen wurden [56]. In vorliegender Studie wurden nur die Korrelationen der letzten drei Tage vor Geburt untersucht.

Die IL-6 Konzentrationen, die mittels POCT gemessen wurden, korrelierten positiv mit den Ergebnissen des ELISA. Im Vergleich der Ergebnisse war die Korrelation nach Spearman am Tag der Geburt am größten ( $r=0,92$ ) und mit  $p=0,0003$  hochsignifikant. Zum Zeitpunkt dtb-3 betrug sie  $r=0,70$  und war mit  $p\leq 0,0001$  ebenfalls signifikant, siehe Abbildung 9.

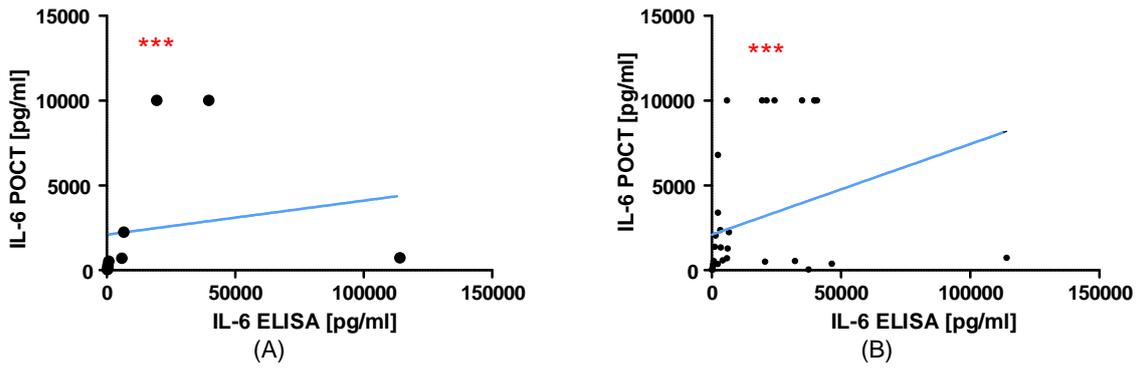


Abbildung 9: Korrelation der IL-6 Werte von ELISA und POCT, dtb-0 (A), dtb-3 (B)

Zusätzlich ließ sich für die Werte aus ELISA und POCT zu den Zeitpunkten dtb-0 und dtb-3 ein signifikanter Unterschied in der Höhe der Zytokinkonzentrationen berechnen ( $p_{\text{dtb-0}}=0,0078$ ,  $p_{\text{dtb-3}}\leq 0,0001$ ), graphisch dargestellt in Abbildung 10.

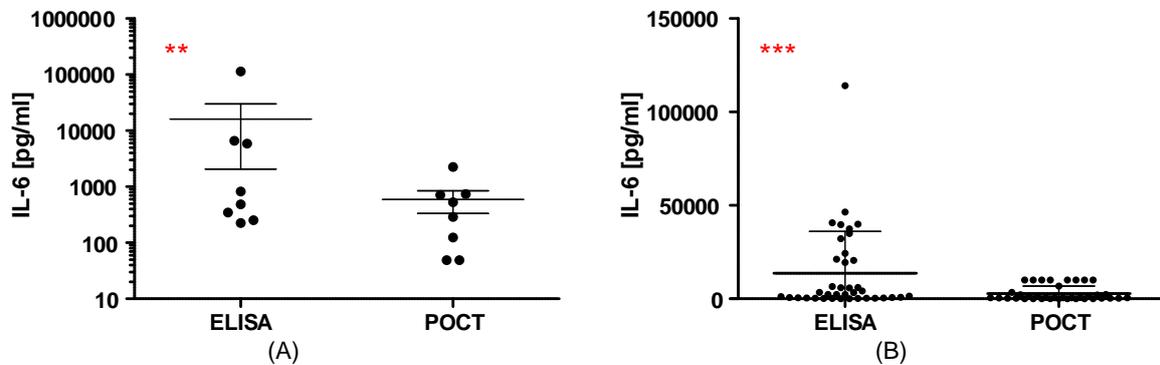


Abbildung 10: Statistischer Unterschied der IL-6 Werte von ELISA und POCT, dtb-0 (A), dtb-3 (B)

## 4.2 Untersuchung des Schwangerenkollektivs

### 4.2.1 Allgemeine Beschreibung der maternalen Parameter

Insgesamt wurden 20 Schwangere mit einem frühen vorzeitigen Blasensprung zwischen 23+0 und 33+6 SSW in die Studie eingeschlossen. In der medizinischen Doktorarbeit von F. Aigner wird, wie bereits erwähnt, ausführlich auf die mütterlichen Parameter und deren Schwangerschaftsverlauf eingegangen [56], in der vorliegenden Dissertation werden diese hinsichtlich ihrer Relevanz nur skizziert. Im Mittel ergab sich ein Schwangerschaftsalter von 28+2 SSW (18+2 SSW – 34+5 SSW) bei PPROM. Vier der 20 Schwangeren entbanden unter 28+0 SSW, jeweils acht zwischen 28+0 und 31+6 SSW sowie zwischen 32+0 und 36+6 SSW. Hieraus ergibt sich ein mittleres Schwangerschaftsalter von 30+6 SSW (23+6 SSW – 35+0 SSW) bei Geburt. Die durchschnittliche Liegedauer von Diagnosestellung des Blasensprungs bis zur Entbindung betrug 391 Stunden (7 h – 1241 h). Siebzehn Schwangerschaften (85,0 %) waren Einlingsschwangerschaften, drei Frauen (15,0 %) waren mit Mehrlingen schwanger. Dabei handelte es sich zweimal um Zwillingschwangerschaften und einmal um eine Drillingschwangerschaft. Sowohl die Drillings- als auch eine der beiden Geminischwangerschaften und eine Einlingsschwangerschaft waren das Ergebnis einer künstlichen Befruchtung durch intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) und Insemination.

Sonographisch ergab sich bei zwölf Schwangeren (60,0 %) ein unauffälliges Fruchtwasser (FW)-Depot, jeweils eine (5,0 %) entwickelte ein Poly- sowie ein Anhydramnion, bei sechs Frauen (30,0 %) wurde ein Oligohydramnion festgestellt. Bei fünf Schwangeren (25,0 %) wurde vor der Geburt ein CTG geschrieben, welches als pathologisch einzustufen war. Dreizehn Schwangere (65,0 %) entbanden mittels Sectio caesarea, sieben Frauen (35,0 %) brachten ihr Kind spontan vaginal zur Welt. In drei der 20 Fälle (15,0 %) mit PPROM wurde die Geburt eingeleitet. Alle Schwangeren mit PPROM wurden leitliniengetreu antibiotisch behandelt, 19 von 20 Schwangeren (95,0 %) erhielten eine Lungenreifebehandlung zur RDS-Prophylaxe, 16 Patientinnen (80,0 %) eine Tokolyse. Bei fünf Frauen (25,0 %) bestand bei bakterieller Keimbesiedelung in den Abstrichen von Vagina, Cervix, Plazenta und Eihaut und systemischen Infektzeichen der Verdacht auf ein Amnioninfektionssyndrom. In drei Fällen (15,0 %) bestätigte sich die Verdachtsdiagnose postpartal im Rahmen der histologischen Untersuchung der

Plazenta. Bei vier der fünf Frauen (80,0 %) mit bakterieller Keimbeseidung konnten im vaginalen Abstrich B-Streptokokken (*hämolyisierende Streptokokken der Gruppe B*, GBS) nachgewiesen werden, ein Abstrich (20,0 %) zeigte sich positiv auf *Escherichia coli* (*E. coli*). Bei einer Schwangeren war die Plazenta, bei zwei Frauen die Cervix mit B-Streptokokken besiedelt.

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
SSA bei PPRM	<23+0 SSW	2 (10 %)
	23+0 – 27+6 SSW	6 (30 %)
	28+0 – 31+6 SSW	9 (45 %)
	32+0 – 36+6 SSW	3 (15 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 4: Schwangerschaftsalter bei PPRM

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
SSA bei Geburt	<28+0 SSW	4 (20 %)
	28+0 – 31+6 SSW	8 (40 %)
	32+0 – 36+6 SSW	8 (40 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 5: Schwangerschaftsalter bei Geburt

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
Dauer von Blasensprung bis zur Geburt in Stunden	<100 h	4 (20 %)
	100 – 300 h	6 (30 %)
	300 – 500 h	2 (10 %)
	500– 700 h	3 (15 %)
	700 – 1000 h	3 (15 %)
	≥1000 h	1 (5 %)
	nicht angegeben (n.a.)	1 (5 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 6: Dauer des Blasensprungs

Variable			Anzahl der Frauen (N=20)
Gravidität	Einlingsgravidität		17 (85 %)
	Mehrlingsgravidität	Gemini-gravidität	2 (10 %)
		Drillings-gravidität	1 (5 %)
	<b>Gesamt</b>		

Tabelle 7: Art der Gravidität

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
Fruchtwasserdepot nach PPRM	FW-Depot ohne pathologischen Befund (opB)	12 (60 %)
	Polyhydramnion	1 (5 %)
	Oligohydramnion	6 (30 %)
	Anhydramnion	1 (5 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 8: Menge des Fruchtwasserdepots

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
Kardiotokographie	CTG pathologisch	5 (25 %)
	CTG opB	15 (75 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 9: Kardiotokographie vor Geburt

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
Entbindungsmodus	Vaginale Entbindung	7 (35 %)
	Sectio caesarea	13 (65 %)
	Geburtseinleitung	3 (15 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 10: Entbindungsmodus

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
Plazentahistologie	Amnioninfektionssyndrom	3 (15 %)
	Verdacht auf (V.a.) AIS	2 (10 %)
	Keine Infektion	15 (75 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 11: Plazentahistologie in Bezug auf AIS

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
Lungenreifebehandlung	RDS-Prophylaxe	19 (95 %)
	Keine RDS-Prophylaxe	1 (5 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 12: RDS-Prophylaxe

Variable		Anzahl der Frauen (N=20)
Tokolyse	Partusisten®	16 (80 %)
	Keine Tokolyse	4 (20 %)
	<b>Gesamt</b>	<b>20 (100 %)</b>

Tabelle 13: Tokolyse

Variable		Anzahl der Frauen (N=5)	
Keime bei V.a./gesichertem AIS	Vagina	GBS	4 (80 %)
		E. coli	1 (20 %)
		E. faecalis	1 (20 %)
		Kleb. pneumoniae	1 (20 %)
	Cervix	GBS	2 (40 %)
		E. coli	0
		E. faecalis	1 (20 %)
		Kleb. pneumoniae	1 (20 %)
	Plazenta	GBS	1 (20 %)
		E. coli	1 (20 %)
		E. faecalis	0
		Kleb. pneumoniae	0
	Eihaut	GBS	0
		E. coli	1 (20 %)
		E. faecalis	0
		Kleb. pneumoniae	0

Tabelle 14: Keime bei V.a./ gesichertem AIS

#### 4.2.2 Die Zytokine im Zusammenhang mit dem Schwangerschaftsalter bei PPROM, bei Geburt und der Dauer des Blasensprungs

Zwischen dem Schwangerschaftsalter bei PPROM und der Dauer des Blasensprungs konnte eine negative Korrelation berechnet werden ( $r=-0,62$ ), siehe Abbildung 11. Je jünger die Schwangerschaft bei Diagnosestellung des frühen vorzeitigen Blasensprungs war, desto länger war die Latenzperiode von Blasensprung bis zur Geburt. Diese Korrelation ist mit  $p=0,0047$  signifikant.

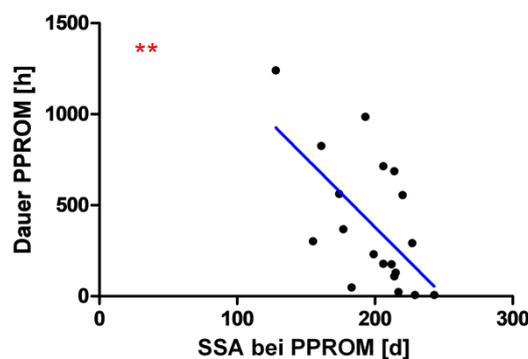


Abbildung 11: Korrelation von Schwangerschaftsalter bei PPROM in Tagen und Dauer des PPROM in Stunden

Weiterhin war von Interesse, ob die untersuchten Zytokinwerte mit dem Schwangerschaftsalter bei PPROM bzw. bei Geburt oder mit der Dauer des Blasensprungs korrelierten. Verglichen wurden jeweils die Interleukin- und TNF- $\alpha$ -Konzentrationen zu den Zeitpunkten dtb-0 und dtb-1.

Im Hinblick auf die IL-6 Werte konnte sowohl mit dem Schwangerschaftsalter bei PPROM als auch mit dem Schwangerschaftsalter bei Geburt eine signifikante negative Korrelation festgestellt werden. Der Spearman Korrelationskoeffizient für den Zusammenhang von IL-6 und  $SSA_{PPROM}$  betrug zum Zeitpunkt dtb-0  $r_{dtb-0}=-0,83$ ,  $p_{dtb-0}=0,0029$ , zum Zeitpunkt dtb-1  $r_{dtb-1}=-0,72$ ,  $p_{dtb-1}=0,013$ . Die Korrelation von IL-6 und  $SSA_{Geburt}$  ergab ebenso signifikant negative Werte ( $r_{dtb-0}=-0,85$ ,  $p_{dtb-0}=0,0018$ ;  $r_{dtb-1}=-0,82$ ,  $p_{dtb-1}=0,0018$ ), siehe Abbildung 12. Je eher in der Schwangerschaft sich also der frühe vorzeitige Blasensprung ereignete, desto höher waren einen Tag vor Geburt und am Tag der Geburt die IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser. Gleiches galt für das Schwangerschaftsalter bei Geburt. Je früher die Kinder geboren wurden, desto höhere Entzündungswerte wurden an den Tagen vor der Geburt im Fruchtwasser gemessen.

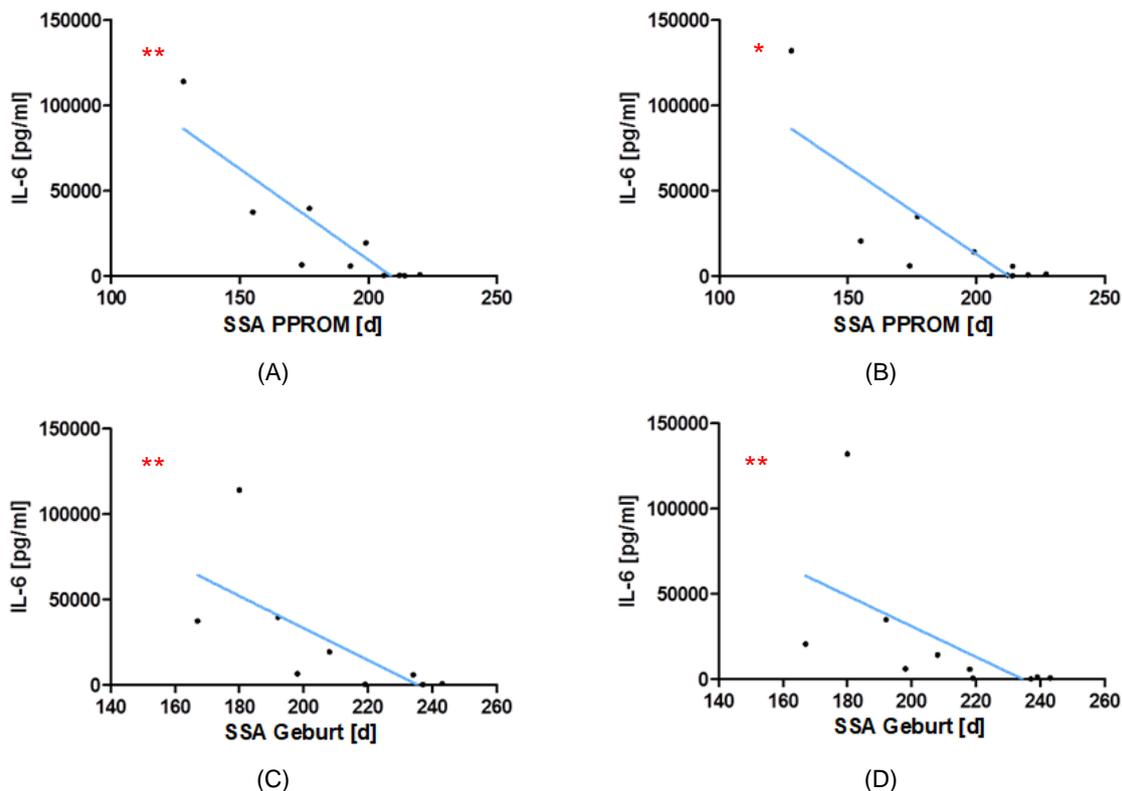
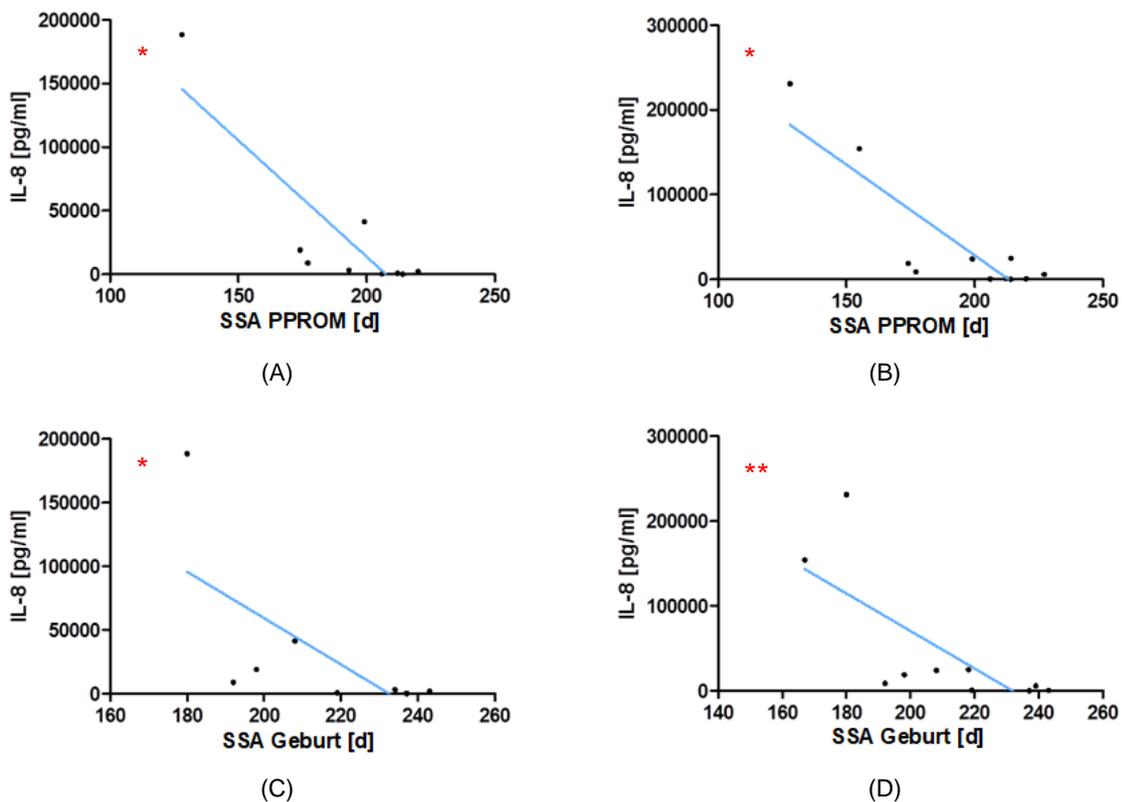


Abbildung 12: Korrelation von IL-6 und  $SSA_{PPROM}$ , dtb-0 (A), dtb-1 (B); Korrelation von IL-6 und  $SSA_{Geburt}$ , dtb-0 (C), dtb-1 (D)

Wie für IL-6 wurden auch für IL-8 und TNF- $\alpha$  mögliche Korrelationen bezüglich des SSA bei PPROM, bei Geburt und der Dauer des Blasensprungs untersucht.

Die Analyse des IL-8 im Hinblick auf das SSA bei PPROM ergab zu den Zeitpunkten dtb-0 und dtb-1 jeweils signifikante negative Korrelationen ( $r_{dtb-0}=-0,78$ ,  $p_{dtb-0}=0,013$ ,  $r_{dtb-1}=-0,64$ ,  $p_{dtb-1}=0,035$ ). Ebenfalls korrelierte die Höhe von IL-8 signifikant negativ mit dem SSA bei Geburt ( $r_{dtb-0}=-0,80$ ,  $p_{dtb-0}=0,01$ ,  $r_{dtb-1}=-0,80$ ,  $p_{dtb-1}=0,003$ ), siehe Abbildung 13. Die IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser waren umso höher, je früher sich der vorzeitige Blasensprung ereignete und je früher es zur Entbindung kam.



**Abbildung 13: Korrelation von IL-8 und SSA<sub>PPROM</sub>, dtb-0 (A), dtb-1 (B); Korrelation von IL-8 und SSA<sub>Geburt</sub>, dtb-0 (C), dtb-1 (D)**

Die Korrelationsanalysen von TNF- $\alpha$  mit dem Schwangerschaftsalter bei PPROM und bei Geburt waren ebenfalls negativ (SSA<sub>PPROM</sub>:  $r_{dtb-0}=-0,42$ ,  $r_{dtb-1}=-0,63$ ; SSA<sub>Geburt</sub>:  $r_{dtb-0}=-0,35$ ,  $r_{dtb-1}=-0,66$ ). Die Konzentrationen waren umso höher, je früher es zu einem Blasensprung gekommen ist und je früher die Kinder geboren wurden. Die jeweiligen Korrelationen waren zum Zeitpunkt dtb-1 signifikant (SSA<sub>PPROM</sub>:  $p_{dtb-1}=0,039$ ; SSA<sub>Geburt</sub>:  $p_{dtb-1}=0,026$ ), siehe Abbildung 14.

Die Dauer des Blasensprungs korrelierte nicht mit den Interleukinwerten.

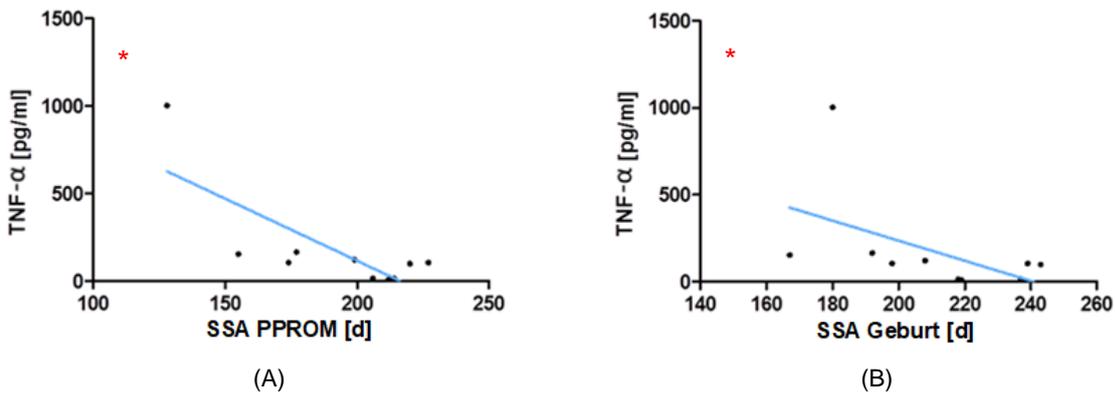


Abbildung 14: Korrelation von TNF- $\alpha$  und SSA<sub>PPROM</sub>, dtb-1 (A); Korrelation von TNF- $\alpha$  und SSA<sub>Geburt</sub>, dtb-1 (B)

### 4.3 Untersuchung des Neugeborenenkollektivs

#### 4.3.1 Allgemeine Beschreibung der fetalen Parameter

Zu den fetalen Parametern, die den Zytokinwerten gegenübergestellt wurden, zählten der Apgar-Score, das Geburtsgewicht sowie der Nabelschnurarterien-pH. Weiterhin wurden die IL-6 Konzentrationen aus dem Nabelschnurblut und der Nachweis pathogener Keime in der Blutkultur berücksichtigt. Das Neugeborenen-Outcome umfasste einerseits das durch erhöhte IL-6 Konzentrationen definierte fetale Inflammationssyndrom, andererseits spezifische Krankheitsbilder wie die Neugeborenen-Infektion, die Sepsis sowie die intraventrikuläre Hämorrhagie. Weiterhin wurden das Auftreten eines persistierenden Ductus arteriosus, einer nekrotisierenden Enterokolitis oder eines Atemnotsyndroms untersucht. Außerdem zählten die bronchopulmonale Dysplasie sowie die Lungenhypoplasie, eine Retinopathia praematurorum, eine periventrikuläre Leukomalazie, die Hypoglykämie und der intrauterine Fruchttod zu den erfassten Krankheitsbildern.

Wie Tabelle 15 zeigt, waren unter den eingeschlossenen Frühchen 15 weibliche (75,0 %) und fünf männliche (25,0 %) Neugeborene. Zwei Kinder (10,0 %) kamen mit weniger als 1000 g Geburtsgewicht zur Welt und zählten demnach zu den ELBW, sechs Neugeborene (30,0 %) fielen mit einem Gewicht zwischen 1000 g und 1500 g in die Kategorie der VLBW, elf Frühgeborene (55,0 %) hatten ein Geburtsgewicht von 1500 g bis 2500 g und zählten zu den LBW-Kindern, ein Neugeborenes wog mehr als 2500 g. Das Geburtsgewicht betrug im Mittel 1589,6 g (555 g – 2740 g, N=20). Elf Kinder (55,0 %) hatten einen 1-Minuten-Apgar-Score <7, der 5-Minuten-Apgar-Score

war bei drei Neugeborenen (15,0 %)  $<7$ . Der Nabelschnurarterien-pH zeigte sich bei allen Lebendgeborenen im Normbereich.

Zwei Neugeborene (10,0 %) entwickelten innerhalb der ersten 72 Lebensstunden eine frühe Neugeborenen-Sepsis (*early-onset Sepsis*, EOS). Ein Kind (5,0 %) entwickelte eine späte Neugeborenen-Sepsis (*late-onset Sepsis*, LOS), d.h. eine systemische Infektion mit einem positiven Keimnachweis nach 72 Lebensstunden. In jeweils einem Drittel der Fälle mit Neugeborenen-Sepsis wurden B-Streptokokken, E. coli und Staphylococcus (Staph.) epidermidis nachgewiesen. Diese wurden entsprechend Antibiotogramm behandelt. Dreizehn Kinder (65,0 %) erhielten aufgrund des V.a. Neugeborenen (NG)-Infektion eine antibiotische Therapie. Insgesamt wurden demnach 16 der 20 eingeschlossenen Frühchen (80,0 %) antibiotisch behandelt. Kein Frühgeborenes erkrankte an einer intraventrikulären Hämorrhagie, einer nekrotisierenden Enterokolitis oder einer periventrikulären Leukomalazie. Jeweils ein Neugeborenes (5,0 %) wurde innerhalb der ersten Lebenstage aufgrund eines persistierenden Ductus arteriosus, einer bronchopulmonalen Dysplasie bzw. einer Lungenhypoplasie behandelt. Fünf Kinder (25,0 %) fielen postnatal mit einem niedrigen Blutzuckerspiegel auf, der sich im Verlauf wieder normalisierte. Zwei Frühchen (10,0 %) hatten einen auffälligen Befund der Netzhaut im Sinne einer Retinopathia praematurorum. Bei fünf Neugeborenen (25,0 %) zeigte sich ein Atemnotsyndrom der Stadien I und II. Ein Fet (5,0 %) verstarb antenatal.

Parameter	Anzahl
Geschlecht	Weiblich: 15/20 Männlich: 5/20
Geburtsgewicht [g]	<1000: 2/20 1000-1500: 6/20 1500-2500: 11/20 ≥2500: 1/20
1'-Apgar <7	11/20
5'-Apgar <7	3/20
Early-onset Neugeborenen-Sepsis	2/20
Late-onset NG-Sepsis	1/20
Keime bei NG-Sepsis	B-Streptokokken: 1/3 E. coli: 1/3 Staph. epidermidis: 1/3
V.a. NG-Infektion, kein Keimnachweis	13/20
Antibiose	16/20
Intraventrikuläre Hämorrhagie	0/20
Persistierender Ductus arteriosus	1/20
Nekrotisierende Enterokolitis	0/20
Atemnotsyndrom	5/20
Bronchopulmonale Dysplasie	1/20
Lungenhypoplasie	1/20
Retinopathia praematurorum	2/20
Periventrikuläre Leukomalazie	0/20
Hypoglykämie	5/20
Intrauteriner Fruchttod	1/20

Tabelle 15: Das Outcome der Neugeborenen

#### 4.3.2 IL-6 im Zusammenhang mit dem Apgar-Score

Um die Adaption des Neugeborenen an die Umwelt zu beurteilen, wird in der Neonatologie der Apgar-Score verwendet. Hierfür werden definierten neonatalen Parametern 0-2 Punkte zugewiesen und die Summe entsprechend beurteilt. Bei Werten  $\geq 7$  gilt das Neugeborene als lebensfrisch. Die Apgar-Werte nach einer und nach fünf Lebensminuten wurden hinsichtlich der ELISA-IL-6 Werte zum Zeitpunkt dtb-0 bzw. dtb-1, falls am Tag der Geburt keine Probengewinnung möglich war, und hinsichtlich der postnatalen IL-6 Werte aus dem Nabelschnurblut analysiert. Insgesamt wurde für sieben der elf lebendgeborenen Frühchen (63,6 %) mit adäquaten Fruchtwasserproben ein 1-Minuten Apgar-Score  $< 7$  vergeben. Bei sechs dieser Neugeborenen (85,7 %) wurden im Fruchtwasser IL-6 Konzentrationen  $\geq 820$  pg/ml gemessen, siehe Tabelle 16. Waren die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut über den Labor-Referenzwert von  $\geq 50$  pg/ml erhöht, betrug der 1-Minuten Apgar-Score in zwei von drei Fällen (66,7 %) Werte  $< 7$ .

Pat.-Nr.	SSW bei Geburt	IL-6 FW [pg/ml]	IL-6 NB [pg/ml]	1-Minuten Apgar-Score <7 (+)
12	33+6	225	9	+
11	33+6	253	9	-
3	31+2	486	21,5	-
7	34+5	820	20	+
4	34+1	1141	54,5	+
1	31+1	5843	17	-
10	33+3	5881	9	+
6	28+2	6619	13	+
9	29+5	19454	50	+
2	27+3	39744	55	-
5	25+5	114113	40,5	+

Tabelle 16: IL-6 Konzentrationen aus Fruchtwasser, Nabelschnurblut und der 1-Minuten Apgar-Score

Ein 5-Minuten Apgar-Score <7 wurde für eins der elf Frühgeborenen (9,1 %) vergeben. Die IL-6 Konzentration aus dem Fruchtwasser betrug in diesem Fall 114113 pg/ml. Der IL-6 Wert aus dem Nabelschnurblut war nicht über den labortechnischen Referenzwert von 50 pg/ml erhöht, siehe Tabelle 17.

Pat.-Nr.	SSW bei Geburt	IL-6 FW [pg/ml]	IL-6 NB [pg/ml]	5-Minuten Apgar-Score <7 (+)
12	33+6	225	9	-
11	33+6	253	9	-
3	31+2	486	21,5	-
7	34+5	820	20	-
4	34+1	1141	54,5	-
1	31+1	5843	17	-
10	33+3	5881	9	-
6	28+2	6619	13	-
9	29+5	19454	50	-
2	27+3	39744	55	-
5	25+5	114113	40,5	+

Tabelle 17: IL-6 Konzentrationen aus Fruchtwasser, Nabelschnurblut und der 5-Minuten Apgar-Score

Die IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser und dem Nabelschnurblut wurden hinsichtlich eines statistisch signifikanten Unterschieds zwischen den Gruppen 1-Minuten Apgar-Score <7 und  $\geq 7$  untersucht. Hierbei konnte kein signifikanter Unterschied berechnet werden. Die mittlere IL-6 Konzentration (*Mittelwert*, MW) aus dem Fruchtwasser der Gruppe 1-Minuten Apgar-Score <7 war jedoch mit 24518,7 pg/ml (225 pg/ml – 114113 pg/ml) etwa doppelt so hoch wie die der Gruppe 1-Minuten Apgar-Score  $\geq 7$  (MW: 13494,3 pg/ml; 253 pg/ml – 39744 pg/ml). Für die IL-6 Werte aus dem Nabelschnurblut konnte ebenso eine höhere mittlere Konzentration der

Interleukinwerte für die Gruppe 1-Minuten Apgar-Score <7 berechnet werden als für die Gruppe 1-Minuten Apgar-Score  $\geq 7$  ( $MW_{<7}$ : 28 pg/ml; 9 pg/ml – 54,5 pg/ml;  $MW_{\geq 7}$ : 25,6 pg/ml; 9 pg/ml – 55 pg/ml).

#### 4.3.3 IL-6 im Zusammenhang mit dem Geburtsgewicht

Zwischen den IL-6 Werten aus dem Fruchtwasser und dem Geburtsgewicht wurde eine negative Korrelation berechnet ( $r_{FW}=-0,47$ ). Je leichter die Frühgeborenen waren, desto höher waren die pränatalen Entzündungswerte im Fruchtwasser, siehe Abbildung 15. Die Korrelation war nicht signifikant. Zwischen IL-6 aus dem Nabelschnurblut und dem Geburtsgewicht wurde keine Korrelation festgestellt ( $r_{NB}=-0,026$ ).

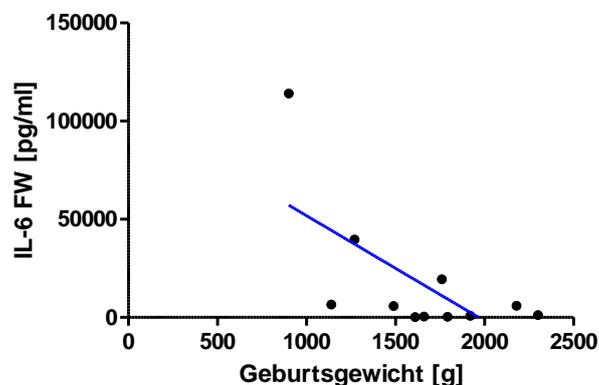


Abbildung 15: Korrelation von IL-6 aus dem Fruchtwasser (dtb-0) und dem Geburtsgewicht

#### 4.3.4 Analyse des IL-6 aus Fruchtwasser und Nabelschnurblut

Im Vergleich der pränatalen IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser mit den postnatalen IL-6 Werten aus dem Nabelschnurblut ließen sich jeweils positive nicht signifikante Korrelationen feststellen. Diese betragen  $r_{dtb-1}=0,69$  und  $r_{dtb-2}=0,59$ . Je höher die IL-6 Konzentrationen pränatal im Fruchtwasser gemessen wurden, desto größer sind im Mittel auch deren Konzentrationen postnatal im Nabelschnurblut zu erwarten. Eine entsprechende Tendenz zeigt die Trendlinie der Ergebnisse dieser Studie, siehe Abbildung 16.

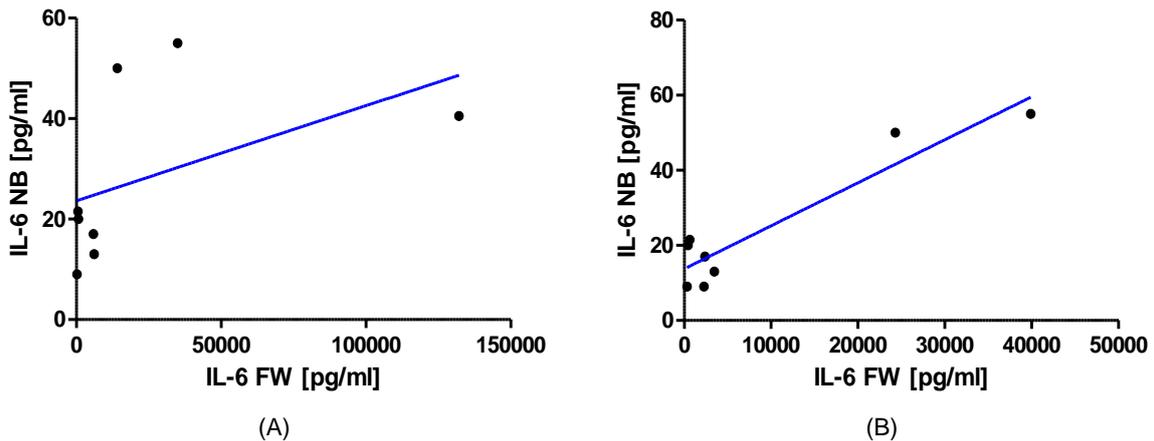


Abbildung 16: Korrelation von IL-6 aus dem Fruchtwasser und dem Nabelschnurblut, dtb-1 (A), dtb-2 (B)

#### 4.3.5 Fetales Inflammationssyndrom in Korrelation zum Amnioninfektionssyndrom

Das fetale Inflammationssyndrom, das mit erhöhten IL-6 Konzentrationen einhergeht, wurde hinsichtlich eines vermehrten Auftretens bei einem Amnioninfektionssyndrom untersucht.

Das IL-6 aus dem Nabelschnurblut war bei fünf Frühgeborenen (Pat.-Nr. 2, 4, 9, 14, 15) am ersten Lebenstag über den labortechnischen Referenzwert von  $\geq 50$  pg/ml erhöht (50 pg/ml – 36625 pg/ml). Bei diesen Kindern zeigte sich demnach per definitionem ein FIRS. Die jeweiligen IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser am Tag der Geburt betragen im Mittel 15171,3 pg/ml (346 pg/ml – 39744 pg/ml, ELISA) und 6302,8 pg/ml (124 pg/ml – 10001 pg/ml, POCT). Insgesamt bestätigte sich bei drei Schwangeren postpartal anhand der Plazentahistologie ein Amnioninfektionssyndrom (Pat.-Nr. 2, 5, 8). Bei zwei Schwangeren (Pat.-Nr. 14, 20) bestand aufgrund bakterieller Keimbesiedelung und systemischen Infektzeichen zusätzlich der V.a. AIS. Demnach entwickelte ein Neugeborenes, das intrauterin gesichert einem AIS ausgesetzt war, ein FIRS mit einem IL-6<sub>NB</sub> von 55 pg/ml (Pat.-Nr. 2). Die IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser betragen in diesem Fall am Tag der Geburt 39744 pg/ml (ELISA) und 10001 pg/ml (POCT), die Dauer des PPRM betrug 368 h. Das Frühgeborene von Pat.-Nr. 5 entwickelte am 10. Lebenstag eine späte Neugeborenen-Sepsis mit einem zu diesem Zeitpunkt erhöhten IL-6 aus dem Plasma von 451,0 pg/ml. Am ersten Lebenstag zeigte sich das IL-6<sub>NB</sub> mit 40,5 pg/ml noch normwertig. Die IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser waren entsprechend des AIS erhöht (114113 pg/ml, ELISA; 736 pg/ml, POCT). Die Latenzperiode vom Zeitpunkt des Blasensprungs bis zur Geburt betrug 1241 h. Bei Pat.-Nr. 8 ereignete sich mit 23+6 SSW nach einem PPRM von

302 h der intrauterine Fruchttod. Die IL-6 FW-Konzentration betrug 37494 pg/ml (ELISA), mittels POCT wurde das IL-6 bei blutiger Fruchtwasserprobe normwertig gemessen (49 pg/ml). Das Frühgeborene von Pat.-Nr. 14 mit dem V.a. AIS und einem IL-6<sub>NB</sub> von 36625 pg/ml (IL-6 FW<sub>ELISA</sub> n.a., IL-6 FW<sub>POCT</sub> 10001 pg/ml) entwickelte eine frühe NG-Sepsis, in der Blutkultur zeigte sich das Wachstum von *E. coli*. Bei V.a. AIS erfolgte zuvor nach 23 h Blasensprung die eilige Sectio caesarea. Im Plazenta- sowie im Eihaut-Abstrich wurde *E. coli* nachgewiesen. Vaginal, zervikal und perianal zeigten sich zusätzlich B-Streptokokken. Das Neugeborene von Pat.-Nr. 4 mit einem leicht erhöhten IL-6<sub>NB</sub> von 54,5 pg/ml (IL-6 FW<sub>ELISA</sub> 1141 pg/ml, IL-6 FW<sub>POCT</sub> 1387 pg/ml) wurde zunächst bei V.a. NG-Infektion antibiotisch behandelt. In der Blutkultur zeigte sich kein Wachstum von pathogenen Keimen, sodass bei rückläufigen Entzündungswerten und klinisch gutem Allgemeinzustand die antibiotische Therapie nach drei Tagen beendet werden konnte. Im Plazenta-Abstrich wurde *E. coli* detektiert, die Dauer des PPRM betrug 292 h. Bei Pat.-Nr. 9 zeigte sich nach 230 h Blasensprung das IL-6<sub>NB</sub> des Neugeborenen mit 50 pg/ml grenzwertig (IL-6 FW<sub>ELISA</sub> 19454 pg/ml, IL-6 FW<sub>POCT</sub> 10001 pg/ml). Auch hier zeigte sich die Blutkultur steril, im Ohrabstrich wurde *E. coli* detektiert. Im vaginalen Abstrich der Mutter konnten acht Tage vor Geburt B-Streptokokken und *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden, im perianalen Abstrich zusätzlich *E. coli*. Auch in diesem Fall wurde bei V.a. Neugeborenen-Infektion zunächst antibiotisch behandelt, bei rückläufigen Entzündungsparametern konnte nach drei Tagen die Therapie beendet werden. Das Neugeborene von Pat.-Nr. 15 mit einem IL-6<sub>NB</sub> von 71,5 pg/ml (IL-6 FW<sub>ELISA</sub> 346 pg/ml, IL-6 FW<sub>POCT</sub> 124 pg/ml) wurde ebenso bei V.a. NG-Infektion bis zum Nachweis einer sterilen Blutkultur und rückläufigen Infektparametern für insgesamt zwei Tage antibiotisch behandelt. Bei der Mutter zeigte sich pränatal im vaginalen Abstrich eine Mischflora mit *E. faecalis*, perianal zeigte sich *E. coli*. Der Blasensprung ereignete sich 7 Stunden vor Geburt.

Die IL-6 NB-Werte der Neugeborenen, die intrauterin einem gesicherten AIS ausgesetzt waren oder bei deren Müttern der V.a. AIS bestand, waren signifikant höher ( $p=0,016$ ) als die Konzentrationen in der Kontrollgruppe ohne Infektion, siehe Abbildung 17.

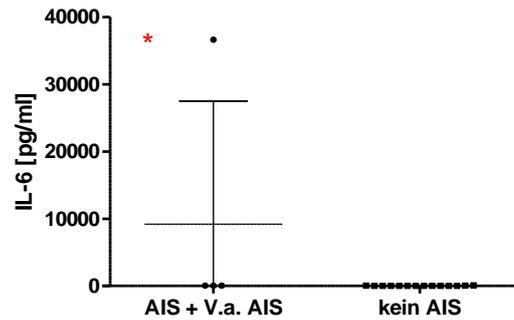


Abbildung 17: Vergleich der IL-6 Werte aus dem Nabelschnurblut bezüglich gesichertem+V.a. AIS/ kein AIS

Gleiches galt für die IL-6 Werte, die in den letzten drei Tagen vor Geburt aus dem Fruchtwasser gemessen wurden. In der Kohorte mit AIS wurden signifikant höhere IL-6 Konzentrationen gemessen als in der Kohorte ohne AIS. Repräsentativ ist im Folgenden die statistische Signifikanzberechnung am Tag der Geburt mit  $p=0,0167$  dargestellt, siehe Abbildung 18.

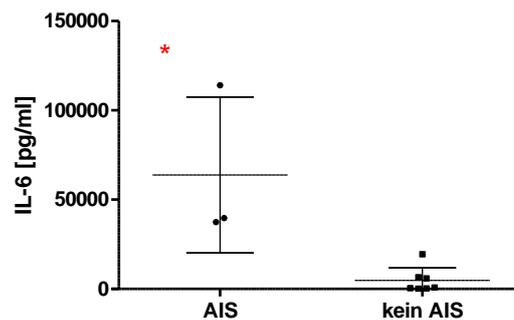


Abbildung 18: Vergleich der IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser (dtb-0) bezüglich AIS/ kein AIS

#### 4.3.6 Verhalten der Entzündungswerte bezüglich neonataler Krankheitsbilder

Das Auftreten der frühgeburtsassoziierten Krankheitsbilder RDS und Sepsis wurde hinsichtlich eines möglichen Zusammenhangs mit erhöhten Interleukinen aus dem Fruchtwasser untersucht. Zusätzlich erfolgte die Analyse des mütterlichen und des kindlichen CRP im Hinblick auf ein RDS sowie die Auswertung der IL-6 Werte im Vergleich zum CRP.

##### 4.3.6.1 Analyse der Entzündungsparameter bezüglich des RDS

Wie die folgenden Abbildungen 19, 20 und 21 zeigen, liegen die mittleren Zytokinkonzentrationen in der Kohorte mit RDS höher als in der Kontrollgruppe ohne RDS. Ein signifikanter Unterschied in der Höhe der Fruchtwasserkonzentrationen ergab sich nicht. Gleiches galt für die Analyse der IL-8 sowie der TNF- $\alpha$  Werte.

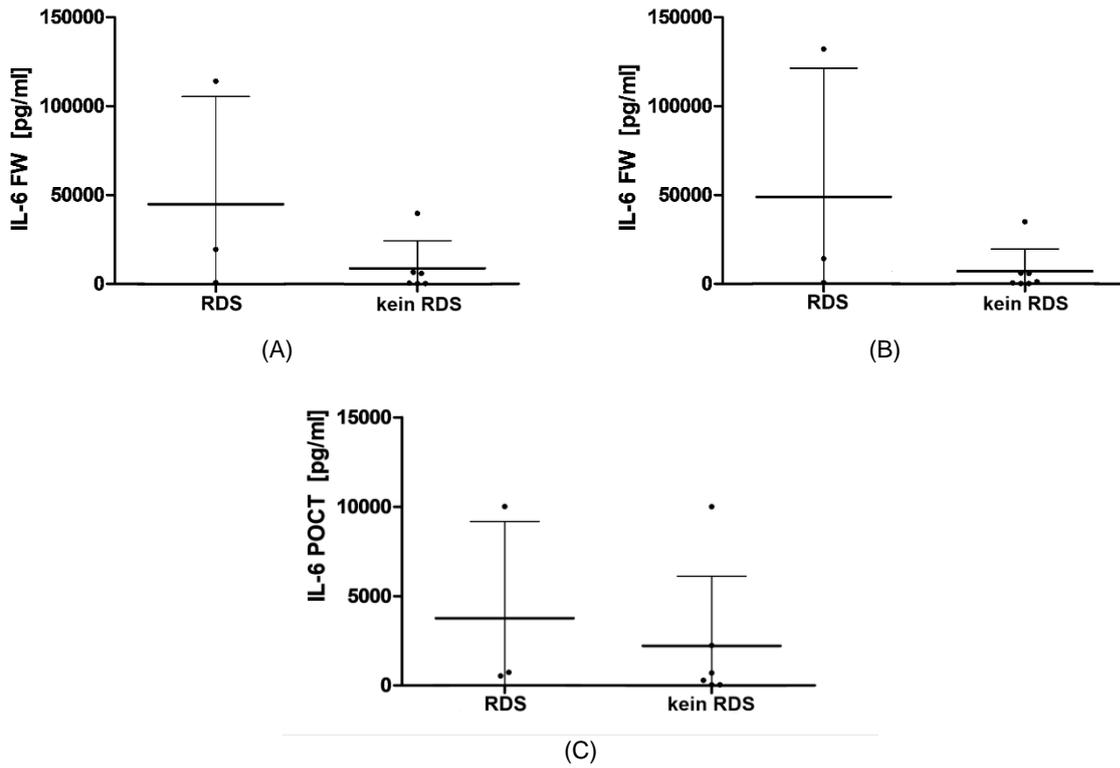


Abbildung 19: Vergleich der IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-1 mittels ELISA (B), dtb-0 mittels POCT (C)

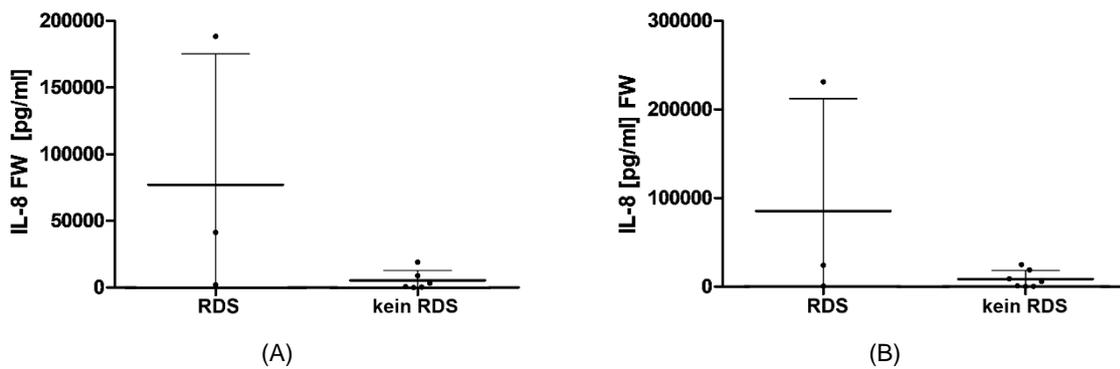


Abbildung 20: Vergleich der IL-8 Werte aus dem Fruchtwasser bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-1 mittels ELISA (B)

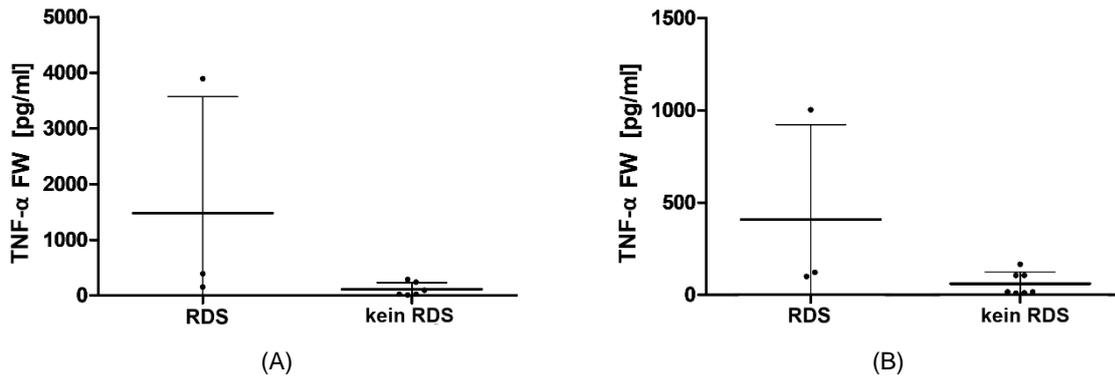


Abbildung 21: Vergleich der TNF- $\alpha$  Werte aus dem Fruchtwasser bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-1 mittels ELISA (B)

Weiterhin wurde untersucht, ob sich die Kohorte mit RDS anhand des kindlichen bzw. maternalen CRP signifikant von der Kontrollgruppe unterschied. In der Gruppe mit RDS zeigten sich im Vergleich zur Kontrollgruppe höhere Mittelwerte, ein signifikanter Unterschied ließ sich nicht feststellen, siehe Abbildung 22.

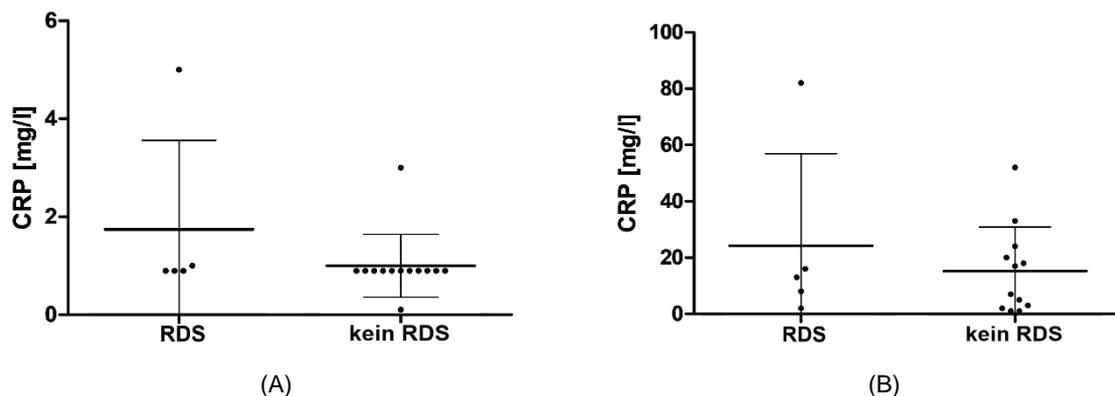


Abbildung 22: Vergleich des CRP bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; kindliches CRP und RDS (A), mütterliches CRP und RDS (B)

#### 4.3.6.2 Analyse der Entzündungsparameter bezüglich einer Sepsis

Die Zytokinkonzentrationen der letzten drei Tage vor Geburt wurden weiterhin im Hinblick auf eine Sepsis untersucht. Bei zwei der eingeschlossenen Frühgeborenen wurde innerhalb der ersten 72 Lebensstunden eine frühe, bei einem Frühchen nach 72 Stunden eine späte Neugeborenen-Sepsis diagnostiziert. Insgesamt kam es folglich bei drei der 19 lebendgeborenen Frühgeborenen zu einer Sepsis. Bei zweien lagen Fruchtwasserproben der Mütter vor. Abbildung 23 veranschaulicht, dass die IL-6 Werte der Kohorte mit Sepsis im Mittel deutlich höher lagen als die der Kohorte ohne Sepsis, dargestellt zu den Zeitpunkten dtb-0 und dtb-3.

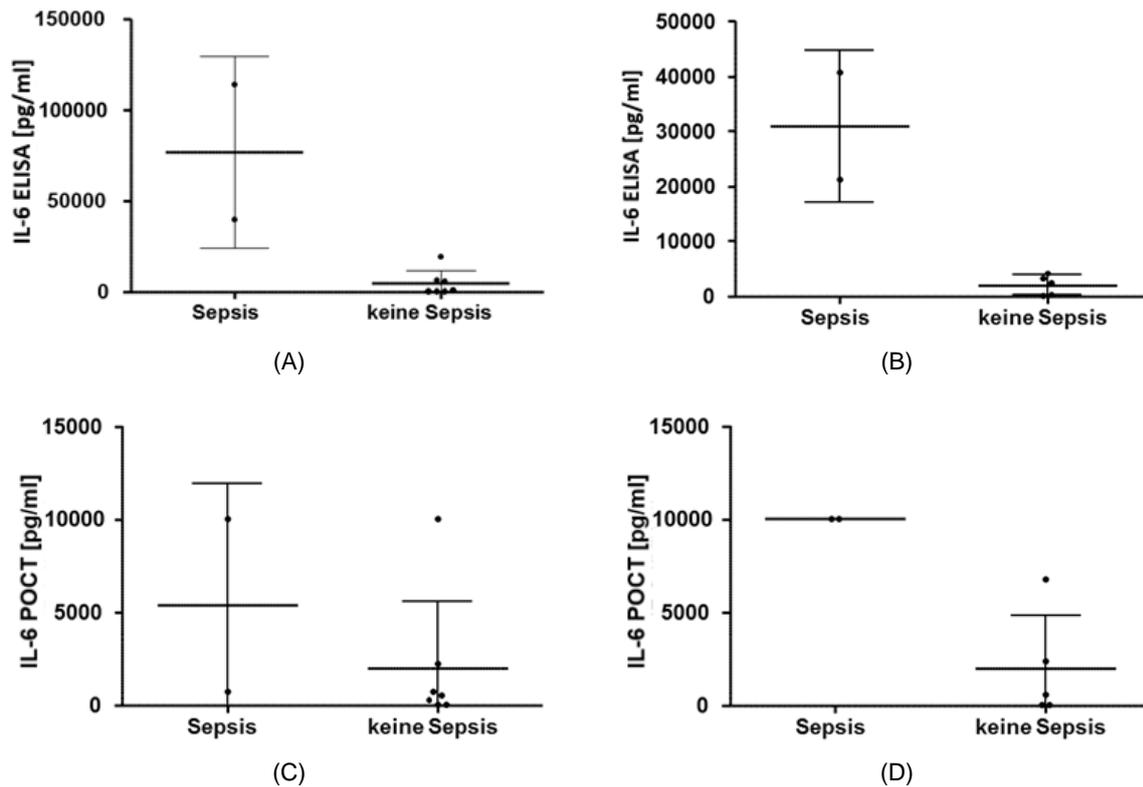


Abbildung 23: IL-6 Konzentrationen bezogen auf die Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-3 mittels ELISA (B), dtb-0 mittels POCT (C), dtb-3 mittels POCT (D)

Dies galt sowohl für die Interleukinwerte, die mittels ELISA gemessen wurden, als auch für diejenigen des POCT. Die mittels ELISA gemessenen IL-6 FW-Werte waren  $\geq 21185$  pg/ml, siehe Tabelle 18.

Zeitpunkt	Mittel-, Maximal-, Minimalwert	IL-6 [pg/ml] Sepsis	IL-6 [pg/ml] keine Sepsis
dtb-3	MW IL-6	30930,5 pg/ml	2040,8 pg/ml
	min	21185 pg/ml	103 pg/ml
	max	40676 pg/ml	4176 pg/ml
dtb-2	MW IL-6	38977 pg/ml	3918,4 pg/ml
	min	38977 pg/ml	58 pg/ml
	max	38977 pg/ml	24290 pg/ml
dtb-1	MW IL-6	83538,5 pg/ml	3618,3 pg/ml
	min	34963 pg/ml	203 pg/ml
	max	132114 pg/ml	14157 pg/ml
dtb-0	MW IL-6	76928,5 pg/ml	4819,7 pg/ml
	min	39744 pg/ml	225 pg/ml
	max	114113 pg/ml	19454 pg/ml

Tabelle 18: IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser (ELISA) in den Kohorten Sepsis/ keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0

Der POCT maß in diesen Fällen Werte  $\geq 10000$  pg/ml, siehe Tabelle 19. Bei dem einmalig unter  $< 10000$  pg/ml gemessenen Wert war die Fruchtwasserprobe blutig und nicht valide verwertbar.

Zeitpunkt	Mittel-, Maximal-, Minimalwert	IL-6 [pg/ml] Sepsis	IL-6 [pg/ml] keine Sepsis
dtb-3	MW IL-6	10001 pg/ml	1969 pg/ml
	min	10001 pg/ml	49 pg/ml
	max	10001 pg/ml	6798 pg/ml
dtb-2	MW IL-6	10001 pg/ml	2188,6 pg/ml
	min	10001 pg/ml	49 pg/ml
	max	10001 pg/ml	10001 pg/ml
dtb-1	MW IL-6	10001 pg/ml	1943 pg/ml
	min	10001 pg/ml	49 pg/ml
	max	10001 pg/ml	10001 pg/ml
dtb-0	MW IL-6	5368,5 pg/ml	1980,7 pg/ml
	min	736 pg/ml	49 pg/ml
	max	10001 pg/ml	10001 pg/ml

Tabelle 19: IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser (POCT) in den Kohorten Sepsis/ keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0

Die jeweiligen Mittelwerte der IL-8 Konzentrationen in der Kohorte mit einer Sepsis lagen ebenfalls über denen der Kontrollgruppe, siehe Abbildung 24, graphisch dargestellt zu den Zeitpunkten dtb-0 und dtb-3.

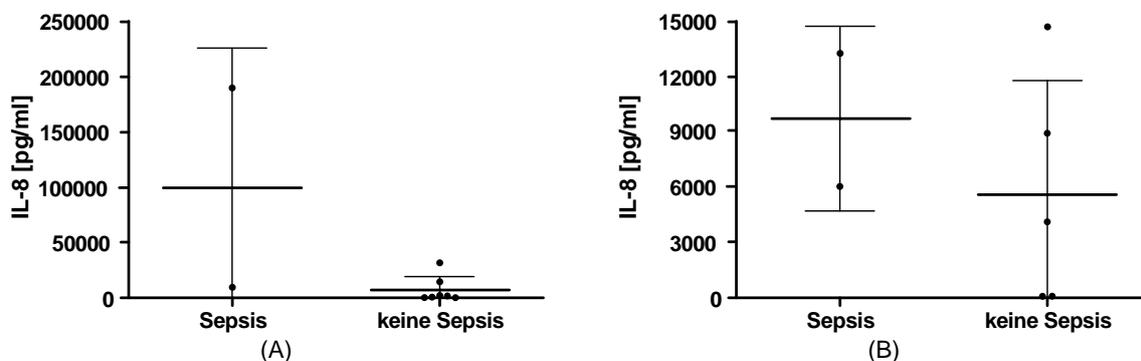


Abbildung 24: IL-8 Konzentrationen bezogen auf die Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; dtb-0 (A), dtb-3 (B)

In der Kohorte mit Sepsis wurden für die IL-8 Konzentrationen Werte  $\geq 6142$  pg/ml gemessen. Der größte Anstieg der Mittelwerte zeigte sich zum Zeitpunkt dtb-1. Hier betrug die mittlere IL-8 Konzentration 120031,6 pg/ml in der Fallgruppe und war um das 12,7-fache höher als in der Kontrollgruppe (IL-8<sub>MW</sub> 9443,9 pg/ml). Die Darstellung der Mittel-, Minimal- und Maximalwerte zeigt Tabelle 20.

Zeitpunkt	Mittel-, Maximal-, Minimalwert	IL-8 [pg/ml] Sepsis	IL-8 [pg/ml] keine Sepsis
dtb-3	MW IL-8	9679 pg/ml	5578,8 pg/ml
	min	6142 pg/ml	95 pg/ml
	max	13216 pg/ml	14708 pg/ml
dtb-2	MW IL-8	8322 pg/ml	6981,5 pg/ml
	min	8322 pg/ml	59 pg/ml
	max	8322 pg/ml	26171 pg/ml
dtb-1	MW IL-8	120031,6 pg/ml	9443,9 pg/ml
	min	8879 pg/ml	118 pg/ml
	max	231184 pg/ml	24842 pg/ml
dtb-0	MW IL-8	98660,5 pg/ml	9589 pg/ml
	min	8966 pg/ml	113 pg/ml
	max	188355 pg/ml	41337 pg/ml

Tabelle 20: IL-8 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser in den Kohorten Sepsis/ keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0

Abbildung 25 zeigt die Verteilung der TNF- $\alpha$  Konzentrationen in den jeweiligen Kohorten. Hier ist gleichermaßen zu erkennen, dass die jeweiligen Mittelwerte zu den Zeitpunkten dtb-0 und dtb-3 in der Fallgruppe höher lagen als in der Kontrollgruppe.

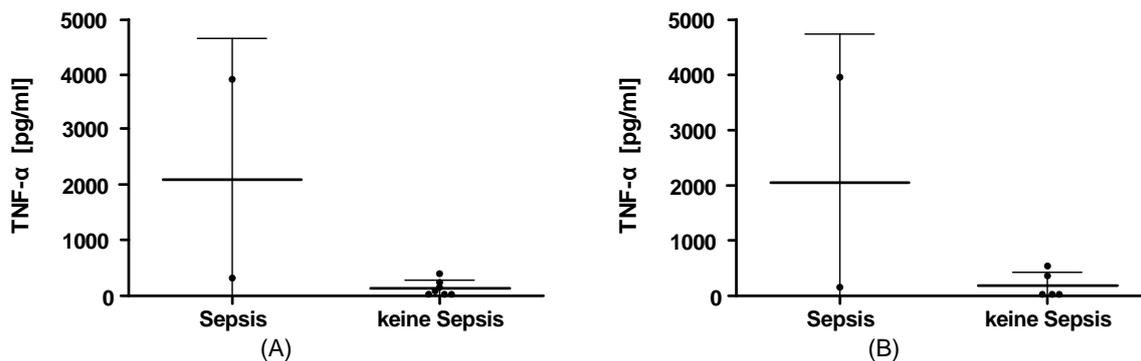


Abbildung 25: TNF- $\alpha$  Konzentrationen bezogen auf die Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; dtb-0 (A), dtb-3 (B)

Für die Fallgruppe ließen sich TNF- $\alpha$  Konzentrationen von  $\geq 151$  pg/ml messen, die größte Differenz in der Höhe der Mittelwerte zeigte sich am Tag der Geburt. In der Kohorte mit Sepsis betrug der Mittelwert 2086,5 pg/ml und war um das 15,8-fache höher als in der Kontrollgruppe (TNF- $\alpha_{MW}$  132 pg/ml), siehe Tabelle 21.

Zeitpunkt	Mittel-, Maximal-, Minimalwert	TNF- $\alpha$ [pg/ml] Sepsis	TNF- $\alpha$ [pg/ml] keine Sepsis
dtb-3	MW TNF- $\alpha$	2048 pg/ml	188,4 pg/ml
	min	151 pg/ml	2 pg/ml
	max	3945 pg/ml	540,0 pg/ml
dtb-2	MW TNF- $\alpha$	213 pg/ml	82,7 pg/ml
	min	213 pg/ml	0 pg/ml
	max	213 pg/ml	252 pg/ml
dtb-1	MW TNF- $\alpha$	584,5 pg/ml	60,4 pg/ml
	min	166 pg/ml	9 pg/ml
	max	1003 pg/ml	122 pg/ml
dtb-0	MW TNF- $\alpha$	2086,5 pg/ml	132 pg/ml
	min	285 pg/ml	7 pg/ml
	max	3888 pg/ml	390 pg/ml

Tabelle 21: TNF- $\alpha$  Konzentrationen aus dem Fruchtwasser in den Kohorten Sepsis/ keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0

Die Einzelverläufe der jeweiligen Zytokinkonzentrationen sind in Abbildung 26 dargestellt. Diejenigen der Kohorte mit Sepsis lagen mehrheitlich über denen der Kontrollgruppe.

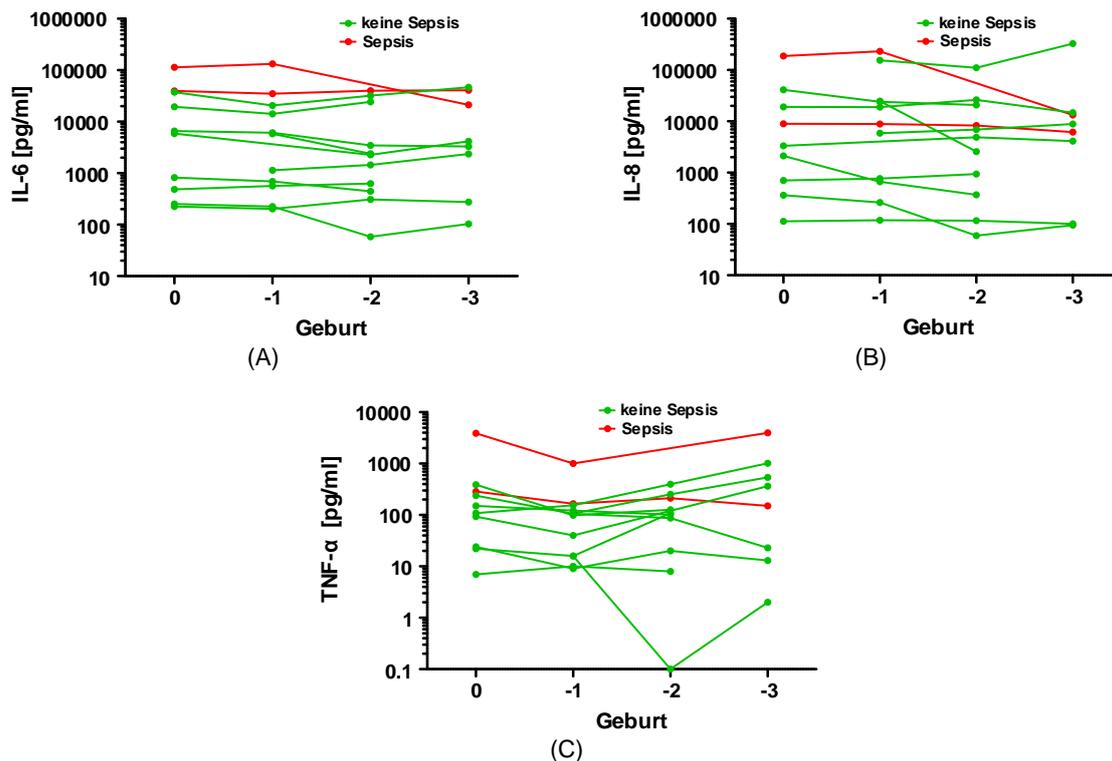


Abbildung 26: Verlauf der Zytokinkonzentrationen in den Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; IL-6 (A), IL-8 (B), TNF- $\alpha$  (C)

#### 4.3.6.3 Korrelation der Entzündungsparameter IL-6 und CRP

Die Analyse der IL-6 Werte aus dem Nabelschnurblut mit den neonatalen CRP Werten ergab mit  $r=0,55$  eine positive Korrelation. Diese war mit  $p=0,018$  signifikant, siehe Abbildung 27. Je höher die Interleukine postnatal im Nabelschnurblut gemessen wurden, desto höher waren auch die CRP Werte aus dem Serum.

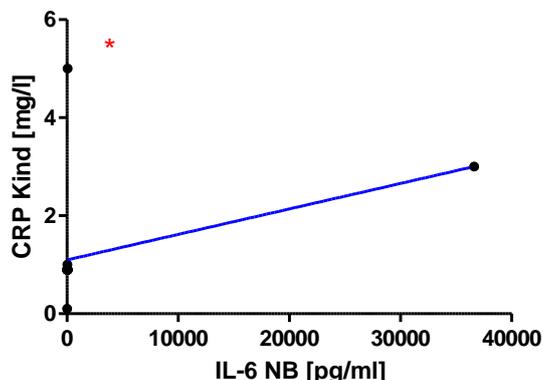


Abbildung 27: Korrelation von IL-6 aus dem Nabelschnurblut und kindlichem CRP

Zwischen den IL-6-Werten aus dem Fruchtwasser und dem kindlichen CRP fand sich keine signifikante Korrelation, ebenso wenig zwischen dem mütterlichen CRP und den kindlichen Entzündungswerten.

#### 4.3.7 Interleukinwerte und Nachweis pathogener Keime

Tabelle 22 zeigt die Verteilung der IL-6 Nabelschnurblut- und Fruchtwasserwerte im Zusammenhang mit dem Nachweis pathogener Keime am 1. Lebenstag, dem Schwangerschaftsalter bei Geburt sowie dem vorausgegangenen Geburtsmodus.

Die beiden Fälle der EOS wurden durch *E. coli* (Pat.-Nr. 14) bzw. *B-Streptokokken* (Pat.-Nr. 2) verursacht. Die IL-6 Werte im Nabelschnurblut waren in diesen Fällen über den labortechnischen Referenzwert von 50 pg/ml erhöht. War *E. coli* der Infektionsauslöser, betrug die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut 36625 pg/ml, im Fall von *B-Streptokokken* 55 pg/ml. In beiden Fällen waren die Kinder per Sectio caesarea geboren worden. In drei der fünf Fälle mit einem IL-6 NB-Wert  $\geq 50$  pg/ml erfolgte die Geburt per Sectio. Die Blutkulturen der beiden Frühgeborenen, die vaginal entbunden wurden, zeigten keinen Keimnachweis, allerdings war in diesen Fällen das maternale CRP am Tag der Geburt mit 24 mg/l bzw. mit 16 mg/l über den Referenzwert von  $< 5$  mg/l erhöht. Das Neugeborene, das eine LOS entwickelte (Pat.-Nr. 5), zeigte erst am zehnten Lebenstag eine positive Blutkultur mit grampositiven *Staph. epidermidis*.

Pat.-Nr.	SSW bei Geburt	IL-6 NB [pg/ml]	IL-6 FW [pg/ml], dtb-0 ELISA	IL-6 FW [pg/ml], dtb-0 POCT	Pathogener Keimnachweis	Geburtsmodus Sectio (s), vaginal (v)
14	31+1	36625	n.a.	10001	E.coli	s
15	32+5	71,5	346	124	-	v
2	27+3	55	39744	10001	B-Streptokokken	s
4	34+1	54,5	1141	1387	-	s
9	29+5	50	19454	10001	-	v
5	25+5	40,5	114113	736	-	v
20	30+0	40	n.a.	n.a.	-	s
18	28+0	32,5	n.a.	n.a.	-	s
16	26+3	23,5	n.a.	n.a.	-	s
3	31+2	21,5	486	288	-	v
7	34+5	20	820	526	-	v
1	31+1	17	5843	10001	-	s
6	28+2	13	6619	2241	-	s
19	31+3	10	n.a.	n.a.	-	s
10	33+3	<10	5881	711	-	s
11	33+6	<10	253	<50	-	s
13	34+6	<10	n.a.	n.a.	-	s
12	33+6	<10	225	<50	-	s
17	35+0	n.a.	n.a.	n.a.	-	v

Tabelle 22: Schwangerschaftsalter bei Geburt, IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut, im Fruchtwasser, Nachweis pathogener Keime und Geburtsmodus

Es erfolgte die statistische Signifikanzberechnung im Hinblick auf die Höhe der IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut und im Fruchtwasser bezogen auf die Kohorten mit versus ohne pathologischem Keimnachweis.

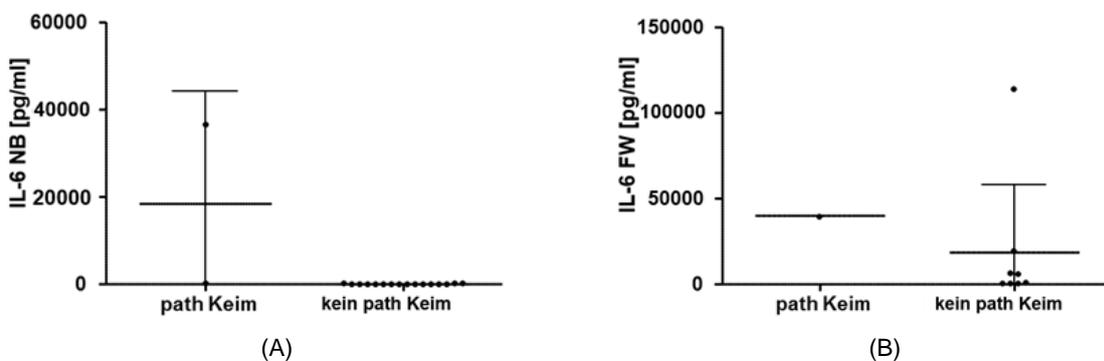


Abbildung 28: Statistischer Unterschied von IL-6 im Nabelschnurblut (A) und im Fruchtwasser, dtb-0 (B) bezogen auf den Nachweis pathogener Keime

Abbildung 28 verdeutlicht, dass beim Nachweis pathogener Keime in der Blutkultur die IL-6 Konzentrationen sowohl im Nabelschnurblut als auch im Fruchtwasser am Tag der Geburt im Mittel höher lagen als ohne deren Nachweis [ $MW_{\text{path-NB}}$ : 18340 pg/ml (55 pg/ml – 36625 pg/ml) vs.  $MW_{\text{apath-NB}}$ : 26,9 pg/ml (9 pg/ml – 71,5 pg/ml);  $MW_{\text{path-FW}}$ : 39744 pg/ml (39744 pg/ml) vs.  $MW_{\text{apath-FW}}$ : 18481,4 pg/ml (225 pg/ml – 114113 pg/ml)]. Die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut waren bei einem positiven Keimnachweis am 1. Lebenstag über den Referenzwert von  $\geq 50$  pg/ml erhöht, die IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser betragen 39744 pg/ml (ELISA) und  $\geq 10000$  pg/ml (POCT).

## 5 Diskussion

Zytokine sind nicht nur beim PPRM und der Frühgeburt erhöht, sondern steigen auch im Rahmen der termingerechten Geburt an. Beim PPRM und der Frühgeburt sind deren Konzentrationen allerdings infektionsgetriggert deutlich höher als bei den physiologisch ablaufenden Geburtsprozessen [60]. Somit ist eine stark erhöhte Zytokinkonzentration sowohl mit einer drohenden Frühgeburt als auch mit einem FIRS und einem schlechteren neonatalen Outcome assoziiert.

### 5.1 Analyse der Interleukinwerte aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser

#### 5.1.1 Analyse des Interleukin-6

Im Rahmen von ascendierenden urogenitalen Infektionen wie dem Amnioninfektionssyndrom und dem assoziierten Risiko für einen frühen vorzeitigen Blasensprung, eine Frühgeburt und ein FIRS muss ein besonderes Augenmerk auf IL-6 gelegt werden. In verschiedenen Studien zur Frühgeburtlichkeit wurde sowohl bei Untersuchungen der spontanen versus der indizierten Frühgeburt [61] als auch bei Nachweis von Mikroorganismen [62] eine erhöhte Zytokinkonzentration nachgewiesen [18,61,62]. In einer Studie von Ahmed et al. wurden im Serum der Schwangeren mit einer histologisch gesicherten Chorioamnionitis signifikant höhere IL-6 Konzentrationen zum Zeitpunkt der Geburt gemessen [63]. Romero et al. legten für das IL-6 aus dem Fruchtwasser einen Cut-off Wert von 2600 pg/ml für eine intraamniotische Entzündungsreaktion fest. Sowohl die mittleren IL-6 als auch die mittleren IL-8 Konzentrationen aus dem Nabelschnurblut waren bei Vorliegen einer Chorioamnionitis signifikant höher als in der Kontrollgruppe [64]. Diese Aussagen lassen sich mit den vorliegenden Ergebnissen stützen, auch wenn die Zytokine bei Ahmet et al. im Serum und nicht wie in vorliegender Studie im Fruchtwasser gemessen wurden. Die Schwangeren mit Funisitis, Amnionitis oder AIS (N=3) wiesen in den letzten drei Tagen vor Geburt deutlich erhöhte IL-6 Konzentrationen  $\geq 20600$  pg/ml (max.: 132114 pg/ml) im Fruchtwasser auf. Diese waren im Mittel signifikant ( $p \leq 0,05$ ) höher als die IL-6 Konzentrationen in der Gruppe ohne Funisitis, Amnionitis oder AIS und lagen ebenfalls deutlich über dem von Romero et al. definierten Cut-off Wert [64]. Zusätzlich wurden die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut der Neugeborenen von Schwangeren mit einem AIS und dem Verdacht auf ein AIS im Vergleich zu den Nabelschnurblutwerten der Kinder von gesunden Schwangeren signifikant ( $p=0,016$ )

erhöht gemessen. Diese Tatsache zeigt, dass es einen signifikanten Anstieg der Interleukine gibt, sobald eine Infektion vorliegt.

Die Forschungsgruppe um Rodriguez-Trujillo et al. legte in ihrer Studie allerdings dar, dass nicht bakterielle Keime, sondern das Schwangerschaftsalter einen größeren Einfluss auf das neonatale Outcome hätten: Sie verglichen zwei Gruppen von Schwangeren mit PPROM, deren Fruchthöhle bakteriell besiedelt war bzw. die eine intraamniotische Entzündung entwickelten, mit einer Kontrollgruppe ohne Nachweis pathogener Keime oder einer Infektion. Laut Rodriguez-Trujillo et al. führte ein pathologischer Keimnachweis oder eine intraamniotische Entzündungsreaktion bei Schwangeren mit PPROM nicht per se zu einem schlechten neonatalen Outcome, wenn das Schwangerschaftsalter bei Geburt in die statistische Analyse einging. Daraus schlossen sie, dass das Schwangerschaftsalter einen größeren Einfluss auf das neonatale Outcome habe als eine pathologische Besiedelung der Fruchthöhle oder eine ablaufende Entzündungsreaktion [65]. In vorliegender Studie entwickelte ein Neugeborenes ( $SSA_{\text{Geburt}}=27+3$  SSW) der Schwangeren mit gesichertem AIS ( $N=3$ ) eine EOS und eines ( $SSA_{\text{Geburt}}=25+5$  SSW) eine LOS. Ein Kind starb intrauterin mit  $23+6$  SSW am intrauterinen Fruchttod. Da die Interleukinkonzentrationen bei einem AIS signifikant erhöht waren und die IL-6 Werte ebenso signifikant negativ mit dem Schwangerschaftsalter sowohl bei Geburt als auch bei Eintreten des frühen vorzeitigen Blasensprungs korrelierten, kann folglich nicht unterschieden werden, ob die erhöhten IL-6 Konzentrationen oder das Schwangerschaftsalter ursächlich für die systemischen Entzündungsreaktionen und das neonatale Outcome waren. Bestätigen lässt sich allerdings, dass eine intraamniotische Entzündung mit erhöhten IL-6 Konzentrationen zu einem schlechteren Neugeborenen-Outcome führte. Wie die signifikante negative Korrelation zeigt, waren die IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser umso höher, je früher sich der Blasensprung ereignete und je früher die Kinder geboren wurden. Im Fruchtwasser des jüngsten Frühgeborenen, das mit  $25+5$  SSW zur Welt kam ( $SSW_{\text{PPROM}}=18+2$ ), wurden IL-6 Konzentrationen von  $132114$  pg/ml (dtb-1) und  $114113$  pg/ml (dtb-0) gemessen, während dagegen im Fruchtwasser des ältesten Frühgeborenen, das mit  $34+5$  SSW geboren wurde ( $SSW_{\text{PPROM}}=31+3$ ), diese Werte  $693$  pg/ml sowie  $820$  pg/ml betragen. Bei einer Frühgeburt sollen sich die IL-6 Konzentrationen umgekehrt proportional zum Gestationsalter verhalten [61]. Diese Hypothese lässt sich mit den vorliegenden Ergebnissen bestätigen. Eine unreife

Schwangerschaft ist folglich anfälliger für Infektionen, die zu einem frühen vorzeitigen Blasensprung und zu einer früheren Entbindung führen können.

Zusätzlich wurde eine signifikante negative Korrelation zwischen dem Schwangerschaftsalter bei PPRM und der Dauer des Blasensprungs festgestellt. Die Zeit bis zur Entbindung war umso länger, je früher sich der Blasensprung in der Schwangerschaft ereignete. Laut Parry et al. setzen die Wehen ca. 24-72 Stunden nach einem vorzeitigen Blasensprung ein, wenn sich dieser nahe des errechneten Geburtstermins ereignet. Bei PPRM ist die Zeit bis zum Wehenbeginn deutlich länger und nimmt mit zunehmender Schwangerschaftsreife ab [42]. Diese Aussage kann mit vorliegenden Ergebnissen aufgrund der signifikanten negativen Korrelation bestätigt werden. Der früheste PPRM dieser Studie ereignete sich mit 18+2 SSW. In diesem Fall betrug die Zeit bis zur Geburt 1241 h. Ereignete sich dagegen der PPRM mit 34+5 SSW, wurde das Frühgeborene nach 7 h geboren. Die frühe Schwangerschaft wurde möglichst lange prolongiert. Angestrebtes Ziel des geburtshilflichen exspektativen Vorgehens ist es, die Schwangerschaft so lange wie möglich aufrecht zu erhalten, um dem Fet Zeit für eine ausreichende intrauterine Entwicklung zu geben. Ahmed et al. untersuchten weiterhin eine mögliche Korrelation zwischen der Dauer des Blasensprungs und den IL-6 Werten im maternalen Serum zum Zeitpunkt des PPRM. Diese wurde nicht als signifikant bestätigt [63]. Auch in vorliegender Studie ließ sich keine signifikante Korrelation zwischen den Zytokinen und der Dauer des Blasensprungs feststellen. In die Analyse gingen allerdings im Gegensatz zu Ahmed et al. die Fruchtwasserkonzentrationen der letzten drei Tage vor Geburt ein und nicht nur diejenigen zum Zeitpunkt des PPRM.

Die IL-6 Konzentrationen stiegen im Verlauf bis zum Entbindungstermin an. Dies unterstützt die Aussage von Marchini et al., die dem Geburtsprozess per se das Auslösen einer Akutphasereaktion zuschreiben [66]. In zwei der drei Fälle, die mit einem Abfall der IL-6 Konzentrationen einhergingen, wurden die Kinder spontan geboren. Dies hätte laut Marchini et al. zu einem Anstieg der Werte führen sollen. In beiden Fällen waren die IL-6 Werte vorgeburtlich allerdings bereits erhöht (564 pg/ml bzw. 132114 pg/ml), sodass der leichte Abfall auf 486 pg/ml bzw. 114113 pg/ml vernachlässigt werden kann. Die Ergebnisse von Marchini et al. lassen sich also bestätigen.

### 5.1.2 Analyse des Interleukin-8

Zusätzlich zum IL-6 wurde in dieser Studie der Verlauf des chemotaktisch wirkenden IL-8 untersucht. Dieses wird von Zellen des Endo- und Myometriums sowie von Chorion, Dezidua und Plazenta und vor allem nach infektiösen Prozessen in der Gebärmutter freigesetzt. Die Synthese des IL-8 wird vom schwangerschaftsaufrechterhaltenden Hormon Progesteron gehemmt, wodurch seine Konzentration mit Erreichen des Geburtstermins bzw. bei drohender Frühgeburt zunimmt und daher als Marker für den Geburtsbeginn herangezogen werden kann [60,67–69]. Die Verläufe der Entzündungswerte in der durchgeführten Studie bestätigen diesen Prozess: In 60,0 % der Fälle stiegen die IL-8 Konzentrationen entsprechend oben genannter Pathophysiologie im Verlauf bis zum Geburtsbeginn an.

Die IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser verhielten sich ähnlich wie die IL-6 Konzentrationen. Trotz zunächst unterschiedlicher Tendenzen verliefen sie nahe dem Entbindungstermin gleichsinnig. So stiegen oder sanken die IL-6 und IL-8 Konzentrationen von dtb-1 zu dtb-0 in zehn von zwölf Fällen (83,3 %) gleichermaßen. Die statistische Korrelationsanalyse ergab für IL-6 und IL-8 eine stark positive signifikante Korrelation ( $r=0,87$ ,  $p<0,0001$ ). Dies entspricht der Pathophysiologie dieser beiden Zytokine, wie sie bei Machado et al. beschrieben wird: IL-6 und IL-8 werden in ähnlicher Weise und zeitlicher Abfolge nach septischen Prozessen freigesetzt und dienen so einer frühen Detektion von neonatalen Infektionen [68]. Kacerovsky et al. untersuchten den Einfluss von IL-6 und IL-8 auf einen frühen vorzeitigen Blasensprung als Folge einer Chorioamnionitis bzw. einer bakteriellen Besiedelung der Fruchthöhle. War die Amnionhöhle bakteriell besiedelt und lag zusätzlich eine Chorioamnionitis vor, wurden signifikant erhöhte IL-6 und IL-8 Konzentrationen im Zervixschleim gemessen. Zur Detektion eines frühen vorzeitigen Blasensprungs infolge einer bakteriellen Besiedelung der Fruchthöhle und einer Chorioamnionitis bestätigte sich in ihrer Studie das Interleukin-8 als bester Marker. Dafür konnten sie einen Cut-off Wert von 2653 pg/ml bestimmen [69]. In dieser Studie konnten in acht von zwölf Fällen (66,7 %) ebenfalls vorgeburtliche IL-8 Konzentrationen  $\geq 2653$  pg/ml gemessen werden (IL-8<sub>max</sub> 325980 pg/ml). Die Zytokine wurden allerdings im Fruchtwasser und nicht wie bei Kacerovsky et al. im Zervixschleim gemessen. Bei drei Schwangeren wurde histologisch eine Chorioamnionitis nachgewiesen. In diesen Fällen betrug die IL-8 Konzentrationen

in den letzten drei Tagen vor Geburt 6142 pg/ml - 8966 pg/ml (Pat. Nr. 2), 13216 pg/ml - 231184 pg/ml (Pat. Nr. 5), 110764 pg/ml - 325980 pg/ml (Pat. Nr. 8) und lagen demnach ebenso über dem von Kacerovsky et al. festgelegten Cut-off Wert. Eine bakterielle Besiedelung im vaginalen sowie im perianalen Abstrich zeigte sich bei allen Frauen. Der Cervixabstrich kurz vor Entbindung war in einem Fall positiv. Darin konnten B-Streptokokken detektiert werden. Die Fruchtwasserproben dieser Schwangeren erbrachten am Tag der Geburt eine IL-8 Konzentration von 40533 pg/ml, welche über dem von Kacerovsky et al. definierten Cut-off Wert lag. Bei V.a. AIS und systemischen Infektzeichen erfolgte die eilige Sectio. Dies bestätigt folglich das IL-8 als Marker einer intrauterinen Entzündungsreaktion. Die Korrelationsanalysen der IL-8 Werte mit dem Schwangerschaftsalter bei PPRM und bei Geburt waren signifikant negativ. Je früher in der Schwangerschaft die Fruchtblase platzte und die Kinder geboren wurden, desto höher waren die IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser. Dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Siedler und Dembinski et al. In ihren Untersuchungen waren die gemessenen IL-8 Konzentrationen bei Reifgeborenen höher als bei Frühgeborenen [70,71]. Allerdings erfolgten ihre Messungen postnatal aus lysiertem Vollblut und nicht wie in dieser Studie pränatal aus Fruchtwasser. In Untersuchungen von Machado et al. dagegen zeigten nur Frühgeborene bis 32+0 SSW erhöhte IL-8 Konzentrationen im Nabelschnurblut [68]. Dies unterstützt wiederum die vorliegenden Ergebnisse. Die Mehrzahl der eingeschlossenen Frühgeborenen wurde kleiner 32+0 SSW geboren. Diese widersprüchlichen Ergebnisse verdeutlichen die Unklarheit über das Verhalten und den Einfluss von IL-8 auf den Schwangerschaftsverlauf und den Geburtsprozess. Die Ergebnisse sprechen jedoch dafür, dass auch bei noch nicht ausgereiften Feten bereits intrauterin eine zellvermittelte Immunantwort auf infektiöse Geschehen stattfindet [72].

### **5.1.3 Analyse des Tumornekrosefaktor- $\alpha$**

Der Tumornekrosefaktor- $\alpha$  ist ebenfalls im Hinblick auf die neonatale Morbidität von Bedeutung. TNF- $\alpha$  soll seine höchste Konzentration etwa 1,5 Stunden nach Ausschüttung und eine Halbwertszeit von circa 70 Minuten haben [68]. Ältere Studien kommen zu unterschiedlichen Aussagen bezüglich des Tumornekrosefaktors und einem Zusammenhang mit der neonatalen Sepsis. Die Ausschüttung dieses Zytokins bei Neugeborenen scheint nicht vollständig verstanden zu sein. Dennoch wird ihm eine Markereigenschaft für septische Geschehen vor allem in Kombination mit IL-6

zugeschrieben [68,73]. Dass die Korrelation für IL-6 und IL-8 in dieser Studie stärker positiv ausfiel als für IL-6 und TNF- $\alpha$  ( $r_{IL-6/8}=0,87$  vs.  $r_{IL-6/TNF}=0,74$ ) ist dadurch zu erklären, dass TNF- $\alpha$  nicht sehr lange im Serum bzw. im Fruchtwasser nachzuweisen ist und dieser gegebenenfalls zum Untersuchungszeitpunkt bereits am Fallen oder normwertig war. Da die gesammelten Fruchtwasserproben einmal täglich im Labor untersucht wurden und der höchste Anstieg des TNF wie erwähnt nach circa 1,5 Stunden zu messen ist, ist es möglich, die gesteigerte Konzentration des TNF beim Messen verpasst zu haben. In beiden Fällen war die Korrelation dennoch signifikant. Im Vergleich der TNF- $\alpha$  Werte mit den Interleukinkonzentrationen wurden teilweise abweichende Verläufe festgestellt. In fünf von zwölf Proben konnten ähnliche Verläufe von IL-6 und TNF- $\alpha$  verzeichnet werden, in einem Drittel der Fälle verhielten sie sich zunächst gegensinnig, zum Zeitpunkt der Entbindung näherten sie sich anschließend wieder an. Bei zwei Proben waren die jeweiligen Verläufe durchgehend gegensinnig. In einem Fall unterschieden sich die Verläufe nur am letzten Tag vor Geburt, in der Zeit davor verhielten sie sich gleichsinnig. Auch dies lässt sich damit begründen, dass IL-6 im Rahmen eines infektiösen Geschehens nach vier bis sechs Stunden freigesetzt wird und sein Maximalwert nach etwa 36 Stunden und nicht wie der des TNF- $\alpha$  nach 1,5 Stunden gemessen werden kann [68]. Damit lassen sich erhöhte IL-6 Werte länger nachweisen als erhöhte TNF- $\alpha$  Konzentrationen. Folglich ist IL-6 als Marker für infektiöse Prozesse bei Neugeborenen besser geeignet als TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  und IL-6 hängen allerdings als Entzündungswerte stark zusammen, da TNF- $\alpha$  erst durch einen Anstieg des IL-6 freigesetzt wird und in Rückkopplung die TNF- $\alpha$  Ausschüttung wiederum zu einer erhöhten IL-6 Freisetzung führt [68]. Könnte TNF- $\alpha$  daher rechtzeitig bestimmt werden, würde dieser sich aufgrund des schnellen Anstiegs zur frühzeitigen Detektion von Infektionen bei Neugeborenen eignen.

In dieser Studie waren die TNF- $\alpha$  Fruchtwasserwerte der Schwangeren mit Funisitis, Amnionitis oder AIS (N=3) vorgeburtlich stark erhöht. Die Konzentrationen nahmen Werte von 108 pg/ml bis 3945 pg/ml an. Insgesamt war die TNF- $\alpha$  Konzentration in neun der zwölf Fälle mit adäquaten Fruchtwasserproben erhöht, in drei dieser Fälle konnten die gestiegenen TNF- $\alpha$  Werte mit dem Nachweis einer Funisitis, einer Amnionitis und des AIS erklärt werden, in den weiteren Fällen wurden vorgeburtlich pathogene Keime in den Abstrichen von Vagina, Cervix oder Plazenta nachgewiesen, ohne dass es zu einer systemischen Infektion bei der Mutter gekommen ist.

Festzustellen ist daher, dass erhöht gemessene TNF- $\alpha$  Konzentrationen für das Vorhandensein von pathogenen Keimen bzw. einer Infektion sprechen. Diesen Zusammenhang bestätigt ebenfalls die Studie von Machado et al. [68].

## **5.2 Vergleich der IL-6 Konzentrationen mittels ELISA und Point-of-Care-Test**

Da aufgrund der Plazentaschranke eine Konzentrationserhöhung der Zytokine bei intrauterinen Infektionen am sensibelsten im Fruchtwasser gemessen werden kann und gerade diese gesteigerten Werte infolge von Entzündungen mit einem gesteigerten Frühgeburtsrisiko einhergehen, sind Verfahren essentiell, die deren Konzentrationen im Fruchtwasser nachweisen können [18]. Deswegen wurde in dieser Studie eine nichtinvasive Methode der Zytokinbestimmung aus dem Fruchtwasser untersucht, deren Ergebnisse im Folgenden diskutiert werden sollen. Es interessierte die Frage, welche Methode vor allem im klinischen Setting zur schnellen Detektion von Infektionen geeignet sein könnte.

Zur Analyse des IL-6 standen in vorliegender Studie zwei unterschiedliche Messmethoden zur Verfügung. Die Konzentrationen im Fruchtwasser wurden zum einen mittels ELISA als Goldstandard, einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay, zum anderen mittels POCT, einem Point-of-Care-Schnelltest, gemessen und auf eine signifikante Korrelation und einen signifikanten Unterschied geprüft.

Zu den Zeitpunkten dtb-3 und dtb-0 ließen sich statistisch signifikante positive Korrelationen feststellen. Die stärkste Korrelation wurde für die Werte berechnet, die am Tag der Geburt erfasst wurden,  $r=0,92$ . F. Aigner ermittelte in ihrer Studie zusätzlich eine signifikante positive Korrelation der beiden Messmethoden, wenn die Zytokinkonzentrationen des gesamten Schwangerschaftsverlaufs mit in die Berechnung einbezogen wurden [56]. Daraus lässt sich schließen, dass eine Anwendung des POCT im klinischen Setting während der Schwangerschaft möglich ist und mit dem ELISA vergleichbare Ergebnisse liefert. Aufgrund der starken Korrelation wären eine Anwendung und eine Analyse der Entzündungsparameter am Tag der Geburt am sinnvollsten. Da in der Geburtshilfe der Geburtsbeginn aber zeitlich nicht immer planbar ist und das pränatale Management im Hinblick auf eine Frühgeburt immer ein Abwägen von Chancen und Risiken des konservativen Zuwartens versus des aktiven Geburtseinleitens bedeutet, scheint dies schwer durchführbar. Da aber sowohl für den Zeitpunkt dtb-3 als auch für den gesamten Schwangerschaftsverlauf

ebenso positive signifikante Korrelationen ermittelt wurden, ist eine Analyse der Interleukinkonzentrationen mittels POCT während der gesamten Schwangerschaftsperiode empfehlenswert.

Gleichzeitig wurden die beiden Methoden mithilfe des Wilcoxon-Tests auf statistisch signifikante Unterschiede in der Höhe der gemessenen Interleukinkonzentrationen geprüft. Diese waren ebenso signifikant. Der ELISA lieferte signifikant höhere IL-6 Werte, wodurch er als festgesetzter Goldstandard eine genauere Einschätzung einer möglichen Entzündungsreaktion und deren Verlauf erlaubt. Der POCT ist mit seiner Range von 50 pg/ml – 10000 pg/ml limitiert, weswegen ab einer IL-6 Konzentration  $\geq 10000$  pg/ml keine messgenaue Einschätzung der Infektionsschwere mehr möglich ist. Ebenso wenig kann eine Verlaufsbeobachtung der im Fruchtwasser gemessenen Werte erfolgen, wenn diese die Range des POCT überschreiten. Dass die Werte über den Referenzwert erhöht sind, wird allerdings deutlich. Daher lässt der POCT eine grobe Einschätzung zu.

Neuere Studien führten ebenso Interleukinanalysen mittels ELISA und einem Lateral Flow Immunoassay durch. So untersuchten Chaemsathong et al. Schwangere mit vorzeitiger Wehentätigkeit ohne vorzeitigem Blasensprung. Sie konnten zeigen, dass in ihrer Stichprobe die Daten des POCT mit denen des ELISA ebenfalls signifikant korrelierten und die mit dem POCT gemessenen IL-6 Konzentrationen im Mittel um etwa 30 % niedriger lagen. Auch in dieser Studie war die Differenz statistisch signifikant [74]. In einer weiteren Studie konnten die Ergebnisse auch für das Schwangerenkollektiv mit PPROM bestätigt werden. Eine intraamniotische Entzündung konnte in diesen Fällen sowohl mittels POCT als auch mittels ELISA detektiert werden [75]. In diesen beiden Studien wurde für das Vorhandensein einer intraamniotischen Infektion für den ELISA ein IL-6 Cut-off Wert  $\geq 2600$  pg/ml und für den POCT ein Wert  $\geq 745$  pg/ml [74,75] bestimmt. In der durchgeführten Studie ermittelte der POCT in den Fällen mit Funisitis und Amnionitis vorgeburtlich ähnlich hohe IL-6 Fruchtwasserkonzentrationen. Bis auf eine Probenanalyse wurden IL-6 Werte  $\geq 10000$  pg/ml gemessen. Der Ausnahmewert betrug 736 pg/ml am Entbindungstag, wobei in diesem Fall die gewonnene Fruchtwasserprobe sehr blutig war und die Auswertung des POCT nicht zuverlässig bewertet werden konnte. Nichtsdestotrotz grenzt dieser Wert an den oben genannten Cut-off Wert von  $\geq 745$  pg/ml an. Der POCT erfährt hier eine Einschränkung in der Analyse von verunreinigten

Proben, da die Fruchtwasserproben für diesen Lateralfuss-Immunoassay unverdünnt verwendet werden. Waren sie stark blutig, wurden falsch niedrige Werte gemessen, sodass in diesen Fällen die Einschätzung einer möglichen intrauterinen Entzündung anhand der IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser erschwert war. Aufgrund der erläuterten Limitationen in der Anwendung des POCT aber der dennoch signifikanten Korrelation mit dem ELISA wird deutlich, dass der POC-Schnelltest im klinischen Setting bedingt geeignet ist, um eine mögliche intrauterine Infektion zu detektieren. Ist das zu untersuchende Fruchtwasser zu stark mit Blut tingiert, sollte der ELISA als Goldstandard für die Untersuchung herangezogen werden. Da der POCT allerdings innerhalb weniger Minuten eine Auswertung der Fruchtwasserproben bringt und die Durchführung eines ELISA mehrere Stunden dauert, muss im klinischen Alltag abgewogen werden, inwieweit eine schnelle Detektion und die Einschätzung der Infektionsschwere benötigt wird. Ist eine erste Tendenz gewünscht, bietet sich der POCT als diagnostische Maßnahme an. Die genauen Konzentrationen der Interleukine können im Verlauf zusätzlich mit dem ELISA als Goldstandard analysiert werden.

In einer Studie von Kunze et al. wurden ebenfalls die beiden oben genannten Messmethoden zur Analyse des IL-6 und zusätzlich des TNF- $\alpha$  untersucht. Auch ihre Auswertung ergab eine signifikante Korrelation dieser beiden Messmethoden [76]. Sowohl die Studie von Kunze et al. als auch die vorliegenden Daten führen aufgrund der statistischen Auswertungen letztlich zu dem Schluss, dass der Point-of-Care-Test trotz seines begrenzten Messbereichs und der Ungenauigkeit bei verunreinigten Proben eine gute und schnelle Alternative zur Zytokinbestimmung mittels ELISA im klinischen Alltag ist. Eine intrauterine Infektion kann dadurch möglichst früh detektiert und in ihrem Verlauf eingeschätzt werden. Überschreiten die zu messenden Konzentrationen allerdings die Range oder sind die Fruchtwasserproben sichtbar stark verunreinigt, sollte der ELISA als Goldstandard im Verlauf zur genaueren Analyse zusätzlich verwendet werden.

### **5.3 Untersuchung des Neugeborenenkollektivs**

#### **5.3.1 Analyse der allgemeinen fetalen Parameter**

In vorliegender Studie wurden fünfzehn weibliche und fünf männliche Neugeborene nach einem frühen vorzeitigen Blasensprung hinsichtlich ihres klinischen Outcomes untersucht. Sieben Kinder kamen spontan per vaginale Entbindung auf die Welt,

dreizehn durch Sectio caesarea, insgesamt wurden drei Geburten eingeleitet. In einer Studie von Quist-Nelson et al. wurden Schwangere mit einem frühen vorzeitigen Blasensprung zwischen 34+0 SSW und 36+6 SSW hinsichtlich des Geburtsmodus untersucht, je nachdem ob sie sofort nach dem Blasensprung entbanden oder die Geburt mittels des Expectant Managements hinausgezögert wurde. Die Kinder, die sofort nach dem Blasensprung geboren wurden, kamen im Mittel häufiger per Kaiserschnitt auf die Welt [77]. Die Patientinnen der durchgeführten Studie, die innerhalb von 48 Stunden nach PPROM entbanden (N=4), brachten in drei von vier Fällen (75,0 %) ihre Kinder per Sectio zur Welt. Allerdings entbanden ebenfalls zehn von 15 Frauen (66,7 %), bei denen die Schwangerschaft prolongiert wurde, ihre Kinder per Kaiserschnitt. Die Geburt des intrauterinen Fruchttods wurde eingeleitet. Im Vergleich zu der Studie von Quist-Nelson et al. wurden Frauen und deren Neugeborene untersucht, bei denen sich der frühe vorzeitige Blasensprung zwischen 23+0 und 33+6 SSW ereignete. In diesen Fällen wird zunächst im Rahmen der Infektions- und Risikoüberwachung versucht, die Schwangerschaft zu prolongieren, damit die Kinder möglichst lange intrauterin ausreifen können. Gründe für die sofortige Entbindung nach stattgefundenem Blasensprung können intrauterine Infektionen sowie fetale und maternale Gefährdung sein. Hierbei muss immer eine Risikoabwägung vollzogen werden. Insgesamt wurden in dieser Studie wie oben erwähnt vier der 20 eingeschlossenen Frühgeborenen nach einem PPROM von maximal 48 Stunden geboren. Ein Neugeborenes, das mit einem Schwangerschaftsalter von 31+1 SSW nach einem frühen vorzeitigen Blasensprung von 23 h per Sectio geboren wurde, entwickelte eine Neugeborenen-Sepsis sowie eine Meningitis und zeigte eine respiratorische Anpassungsstörung. Sein Apgar-Score bei einer Minute betrug 5, in der fünften Lebensminute wurde ein Wert von 8 vergeben. Bei seiner Mutter bestand pränatal der Verdacht auf ein AIS. Ein weiteres Frühgeborenes, das nach 48 h Blasensprung mit einem Schwangerschaftsalter von 26+3 SSW per Sectio geboren wurde, entwickelte ein RDS und es bestand der V.a. Neugeborenen-Infektion. Sein Apgar-Wert in der ersten Lebensminute betrug 5, nach fünf Minuten betrug dieser 6. Bei der Mutter waren pränatal Ureaplasma spp. bekannt. Bei einem weiteren Frühgeborenen, das nach 7 h Blasensprung mit 32+5 SSW spontan auf die Welt kam, bestand ebenfalls der V.a. Neugeborenen-Infektion. Bei der Mutter waren pränatal keine Risikofaktoren bekannt. Das vierte Neugeborene wurde mit 34+6 SSW bei zunehmender Wehentätigkeit nach einem Blasensprung von 7 h bei

Beckenendlage per sekundärer Sectio entbunden. Dass die Frühgeborenen bei prolongierter Schwangerschaft ebenso überwiegend per Kaiserschnitt geboren wurden, zeigt, dass auch hier aufgrund der Unreife des Kindes bzw. aufgrund maternalen Infektionen und hoher Entzündungswerte eine Gefährdung von Mutter oder Kind anzunehmen war. Kayiga et al. empfehlen allerdings, bei PPRM die vaginale Entbindung der Sectio vorzuziehen. In ihrer Studie erkrankten nach einem Kaiserschnitt mehr Frauen an Infektionen, die Neugeborenen waren häufiger intensivpflichtig oder verstarben häufiger. Der statistische Unterschied bezüglich des maternalen und fetalen Outcomes in den beiden Gruppen war jedoch nicht signifikant [78].

Werden die Geburtsmodi bei Vorliegen einer maternalen Infektion verglichen, wurden drei der vier Lebendgeburten (75,0% ) der Schwangeren mit Funisitis, Amnionitis oder dem V.a. AIS per Kaiserschnitt geboren. Dies zeigt, dass im untersuchten Kollektiv aufgrund einer anzunehmenden Gefährdung von Mutter oder Kind eine Sectio der vaginalen Entbindung vorgezogen wurde. Erkenntnisse bezüglich des Zusammenhangs von Geburtsmodus und dem neonatalen Outcome können in dieser Studie schwer gewonnen werden, da alle Frühgeborenen wegen des Verdachts bzw. einer gesicherten Neugeborenen-Infektion sowie wegen der Unreife und des Risikofaktors PPRM intensivmedizinisch überwacht wurden. Festzustellen ist allerdings, dass die beiden Frühgeborenen mit einer frühen Neugeborenen-Sepsis per Sectio entbunden wurden. Das Frühchen, das im Verlauf eine späte Neugeborenen-Sepsis entwickelte, wurde dagegen spontan geboren.

Das Vorliegen einer Chorioamnionitis zählt laut Kayiga et al. zusätzlich zu den Risikofaktoren der perinatalen Sterblichkeit [78]. In dieser Studie wurde im einzigen Fall des intrauterinen Fruchttods bei der Mutter ein AIS diagnostiziert. Ob dies der Grund für den intrauterinen Fruchttod gewesen ist, bleibt ungewiss.

Ahmed et al. legten in ihrer Studie für die IL-6 Konzentrationen aus dem maternalen Serum einen Cut-off Wert von 8,5 pg/ml fest. Betrug die IL-6 Konzentrationen Werte darüber, konnten signifikant häufiger eine Chorioamnionitis, ein RDS sowie die Intensivüberwachung des Neugeborenen verzeichnet werden. Ebenso waren das Geburtsgewicht sowie der Apgar-Score bei einer und bei fünf Lebensminuten in dieser Gruppe signifikant niedriger. Die IL-6 Konzentrationen zum Zeitpunkt der Geburt korrelierten signifikant mit dem neonatalen Outcome [63]. In der vorliegenden Studie wurden die Zytokine im Fruchtwasser der Schwangeren und nicht in deren Serum

gemessen. In den Fällen mit Chorioamnionitis, Funisitis oder AIS (N=3) ließen sich am Tag der Geburt aber ebenfalls stark erhöhte IL-6 Werte  $\geq 37494$  pg/ml feststellen. Das Geburtsgewicht dieser Kinder lag zwischen 555 g – 1270 g. Bei den Frühgeborenen mit einem RDS zeigten sich pränatal IL-6 Fruchtwasserwerte von 820 pg/ml – 114113 pg/ml. Ihr 1-Minuten-Apgar-Score betrug in vier von fünf Fällen einen Wert  $<7$ . Der 5-Minuten-Apgar-Score war bei einem dieser Kinder  $<7$ , sein Geburtsgewicht betrug 900 g. Im Vergleich dieser Werte mit denen von Ahmed et al. zeigt sich, dass die Interleukinkonzentrationen in der durchgeführten Studie deutlich höher als 8,5 pg/ml gemessen wurden. Die Apgar-Werte wie auch das Geburtsgewicht scheinen in vorliegender Studie ebenfalls niedriger zu sein. Alle IL-6 Werte dieser Studie wurden allerdings wie bereits erwähnt im Fruchtwasser und nicht wie bei Ahmed et al. im maternalen Serum gemessen. Dies könnte den Unterschied in der Höhe der Interleukinkonzentrationen erklären.

In der Studie wogen zwei der 20 Kinder (10,0 %) bei Geburt  $<1000$  g, sechs Frühgeborene (30,0 %) wogen zwischen 1000 g und 1500 g, elf Neugeborene (55,0 %) hatten ein Geburtsgewicht von 1500 g bis 2500 g, ein Neugeborenes (5,0 %) wog mehr als 2500 g. Elf der Frühgeborenen hatten nach der Geburt einen 1-Minuten Apgar-Score  $<7$ , für drei der Kinder wurde auch nach fünf Minuten noch ein Apgar-Score  $<7$  vergeben. Dies unterstreicht, dass Frühgeborene mehr Zeit benötigen, um sich nach der Geburt an ihre Umwelt anzupassen und erst später einen Apgar-Wert  $\geq 7$  erreichen und damit als lebensfrisch gelten.

Es konnte eine negative, nicht signifikante Korrelation der IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser mit dem Geburtsgewicht festgestellt werden ( $r=-0,47$ ). Je höher die Interleukinkonzentrationen am Tag der Geburt gemessen wurden, desto leichter waren die Frühgeborenen. Dies steht auch mit dem Gestationsalter bei Geburt in Zusammenhang. Je früher die Kinder auf die Welt kamen, desto leichter waren sie und dementsprechend zeigten sich höhere Zytokinkonzentrationen bei den unreiferen Frühgeborenen. Ursächlich für die verfrühte Geburt könnten die erhöhten Interleukinkonzentrationen per se im Rahmen von Infektionen und damit einhergehender Gefährdung von Mutter und Kind gewesen sein. Diese Gefährdung scheint umso größer, je jünger die Schwangerschaft und je unreifer die Feten sind. Dies erklärt den negativen Zusammenhang zwischen der Höhe der IL-6 Fruchtwasserwerte und dem Geburtsgewicht. Die IL-6 Konzentrationen aus dem Nabelschnurblut korrelierten nicht mit dem Geburtsgewicht. Daraus lässt sich

schließen, dass die erhöhten Interleukinkonzentrationen im Fruchtwasser überwiegend maternale Infektionen widerspiegeln und zu einer Geburtseinleitung führten, bevor sich die Infektion beim Neugeborenen manifestieren und eine Immunantwort auslösen konnte. Demzufolge zeigt sich ein umso höheres Risiko für intrauterine inflammatorische Prozesse, je unreifer die Schwangerschaft und je leichter die Feten sind. Dass keine signifikante Korrelation für die Werte aus dem Nabelschnurblut gefunden werden konnte, spiegelt auch hier die große Bedeutung der Infekt- und Risikoüberwachung von Schwangeren mit PPRM und deren Feten wider, bevor sich eine mögliche Infektion beim Neugeborenen manifestieren kann.

Bezogen auf die Kohorten mit einem 1-Minuten Apgar-Score kleiner bzw. größer gleich 7 ließ sich für die IL-6 Konzentrationen am Tag der Geburt weder aus dem Fruchtwasser noch aus dem Nabelschnurblut ein signifikanter Unterschied berechnen. Wurde nach einer Minute ein Apgar-Wert  $<7$  vergeben, betrug die IL-6 Fruchtwasserwerte überwiegend  $\geq 820,0$  pg/ml. Lagen die IL-6 Konzentrationen aus dem Nabelschnurblut über dem labortechnischen Referenzwert von 50,0 pg/ml, wurde ebenfalls mehrheitlich ein 1-Minuten Apgar-Score  $<7$  beschrieben. Aufgrund des nicht signifikanten Unterschieds lässt sich ableiten, dass ausgehend von der Höhe der Zytokinkonzentrationen keine Rückschlüsse auf den Apgar-Score und damit auf die Adaption des Neugeborenen gezogen werden können. Dies trifft sowohl auf die IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser als auch auf die Nabelschnurblutwerte zu. Bei einem 5-Minuten Apgar-Score  $<7$  betrug die IL-6 Konzentration aus dem Fruchtwasser am Tag der Geburt 114113 pg/ml. Die IL-6 Konzentration aus dem Nabelschnurblut war nicht erhöht. Nichtsdestotrotz könnten erhöhte Zytokinkonzentrationen auf eine kritische Adaption des Neugeborenen hinweisen. Um diese Aussage stützen zu können, sollten weitere Studien mit einer größeren Stichprobe durchgeführt werden. Der Apgar-Score an sich muss allerdings aufgrund der subjektiven Einschätzung des jeweiligen Untersuchers kritisch als prädiktiver Marker für das neonatale Outcome betrachtet werden. Zusätzlich wird die Höhe des Scores laut Rüdiger et al. verfälscht, wenn direkt postnatal klinische Interventionen wie eine frühzeitige Atemunterstützung oder eine Reanimation erfolgen und diese nicht standardisiert in die Bewertung des Scores einbezogen werden. Außerdem ergebe der Apgar-Score zur Einschätzung der extrauterinen Adaption für Frühgeborene per se niedrigere Werte als für Reifgeborene, weswegen der Apgar-Score überarbeitet werden sollte. Rüdiger et al. entwickelten

daher einen spezifischen Apgar-Score, der unabhängig von Schwangerschaftsalter bei Geburt und klinischen Interventionen den postnatalen Zustand des Kindes einzuschätzen vermöge. Zusätzlich könne ein kombinierter Score die klinischen Behandlungen miteinbeziehen [79]. Da der Apgar-Score für reife Neugeborene entwickelt wurde, müssen dessen Anwendung auf Frühgeborene und die daraus gezogenen Rückschlüsse kritisch betrachtet werden.

### **5.3.2 Analyse der Interleukinwerte aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser und dem Nabelschnurblut**

Romero et al. untersuchten die Interleukinwerte aus dem Nabelschnurblut von Neugeborenen, deren Mütter zum Zeitpunkt der Geburt eine Chorioamnionitis entwickelten. Sowohl die mittleren IL-6 als auch IL-8 Konzentrationen waren in der Fallgruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe ohne Chorioamnionitis. Dies galt sowohl für die Fälle, bei denen klinisch eine Chorioamnionitis vorlag, ohne dass es zu einer intraamniotischen Entzündungsantwort gekommen war, als auch für diejenigen, bei denen zusätzlich zur klinischen Chorioamnionitis eine intraamniotische Entzündungsreaktion stattgefunden hatte. Diese wurde ab einem IL-6 Fruchtwasserwert  $\geq 2600$  pg/ml angenommen. Zwischen den IL-6 und IL-8 Werten aus dem maternalen Serum und den Interleukinen aus dem Nabelschnurblut wurde eine positive Korrelation nachgewiesen. Die IL-6 Konzentrationen aus dem mütterlichen Serum waren im Mittel signifikant höher als diejenigen aus dem Nabelschnurblut [64]. In vorliegender Studie wurden die Interleukinwerte aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser ebenfalls mit denen aus dem Nabelschnurblut verglichen. Zwischen IL-6 aus dem Fruchtwasser zu den Zeitpunkten dtb-1 und dtb-2 und den postnatalen IL-6 Nabelschnurblutwerten wurden positive Korrelationen berechnet. Diese waren nicht signifikant. Zum Zeitpunkt dtb-0 ließ sich keine Korrelation zwischen den Fruchtwasser- und den Nabelschnurblutwerten feststellen. IL-6 dient zwar zum einen als Entzündungsmarker bei Infektionen, zum anderen wird es aber auch durch den Geburtsprozess im Rahmen einer Akutphasereaktion im Feten freigesetzt [66]. Erhöhte IL-6 Fruchtwasserwerte können also durch den Entbindungsprozess an sich verursacht werden, ohne dass eine fetale Infektion vorliegt, die im Nabelschnurblut detektiert werden könnte. Dies könnte erklären, warum am Tag der Geburt keine Korrelation zwischen den IL-6 Werten aus dem Fruchtwasser und denen aus dem Nabelschnurblut gefunden werden konnte. Zusätzlich ist die Korrelation mit den

vorliegenden Ergebnissen kritisch zu werten, da aufgrund der niedrigen Fallzahlen bisher lediglich eine entsprechende Tendenz bezüglich des positiven Zusammenhangs zu erkennen ist. Um die jeweiligen Korrelationen bestätigen zu können, ist das Weiterführen dieser Studie wünschenswert. Bei der Analyse im klinischen Alltag muss folglich unterschieden werden, ob die Zytokine aufgrund einer Infektion oder aufgrund des natürlichen Geburtsgeschehens erhöht sind. Dies kann zum einen mit der Bestimmung von Cut-off Werten möglich sein, zum anderen sollte das klinische Erscheinungsbild von Mutter und Kind immer mitberücksichtigt werden. Da IL-6 und IL-8 ähnliche Verläufe zeigen und aus einer Doppelbestimmung im klinischen Alltag kein Mehrwert gewonnen wird, wird in der Hedwigsklinik ausschließlich IL-6 im Nabelschnurblut bestimmt. TNF- $\alpha$  wird aufgrund der kurzen Halbwertszeit und des ebenso fehlenden Mehrwerts nicht bestimmt. Nichtsdestotrotz wäre für eine weitere Einschätzung gegebenenfalls die Bestimmung von IL-8 und TNF- $\alpha$  aus dem Nabelschnurblut sinnvoll, um diese mit den Interleukinwerten aus dem Fruchtwasser vergleichen zu können.

### **5.3.3 Verhalten der Interleukinwerte bei neonataler Morbidität**

Die Überlebensrate von Frühgeborenen steigt aufgrund der fortschrittlichen intensivmedizinischen Betreuung und des hohen Versorgungsniveaus in Deutschland an [13,80]. Die Wahrscheinlichkeit zu überleben erwies sich für Frühgeborene infolge eines PPRM als signifikant geringer verglichen mit Frühgeborenen infolge von vorzeitigen Wehen oder ärztlich indizierten Entbindungen, so Johanson et al. [81]. Das Risiko für perinatale Kurz- und Langzeitkomplikationen sei umso höher, je niedriger das Geburtsgewicht der Säuglinge sei [82,83]. Erhöhte IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser scheinen bei drohenden vorzeitigen Wehen und einem frühen vorzeitigen Blasensprung ein sensibler Marker sowohl für die Diagnosesicherung als auch für die Vorhersagekraft einer möglichen Frühgeburt und des neonatalen Outcomes zu sein [60].

Zu den frühgeburtsassoziierten Kurzzeitmorbiditäten, die in vorliegender Studie erfasst und im Hinblick auf die Entzündungsparameter im Fruchtwasser untersucht wurden, zählen die Neugeborenen-Infektion, das neonatale Atemnotsyndrom, die bronchopulmonale Dysplasie, die intraventrikuläre Hämorrhagie, die nekrotisierende Enterokolitis, die periventrikuläre Leukomalazie, die Frühgeborenen-Retinopathie, der persistierende Ductus arteriosus und die neonatale Sepsis [5]. Weiterhin wurden die

Lungenhypoplasie und die Hypoglykämie miteinbezogen. Es fällt auf, dass die Kinder mit einem höheren Geburtsgewicht mehrheitlich nur eines der untersuchten Kurzzeitmorbidityen entwickelten. Bei dem jüngsten Frühchen, das mit einem Gestationsalter von 25+5 SSW und einem Geburtsgewicht von 900 g geboren wurde, wurden die meisten der oben genannten Krankheitsbilder diagnostiziert: Das Frühgeborene entwickelte eine Neugeborenen-Infektion und im Verlauf eine late-onset Sepsis durch *Staph. epidermidis*. Zusätzlich fielen in der augenärztlichen Untersuchung mittel bis schwere extraretinale Blutungen auf, die einer ROP des Stadium 3 entsprachen. Echokardiographisch wurde ein PDA diagnostiziert. In der radiologischen Bildgebung zeigte sich eine Lungenhypoplasie mit einem RDS. Weiterhin entwickelte es eine bronchopulmonale Dysplasie, eine gefürchtete Komplikation bei Frühgeborenen mit RDS. Neben dem Atemnotsyndrom als primäre Ursache zählen die Frühgeburt per se, ein niedriges Geburtsgewicht sowie ein persistierender Ductus arteriosus und die Sepsis zu den Risikofaktoren einer BPD [84]. Feten, die bereits vor der Geburt im Rahmen einer Chorioamnionitis erhöhten Zytokinkonzentrationen ausgesetzt waren und bei denen postnatal eine bakterielle Besiedelung der Atemwege festgestellt werden kann, erkrankten Studien zufolge signifikant häufiger an einer BPD als ihre Kontrollgruppe [85–89]. Dies führt zu der Annahme, dass der Entzündungsprozess bereits pränatal seinen Anfang nimmt und mit der Ausbildung eines fetalen Inflammationssyndroms eng in Zusammenhang steht [90]. Zusätzlich schlussfolgerten Yoon et al., dass erhöhte IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut ebenso zu den Risikofaktoren für die Entstehung einer BPD zählen [90]. Das Frühgeborene mit einer BPD war pränatal stark erhöhten IL-6 (max. 132114 pg/ml), IL-8 (max. 231184 pg/ml) und TNF- $\alpha$  (max. 3945 pg/ml) Konzentrationen im Fruchtwasser ausgesetzt. Diese Werte spiegeln die diagnostizierte Funisitis sowie Amnionitis der Mutter bei PPROM wider und bestätigen die Hypothese, dass erhöhte Zytokinkonzentrationen im Fruchtwasser mit einem schlechteren neonatalen Outcome in Zusammenhang stehen. Das IL-6 aus dem Nabelschnurblut war am ersten Lebenstag mit 40,5 pg/ml nicht über den Referenzwert erhöht, stieg im Verlauf allerdings an. In diesem Fall summierten sich mehrere Risikofaktoren. An diesem Beispiel wird deutlich, dass die Möglichkeiten des medizinischen Fortschritts, die Überlebensfähigkeit von Frühgeborenen zu verbessern, mit gesteigerter perinataler Morbidität einhergehen können.

Studien zeigen, dass bei Neugeborenen mit einer periventrikulären Leukomalazie erhöhte IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser und im Plasma der Nabelschnur nachgewiesen werden konnten [91–93]. Sie lassen darauf schließen, dass durch die infektionsbedingt gesteigerte Zytokinfreisetzung die Blut-Hirn-Schranke in ihrer Durchlässigkeit beeinträchtigt wird und es so zu zerebralen Schädigungen der Neugeborenen kommen kann. Auch nichtinfektiöse Umstände wie die Hypoperfusion und Hypoxie des Feten können zu gesteigerten IL-6 und TNF- $\alpha$  Werten und damit zu einem schlechten neonatalen Outcome führen. In diesem Zusammenhang ist neben der periventrikulären Leukomalazie die Zerebralparese zu nennen [94]. In dieser Studie entwickelte keines der Frühgeborenen eine periventrikuläre Leukomalazie oder eine zerebrale Parese. Um hinsichtlich dieser beiden Krankheitsbilder Rückschlüsse auf einen Zusammenhang mit erhöhten Entzündungsparametern im Fruchtwasser ziehen zu können, sind weiterführende Studien obligat.

#### **5.3.4 Die Interleukinwerte bei fetalem Inflammationssyndrom**

Ein fetales Inflammationssyndrom geht mit erhöhten IL-6 Konzentrationen einher und kann mit multiplen Krankheitsbildern wie unter anderem einem RDS, einer Neugeborenen-Sepsis oder der neonatalen Mortalität assoziiert sein [95,96]. Pacora et al. schlussfolgerten in ihrer Studie, dass eine Funisitis bzw. eine Chorioamnionitis das histologische Korrelat zum fetalen Inflammationssyndrom sei [97]. Auch Romero et al. bestätigten in ihrer Studie, dass alle Neugeborenen mit einem FIRS zuvor einer bakteriell ausgelösten intraamniotischen Infektion ausgesetzt waren [64]. Ein FIRS kann sich allerdings sowohl infolge einer intraamniotischen Entzündung mit mikrobiologischem Keimnachweis als auch infolge einer steril ablaufenden Entzündungsreaktion entwickeln [95]. In vorliegender Studie zeigten sich bei fünf Neugeborenen erhöhte IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut. Demnach war bei diesen die Definition eines fetalen Inflammationssyndroms erfüllt. Insgesamt wurde bei drei Schwangeren postpartal die Verdachtsdiagnose eines AIS anhand der Plazentahistologie bestätigt. Bei einem der drei Neugeborenen, das intrauterin einem AIS ausgesetzt war, betrug die IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut 55 pg/ml. Dieses Frühgeborene entwickelte eine early-onset Neugeborenen-Sepsis, ausgelöst durch B-Streptokokken. Ein weiteres Neugeborenes, bei dessen Mutter sich pränatal ein AIS zeigte, erkrankte nach 72 Lebensstunden an einer late-onset Neugeborenen-Sepsis mit zunächst normwertigem IL-6, welches im Verlauf anstieg. Bei der dritten

Schwangeren mit AIS ereignete sich der intrauterine Fruchttod. Alle anderen Frühgeborenen mit einem FIRS wurden bei V.a. NG-Infektion antibiotisch behandelt, bei den jeweiligen Schwangeren zeigte sich pränatal ein pathologisches Keimwachstum in den Abstrichen von Vagina, Zervix, Plazenta oder Eihaut. Bei einer Mutter bestand pränatal der V.a. AIS. Ein FIRS entwickelt sich folglich als Antwort auf eine pathologische Keimbesiedelung bzw. eine intrauterine Entzündungsreaktion. Aufgrund der niedrigen Fallzahl lassen sich die Aussagen von Pacora et al. allerdings bisher nicht bestätigen. In dieser Studie entwickelte nur eines der drei Neugeborenen, die einer intrauterinen Entzündungsreaktion entsprechend eines AIS ausgesetzt waren, ein FIRS mit erhöhtem IL-6 im Nabelschnurblut. Um zu zeigen, dass das AIS dem histologischen Gegenstück eines FIRS entspricht, muss diese Studie um eine größere Studienpopulation erweitert werden. Nimmt man allerdings das AIS als histologisches Korrelat eines FIRS an, kann bestätigt werden, dass es bei Auftreten eines AIS vermehrt zu den frühgeburts- und FIRS-assoziierten Morbiditäten wie der Sepsis oder des intrauterinen Fruchttods kommen kann. In vorliegender Studie wurde ausschließlich IL-6 aus dem Nabelschnurblut bestimmt. Bei Romero et al. wurde zusätzlich IL-8 aus dem Nabelschnurblut analysiert. Sowohl die IL-6 als auch die IL-8 Konzentrationen waren in der Fallgruppe mit FIRS signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Da IL-6 und IL-8 verglichen mit anderen Zytokinen den größten Anstieg der jeweiligen Mittelwerte zwischen der Kontroll- und der Fallgruppe zeigten, bestätigt dies die Interleukine IL-6 und IL-8 als sensitivste Inflammationsmarker für Neugeborene [64]. Da die beiden Interleukine IL-6 und IL-8 allerdings aufgrund ähnlicher Aktivierungswege zu gleichen Aussagen bezüglich eines infektiösen Geschehens kommen und in vorliegender Studie, wie bereits erwähnt, eine signifikante positive Korrelation zwischen diesen beiden Zytokinen bestätigt werden konnte, wird in der Klinik St. Hedwig ausschließlich IL-6 im Nabelschnurblut als Inflammations- bzw. Sepsismarker bestimmt.

### **5.3.5 Die Interleukinwerte bei Atemnotsyndrom**

Das RDS ist die häufigste Lungenerkrankung bei Neugeborenen [82]. In der vorliegenden Studie wurde bei fünf der 20 Neugeborenen (25,0 %) die Diagnose eines RDS gestellt. Je unreifer das Kind, desto weniger entwickelt sind die inneren Organe. Die Lungenreife eines Kindes ist erst mit 34+0 SSW abgeschlossen. Droht eine Frühgeburt vorher, wird eine Lungenreifeprophylaxe durchgeführt. Das Risiko für ein

RDS nimmt mit der Unreife des Kindes und einem niedrigen Geburtsgewicht zu [98,99]. Die Frühgeborenen dieser Studie, die ein RDS entwickelten, wurden zwischen 25+5 SSW und 34+5 SSW geboren und wogen zwischen 900 g und 1920 g. Alle erhielten pränatal die RDS-Prophylaxe. Vier dieser fünf erkrankten Kinder (80,0 %) kamen mit einem Schwangerschaftsalter <30+0 SSW mit einem maximalen Geburtsgewicht von 1760 g zur Welt. Diese Ergebnisse decken sich mit den oben genannten Studien, welche ein höheres Morbiditätsrisiko für Kinder mit einem niedrigeren Geburtsgewicht feststellten [82,83].

Die Mittelwerte der IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser waren in der Kohorte mit RDS höher als in der Kontrollgruppe. Dies galt sowohl für die Konzentrationen, die mittels ELISA gemessen wurden, als auch für diejenigen des POCT. Der größte Unterschied in der Höhe der IL-6 Konzentrationen zwischen den Kohorten wurde einen Tag vor Geburt festgestellt. Für die Kohorte mit RDS konnte zum Zeitpunkt dtb-1 eine mittlere Konzentration von 48988 pg/ml per ELISA ermittelt werden. In der Kontrollgruppe dagegen betrug diese 7008,4 pg/ml. Die mittlere Konzentration in der Fallgruppe war dementsprechend etwa siebenmal so hoch. Für die Werte des POCT konnte am Tag der Geburt eine 1,5-fach höhere mittlere IL-6 Konzentration für die Fallgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe errechnet werden (3754,3 pg/ml vs. 2223,2 pg/ml). Wie bereits erläutert, gingen die POCT Werte  $\leq 50$  pg/ml mit 49 pg/ml, die Werte  $\geq 10000$  pg/ml mit 10001 pg/ml in die Auswertung ein und konnten nicht in ihrer genauen Konzentration erfasst werden. Dies erklärt die geringere Differenz der IL-6 Mittelwerte des POCT. IL-6 als sensitiver Marker und der ELISA als Goldstandard zur Diagnostik sowie deren große Bedeutung für die weitere Therapie werden mit diesen Ergebnissen folglich bestätigt. Die Anwendung des POC-Schnelltests kann in der klinischen Praxis dennoch als Alternative zum ELISA geeignet sein, um in kurzer Zeit eine Einschätzung über eine mögliche Infektion zu erhalten.

Für die Analyse der IL-8 und TNF- $\alpha$  Konzentrationen bezüglich der Kohorte mit RDS und deren Kontrollgruppe galt das gleiche. Die IL-8 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser waren bei den Neugeborenen mit RDS zehn- bis 14-fach höher als in der Kontrollgruppe. Die mittleren TNF- $\alpha$  Konzentrationen zeigten sich in der Fallgruppe ebenso erhöht. Obgleich sich die Interleukinkonzentrationen in der Fallgruppe im Mittel höher darstellten als in der Kontrollgruppe, ergab die statistische Auswertung keine signifikanten Unterschiede. Zusätzlich wurden die neonatalen sowie die maternalen

CRP-Werte bestimmt und bezüglich eines RDS untersucht. Auch in dieser Analyse ließ sich feststellen, dass sowohl die fetalen als auch die mütterlichen CRP-Werte in der Fallgruppe RDS im Mittel höher waren als in der Kontrollgruppe. Die Unterschiedsberechnung ergab ebenfalls keine Signifikanz. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass eine labortechnische Analyse der Interleukine und des CRP geeignet sein kann, eine allgemeine Entzündungsreaktion im Organismus zu detektieren. Bestätigen lässt sich damit außerdem, dass auch eine Infektion im mütterlichen Organismus, die sich durch erhöhte Zytokinkonzentrationen im Fruchtwasser zeigt, mit einem größeren Risiko für eine fetale Entzündungsantwort einhergeht. Um die Diagnose eines RDS allerdings zu sichern, müssen klinische Befunde sowie lungenspezifische Diagnosekriterien herangezogen werden. Zur Detektion einer Infektion können sowohl das CRP als auch das IL-6 dienen, wie die statistisch signifikante Korrelationsanalyse von CRP und IL-6 aus dem Nabelschnurblut ( $r=0,55$ ,  $p\leq 0,5$ ) ergab. Dies hat sich im klinischen Alltag bewährt. Routinemäßig wird bei Verdacht auf eine Infektion das CRP bestimmt, bei Neugeborenen zusätzlich das IL-6 als prädiktiver Marker.

### **5.3.6 Die Interleukinwerte bei septischem Geschehen**

B. Nakstad untersuchte den Vorhersagewert von IL-6 und IL-8 für die frühe Neugeborenen-Sepsis bei reifen Neugeborenen von Schwangeren mit und ohne Chorioamnionitis. Als Erreger der EOS wurden *E. coli* und *Staph. epidermidis* in der Blutkultur detektiert [100]. Ihre Auswertung ergab eine geringe Vorhersagekraft des IL-6 für die EOS (73,0 %), jedoch eine hohe für die Chorioamnionitis (89,0 %). Eine bessere Prognose für die EOS ergab die kombinierte Analyse von IL-6 und IL-8 (83,0 %), die höchste Sensitivität erbrachte die Bestimmung von IL-6 zusammen mit Procalcitonin (87,0 %). In der Neugeborenenkohorte mit einem positiven Keimnachweis war die IL-6 Konzentration höher als in der Kontrollgruppe ohne Bakterien in der Blutkultur [100]. Memar et al. messen IL-6 als alleinigem Sepsismarker die größte Bedeutung in der Prognose der Neugeborenen-Sepsis zu [101]. Die Mütter der bei Romero et al. untersuchten Neugeborenen, bei denen sich postnatal der V.a. eine Sepsis ergab, hatten pränatal signifikant häufiger eine Chorioamnionitis [64]. In vorliegender Studie bestanden bei den Müttern der drei Frühgeborenen, die aufgrund einer Sepsis mit positiver Blutkultur behandelt wurden, ebenfalls klinische Zeichen eines AIS. Bei zwei dieser Frauen wurde die Verdachtsdiagnose postpartal

gesichert. Für die Frühgeborenen mit einem positiven Keimnachweis in der Blutkultur und der gesicherten Diagnose einer Sepsis wurden mittels ELISA in den letzten drei Tagen vor Geburt IL-6 Fruchtwasserwerte von 21185 pg/ml bis 132114 pg/ml gemessen, IL-8 Werte von 6142 pg/ml bis 231184 pg/ml, TNF- $\alpha$  Konzentrationen von 151 pg/ml bis 3945 pg/ml. Die IL-6 Konzentrationen in der Kontrollgruppe waren überwiegend kleiner als 5000 pg/ml, die IL-8 Konzentrationen betragen 59 pg/ml bis 41337 pg/ml, die TNF- $\alpha$  Konzentrationen nahmen Werte zwischen 0 pg/ml und 540 pg/ml an. Bei einer Schwangeren und ihrem Neugeborenen ohne Sepsismanifestation nahmen die IL-6 Fruchtwasserwerte in den Tagen vor der Geburt Konzentrationen zwischen 14157 pg/ml und 24290 pg/ml an. Hier ergab der Ohrabstrich des Neugeborenen eine Besiedelung mit E. coli, der mikrobiologische Abstrich der Schwangeren ergab sowohl vaginal als auch perianal den Nachweis von B-Streptokokken sowie E. coli. Diese bakterielle Besiedelung könnte ursächlich für die hohen IL-6 Konzentrationen ohne das klinische Bild einer Neugeborenen-Sepsis gewesen sein. Um Vorhersagen und Therapieoptionen für die klinische Praxis ableiten zu können, dürfen daher nicht nur Laborwerte zur Verlaufsbeobachtung herangezogen werden. Entscheidend ist das klinische Bild der Patienten, um eine Überbehandlung zu vermeiden sowie im Falle einer Veränderung adäquat reagieren zu können. Der POCT maß in der Kohorte mit Sepsis überwiegend IL-6 Werte  $\geq 10000$  pg/ml. Bei dem einmalig mit 736 pg/ml deutlich niedriger gemessenen Wert zum Zeitpunkt dtb-0 war die Fruchtwasserprobe zum einen stark blutig und könnte daher falsch niedrige Werte erbracht haben. Dafür spricht, dass der mittels POCT ermittelte Fruchtwasserwert drei Tage vor Geburt mit  $\geq 10000$  pg/ml bereits stark erhöht war und mittels ELISA am Tag der Geburt ebenfalls mit 114113 pg/ml sehr hohe IL-6 Konzentrationen gemessen wurden. Zum anderen handelte es sich bei diesem Patienten um den Fall der late-onset Sepsis und nicht um eine EOS. Das Auftreten des septischen Krankheitsbildes zehn Tage nach der Entbindung könnte ebenfalls die niedrigeren IL-6 Fruchtwasserwerte am Entbindungstag erklären. Zum Zeitpunkt der manifesten LOS wurden keine Daten erhoben. Für die Kontrollgruppe ermittelte der POCT mehrheitlich Werte  $\leq 6798$  pg/ml. Höhere Werte wurden auch hier im Fruchtwasser der Schwangeren mit einer vaginalen und perianalen Keimbesiedelung und einem neonatalen positiven Ohrabstrich ermittelt. Dies spiegelte sich ebenfalls in höheren IL-8 und TNF- $\alpha$  Konzentrationen in der Kontrollgruppe wider.

Aus diesen Daten lässt sich schließen, dass der POCT folglich für die Detektion einer bakteriellen Entzündungsreaktion im Fruchtwasser verwertbar ist. Aufgrund der großen Streubreite von IL-8 und TNF- $\alpha$  lässt sich in dieser Studie zusätzlich das IL-6 als alleiniger sensitiver Marker für die Neugeborenen-Sepsis bestätigen.

Die mittleren IL-6 Werte beider Messmethoden waren in der Kohorte Sepsis höher als in der Kontrollgruppe. Gleiches galt für die IL-8 sowie die TNF- $\alpha$  Konzentrationen. Die größte Differenz in den mittleren IL-6 und IL-8 Konzentrationen konnte einen Tag vor Geburt festgestellt werden, bei TNF- $\alpha$  war der Unterschied am Tag der Geburt am größten. Im Falle des IL-6 könnte dies einerseits mit dem Anstieg dieses Interleukins als Akutphaseprotein in Folge des beginnenden Geburtsgeschehens erklärt werden. Wahrscheinlicher ist andererseits, dass es aufgrund der stark erhöhten Zytokinwerte infolge einer schweren Infektion zur Geburt kam. Die zum Zeitpunkt dtb-1 mittels ELISA errechnete Konzentration für die Kohorte Sepsis betrug im Mittel 83538,5 pg/ml und war mehr als 20-fach so hoch wie die der Kontrollgruppe (MW: 3618,3 pg/ml). Die mittlere IL-6 Konzentration aus dem POCT betrug einen Tag vor Geburt in der Kohorte Sepsis 10001 pg/ml vs. 1943 pg/ml in der Kontrollgruppe und war folglich um das Fünffache erhöht. In der Studie von B. Nakstad war die IL-6 Konzentration in der Sepsis-Gruppe um das 4,5-fache höher als in der Kontrollgruppe. Der mittlere IL-6 Wert in der Fallgruppe betrug 91000 pg/ml [100], was dem Mittelwert in vorliegender Studie nahekommt. Die Zytokinkonzentrationen in der Studie von Nakstad wurden allerdings aus dem Blut bestimmt und nicht aus dem Fruchtwasser. Da der Verlauf der beiden Interleukine IL-6 und IL-8 positiv miteinander korreliert und deren Anstieg das Ergebnis ähnlicher Aktivierungswege ist, lassen sich die erhöhten IL-8 Werte sowie der ebenfalls größte Anstieg zum Zeitpunkt dtb-1 erklären. Dem TNF- $\alpha$  wird ebenfalls vor allem in Zusammenhang mit IL-6 eine Markereigenschaft für septische Geschehen zugesprochen [68,73]. Die durchgeführte Korrelationsanalyse bestätigte für IL-6 und TNF- $\alpha$  einen signifikanten positiven Zusammenhang. Daher können die im Vergleich zur Kontrollgruppe höheren Zytokinkonzentrationen ebenso erklärt werden.

Da kaum Studien zu Entzündungswerten aus dem Fruchtwasser vorliegen, lassen sich die erhobenen Daten zum jetzigen Zeitpunkt schwer in einen Kontext einordnen, vergleichen oder daraus Rückschlüsse ziehen. Offensichtlich ist jedoch, dass bei einer manifesten fetalen Entzündungsreaktion sowohl mittels ELISA als auch mittels POCT pränatal bereits stark erhöhte Zytokinkonzentrationen im Fruchtwasser gemessen

werden können, die mit den Blutwerten anderer Studien vergleichbar sind. Somit können beide Methoden als Entscheidungshilfe für das geburtshilfliche Management dienen. Im Fall der niedrigeren IL-6 Werte mittels POCT war die Fruchtwasserprobe stark blutig und nicht valide verwertbar. Kunze et al. berichten allerdings, dass der Schnelltest in ihrer Studie sowohl mit klaren als auch mit verunreinigten Proben jeweils ähnliche Ergebnisse lieferte. Sowohl der ELISA als auch der POCT ermittelten signifikant höhere IL-6 sowie TNF- $\alpha$  Konzentrationen in der Fallgruppe mit einer Sepsis [76]. In vorliegender Studie ließ sich aufgrund der niedrigen Fallzahl statistisch keine Korrelation oder ein signifikanter Unterschied der Interleukinwerte bezüglich der Kohorte Sepsis und der Kontrollgruppe berechnen. Daher sollten diese Untersuchungen mit einer größeren Fallzahl weitergeführt werden. Im Zweifelsfall und bei ausreichender zeitlicher Situation sollte aktuell zur Ermittlung der IL-6 Konzentrationen auf den ELISA als Goldstandard zurückgegriffen werden. Da sich die mittleren Zytokinkonzentrationen allerdings in der Fallgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe mit beiden Messmethoden erhöht präsentierten, kann für eine erste Tendenz der Schnelltest zur frühen Detektion einer Infektion herangezogen werden.

B. Nakstad detektierte als Erreger der EOS in der Hälfte der Fälle den gramnegativen *E. coli*, in der anderen Hälfte den grampositiven *Staph. epidermidis* [100]. In der durchgeführten Studie entwickelten zwei von drei Kindern (67,0 %) mit Sepsis eine EOS. Hier waren zum einen *E. coli*, zum anderen B-Streptokokken die Auslöser. Im Falle der LOS konnte *Staph. epidermidis* in der Blutkultur nachgewiesen werden. Wurden am ersten Lebenstag pathogene Keime in der Blutkultur detektiert, war der IL-6 Wert im Nabelschnurblut über den labortechnisch definierten Referenzwert von 50,0 pg/ml erhöht (IL-6<sub>*E. coli*</sub> 36625 pg/ml, IL-6<sub>GBS</sub> 55 pg/ml), im Fruchtwasser wurden mittels ELISA Werte  $\geq 39744$  pg/ml, mittels POCT Werte  $\geq 10000$  pg/ml gemessen. Dass die IL-6 Konzentrationen im Nabelschnurblut für die zwei verschiedenen Bakterienspezies so unterschiedlich ausfallen, könnte damit erklärt werden, dass im Falle der Streptokokkeninfektion das Nabelschnurblut im Anfangsstadium der Infektion untersucht wurde und die Infektion damit so frühzeitig behandelt werden konnte, bevor es zu einem weiteren Anstieg der Zytokinwerte kam.

Die häufigsten Erreger der Neugeborenen-Infektion waren lange Zeit Streptokokken der Gruppe B [102,103]. Neueren Studien zufolge soll vor allem für sehr kleine Frühchen *E. coli* der Hauptauslöser sein [103–105]. Beide Erreger konnten in

vorliegender Studie im Zusammenhang mit der early-onset NG-Sepsis detektiert werden. Weitere mögliche Erreger sind Staphylokokken sowie Klebsiellen und Enterokokken [104]. Für die late-onset Sepsis war Staph. epidermidis ursächlich, sodass auch diese Aussage mit der durchgeführten Studie gestützt werden kann. Das Hauptrisiko für eine neonatale Infektion bzw. ein FIRS ist laut Puopolo et al. die mütterliche Infektion mit GBS, wobei die Bakterien mit Beginn der Wehentätigkeit oder im Rahmen des Blasensprungs intrauterin auf den Feten übertragen werden [106]. In vorliegender Studie wurden bei allen Müttern von Frühgeborenen mit einer Sepsis pränatal B-Streptokokken detektiert. In den Fällen mit einer EOS zeigte sich bei einer Schwangeren am Tag der Geburt im vaginalen sowie postpartal im plazentaren Abstrich das Wachstum von B-Streptokokken. Der frühe vorzeitige Blasensprung ereignete sich bereits zwei Wochen vorher. Im zweiten Fall mit einer frühen Neugeborenen-Sepsis zeigte sich fünf Tage vor Geburt cervical, vaginal und perianal eine Besiedelung mit B-Streptokokken. In diesem Fall hatte der PPROM noch nicht stattgefunden. Im Falle der LOS wurden kurz vor Eintritt des PPROM im cervicalen Abstrich B-Streptokokken detektiert. Die Aussage von Puopolo et al. kann mit den vorliegenden Daten folglich bestätigt werden. Laut Goldenberg et al. erfolgt bei bakteriell kontaminiertem Fruchtwasser in nur einem Drittel der Fälle der Nachweis positiver Blutkulturen beim Feten [16]. In einer weiteren Studie konnten genitale Mycoplasmen spp. im Nabelschnurblut von Frühchen  $\leq 32$  SSW detektiert werden [20]. In vorliegender Studie wurden bei keinem Frühgeborenen Mycoplasmen spp. nachgewiesen. Herting zufolge können die Feten zwar bereits intrauterin erkranken, die Mehrheit der Inzidenzen erfolge allerdings postnatal während des ersten Lebensstages [102]. Da die Studienpopulation ausschließlich aus Schwangeren mit einem frühen vorzeitigem Blasensprung bestand und die Bakterien entweder kurz vor dem Blasensprung oder danach nachgewiesen wurden, liegt die Ursache für die neonatale Manifestation wahrscheinlich in der intrauterinen Übertragung während des Blasensprungs. Gründe für die Manifestation der Erkrankung sind unter anderem das noch nicht ausgereifte Immunsystem der Früh- und Neugeborenen sowie ein Mangel an Immunglobulinen [104]. Besonders betroffen von Infektionen sind Frühgeburten jünger der 30. SSW. Bei späten Frühgeburten über der 34. SSW ist eine Infektion eher selten nachzuweisen. Hier besteht ein inverser Zusammenhang zwischen der Häufigkeit einer bakteriellen Besiedelung und dem Schwangerschaftsalter [13,24,104]. Die beiden Kinder, die in dieser Studie eine EOS entwickelten, wurden mit 27+3 SSW

und mit 31+1 SSW geboren, das Frühgeborene mit einer LOS kam mit 25+5 SSW auf die Welt. Alle dieser Kinder wogen bei Geburt weniger als 2500 g (900 g – 1700 g). Dies verdeutlicht die Bedeutung des unreifen Immunsystems der Frühchen, das noch nicht in der Lage ist, Infektionen adäquat zu bekämpfen. Daher sind nichtinvasive Untersuchungen, wie sie in vorliegender Studie durchgeführt wurden, umso wichtiger, um frühzeitig Gefahren sowohl für die Mutter als auch für das Kind entdecken und adäquat darauf reagieren zu können.

#### **5.4 Limitationen und Stärken der Studie**

Die Schwangeren mit einem frühen vorzeitigen Blasensprung sammelten vom Zeitpunkt des PPROM bis zur Entbindung täglich ihr abgehendes Vaginalsekret in Binden. Das Fruchtwasser wurde nichtinvasiv aus dem Vaginalsekret gewonnen. Betrug die Latenzperiode zwischen dem Blasensprung und der Geburt weniger als 24 Stunden, war eine standardisierte Auswertung dieser Fruchtwasserproben nicht möglich. Ging außerdem nicht ausreichend Fruchtwasser für die Durchführung des ELISA und des POCT ab, konnten die Proben ebenso wenig vermessen werden. Eine weitere Einschränkung erfährt die Studie aufgrund der kleinen Stichprobe und der geringen Fallzahlen in den Kohorten. Von 20 eingeschlossenen Schwangeren mit PPROM konnten von zwölf Frauen genügend Fruchtwasserproben zur Auswertung gewonnen werden. Aufgrund der Heterogenität dieser Studienpopulation können nur bedingt allgemeingültige Aussagen getroffen werden. Der POCT mit seinem limitierten Messbereich von 50 pg/ml – 10000 pg/ml ließ keine Aussagen über den Verlauf der Zytokinkonzentrationen zu, wenn die jeweiligen Werte darüber oder darunter lagen [59]. Er lieferte falsch negative Werte, sobald die Fruchtwasserproben stark mit Blut versetzt waren. Aufgrund dessen wurden keine Cut-off Werte für die Zytokinkonzentrationen bestimmt, bei deren Überschreiten eine entsprechende therapeutische Konsequenz gezogen werden sollte. Von erhöhten Konzentration konnte dennoch gesprochen werden.

Für eine initiale Einschätzung und um Tendenzen im Zytokinverlauf feststellen zu können, eignet sich der Point-of-Care-Test allerdings gut im klinischen Alltag. Da der ELISA im klinischen Setting nicht zur sofortigen Messung der Zytokinkonzentrationen verwendet werden kann, bietet der POCT aufgrund seiner signifikanten Korrelation mit dem ELISA eine schnelle und gute Alternative zur Bestimmung der Interleukinkonzentrationen am Patientenbett. Bisherige Studien über den POCT

lieferten ähnliche Ergebnisse wie die durchgeführten Untersuchungen [74,75,107,108]. Eine weitere Stärke dieser Studie lag in der sequentiellen täglichen nichtinvasiven Sammlung von Fruchtwasser über die gesamte Zeit von Blasensprung bis zur Geburt. Der gesamte Zeitraum der Fruchtwassergewinnung und die mütterlichen Parameter wurden ausführlich in der Arbeit von F. Aigner bearbeitet [56]. Ein bisher nicht untersuchter Zusammenhang und damit eine weitere Stärke dieser Studie bildete die Gegenüberstellung der Zytokinkonzentrationen aus dem Fruchtwasser mit dem neonatalen Outcome und neonatalen Parametern. Therapieentscheidungen wurden nicht beeinflusst.

Aufgrund der bisherigen Detektion intraamniotischer Entzündungsreaktionen im Fruchtwasser mit der invasiv durchgeführten Amniozentese [109,110] ist die Etablierung dieses Point-of-Care-Tests für nichtinvasiv gewonnenes Fruchtwasser zukunftssträchtig. Es bedarf weiterer Studienevaluierungen, damit dieser als Diagnosetool in den klinischen Alltag integriert werden könnte.

## 6 Zusammenfassung

Grundlage dieser prospektiven klinisch-experimentellen Studie bildeten alle Schwangeren und deren Neugeborenen der Klinik St. Hedwig in Regensburg, bei denen sich in einem Schwangerschaftsalter von 23+0 SSW bis 33+6 SSW ein früher vorzeitiger Blasensprung (PPROM) ereignete. Ein PPRM kann sowohl die Ursache als auch die Folge einer intrauterinen Infektion sein, weswegen eine maternale Entzündungsreaktion im klinischen Alltag detektiert und deren Verlauf beobachtet werden muss, um das bestmögliche Therapieregime im Hinblick auf das Ungeborene zu wählen. Im Rahmen dessen galt es, in dieser Studie die Zytokine Interleukin-6, Interleukin-8 und den Tumornekrosefaktor- $\alpha$  aus dem Fruchtwasser zu untersuchen und diese bezüglich des kindlichen Outcomes und relevanten Schwangerschaftsparametern zu analysieren. Das Fruchtwasser wurde nichtinvasiv aus dem Vaginalsekret der Schwangeren gewonnen. Zur Analyse der Zytokinkonzentrationen wurden zwei verschiedene Messmethoden, ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) und ein Lateral Flow Immunoassay (Point-of-care-Test, POCT) angewandt und miteinander verglichen.

Die Zytokinkonzentrationen aus dem nichtinvasiv gewonnenen Fruchtwasser waren signifikant höher, je früher in der Schwangerschaft der vorzeitige Blasensprung stattgefunden hatte und je früher es in der Folge zur Entbindung kam. Zusätzlich wurde ein signifikanter Unterschied in der Höhe der IL-6 Konzentrationen festgestellt, wenn ein Amnioninfektionssyndrom diagnostiziert wurde. Die mittels ELISA und POCT gemessenen Zytokinkonzentrationen korrelierten signifikant positiv miteinander, was eine Anwendung des POCT im klinischen Setting bei ausreichend vorhandenen und nicht verunreinigten Fruchtwasserproben zur Detektion maternaler Infektionen rechtfertigt. Der ELISA als Goldstandard misst allerdings signifikant höhere Konzentrationen als der POCT.

Im Hinblick auf die neonatalen Parameter waren die Entzündungswerte umso höher, je niedriger das Geburtsgewicht und je unreifer die Frühchen waren. Schwerpunkt der Arbeit war die Analyse der Zytokinkonzentrationen bezüglich eines fetalen Inflammationssyndroms, des Atemnotsyndroms und der Neugeborenen-Sepsis. Die Frühchen mit FIRS wurden alle aufgrund des V.a. Neugeborenen-Infektion und pränatal pathologischem Keimnachweis bei der Mutter antibiotisch behandelt. Ein Neugeborenes mit FIRS entwickelte eine frühe Neugeborenen-Sepsis, nachdem es

intrauterin einem AIS und erhöhten Interleukinkonzentrationen im Fruchtwasser ausgesetzt war. Ein fetales Inflammationssyndrom entwickelt sich demnach als Antwort auf eine intrauterine Entzündungsreaktion. Bei Diagnose eines Atemnotsyndroms bzw. einer Sepsis zeigten sich in den jeweiligen Kohorten deutlich höhere IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$  Konzentrationen als in den Kontrollgruppen.

Die Frühgeburtenrate sowie die Überlebenswahrscheinlichkeit von Frühchen nehmen aufgrund des medizinischen Fortschritts weiter zu. Gerade deshalb ist eine zügige nichtinvasive Diagnostik am Patientenbett unabdingbar, um sowohl der Mutter als auch dem Neugeborenen einen gesunden Start ins Leben zu ermöglichen.

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Grundmechanismen der Frühgeburt [13] .....	3
Abbildung 2: Das Gewinnen von Fruchtwasser mit der Knoblauchpresse .....	13
Abbildung 3: POC-Scan Reader mit Testeinheit des Milenia Quick Line .....	16
Abbildung 4: Kriterien der ein- und ausgeschlossenen Studienpopulation .....	19
Abbildung 5: Verlauf der IL-6 Konzentrationen im Fruchtwasser .....	20
Abbildung 6: Verlauf der IL-8 Konzentrationen im Fruchtwasser .....	20
Abbildung 7: Verlauf der TNF- $\alpha$ Konzentrationen im Fruchtwasser .....	21
Abbildung 8: Korrelation der IL-6 und IL-8 Konzentrationen (A) sowie der IL-6 und TNF- $\alpha$ Konzentrationen (B) im Fruchtwasser, gemessen mittels ELISA .....	22
Abbildung 9: Korrelation der IL-6 Werte von ELISA und POCT, dtb-0 (A), dtb-3 (B) .....	23
Abbildung 10: Statistischer Unterschied der IL-6 Werte von ELISA und POCT, dtb-0 (A), dtb-3 (B) .....	23
Abbildung 11: Korrelation von Schwangerschaftsalter bei PPRM in Tagen und Dauer des PPRM in Stunden .....	27
Abbildung 12: Korrelation von IL-6 und $SSA_{PPROM}$ , dtb-0 (A), dtb-1 (B); Korrelation von IL-6 und $SSA_{Geburt}$ , dtb-0 (C), dtb-1 (D) .....	28
Abbildung 13: Korrelation von IL-8 und $SSA_{PPROM}$ , dtb-0 (A), dtb-1 (B); Korrelation von IL-8 und $SSA_{Geburt}$ , dtb-0 (C), dtb-1 (D) .....	29
Abbildung 14: Korrelation von TNF- $\alpha$ und $SSA_{PPROM}$ , dtb-1 (A); Korrelation von TNF- $\alpha$ und $SSA_{Geburt}$ , dtb-1 (B) .....	30
Abbildung 15: Korrelation von IL-6 aus dem Fruchtwasser (dtb-0) und dem Geburtsgewicht .....	34
Abbildung 16: Korrelation von IL-6 aus dem Fruchtwasser und dem Nabelschnurblut, dtb-1 (A), dtb-2 (B) .....	35
Abbildung 17: Vergleich der IL-6 Werte aus dem Nabelschnurblut bezüglich gesichertem+V.a. AIS/ kein AIS .....	37
Abbildung 18: Vergleich der IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser (dtb-0) bezüglich AIS/ kein AIS .....	37
Abbildung 19: Vergleich der IL-6 Werte aus dem Fruchtwasser bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-1 mittels ELISA (B), dtb-0 mittels POCT (C) ...	38
Abbildung 20: Vergleich der IL-8 Werte aus dem Fruchtwasser bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-1 mittels ELISA (B) .....	38
Abbildung 21: Vergleich der TNF- $\alpha$ Werte aus dem Fruchtwasser bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-1 mittels ELISA (B) .....	39

Abbildung 22: Vergleich des CRP bezogen auf die Kohorten RDS/ kein RDS; kindliches CRP und RDS (A), mütterliches CRP und RDS (B) .....	39
Abbildung 23: IL-6 Konzentrationen bezogen auf die Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; dtb-0 mittels ELISA (A), dtb-3 mittels ELISA (B), dtb-0 mittels POCT (C), dtb-3 mittels POCT (D).	40
Abbildung 24: IL-8 Konzentrationen bezogen auf die Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; dtb-0 (A), dtb-3 (B) .....	41
Abbildung 25: TNF- $\alpha$ Konzentrationen bezogen auf die Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; dtb-0 (A), dtb-3 (B) .....	42
Abbildung 26: Verlauf der Zytokinkonzentrationen in den Kohorten Sepsis/ keine Sepsis; IL-6 (A), IL-8 (B), TNF- $\alpha$ (C) .....	43
Abbildung 27: Korrelation von IL-6 aus dem Nabelschnurblut und kindlichem CRP.....	44
Abbildung 28: Statistischer Unterschied von IL-6 im Nabelschnurblut (A) und im Fruchtwasser, dtb-0 (B) bezogen auf den Nachweis pathogener Keime.....	45

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Reagenzien für den ELISA.....	15
Tabelle 2: Geräte und Utensilien .....	17
Tabelle 3: ELISA- und POC-Scan-Kits zur Zytokinbestimmung und benötigte Materialien ...	18
Tabelle 4: Schwangerschaftsalter bei PPROM .....	25
Tabelle 5: Schwangerschaftsalter bei Geburt .....	25
Tabelle 6: Dauer des Blasensprungs.....	25
Tabelle 7: Art der Gravidität.....	25
Tabelle 8: Menge des Fruchtwasserdepots .....	26
Tabelle 9: Kardiotokographie vor Geburt .....	26
Tabelle 10: Entbindungsmodus .....	26
Tabelle 11: Plazentahistologie in Bezug auf AIS.....	26
Tabelle 12: RDS-Prophylaxe .....	26
Tabelle 13: Tokolyse .....	26
Tabelle 14: Keime bei V.a./gesichertem AIS.....	27
Tabelle 15: Das Outcome der Neugeborenen .....	32
Tabelle 16: IL-6 Konzentrationen aus Fruchtwasser, Nabelschnurblut und der 1-Minuten Apgar-Score .....	33
Tabelle 17: IL-6 Konzentrationen aus Fruchtwasser, Nabelschnurblut und der 5-Minuten Apgar-Score .....	33
Tabelle 18: IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser (ELISA) in den Kohorten Sepsis/keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0 .....	40
Tabelle 19: IL-6 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser (POCT) in den Kohorten Sepsis/keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0 .....	41
Tabelle 20: IL-8 Konzentrationen aus dem Fruchtwasser in den Kohorten Sepsis/keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0 .....	42
Tabelle 21: TNF- $\alpha$ Konzentrationen aus dem Fruchtwasser in den Kohorten Sepsis/keine Sepsis zu den Zeitpunkten dtb-3, dtb-2, dtb-1, dtb-0 .....	43
Tabelle 22: Schwangerschaftsalter bei Geburt, IL-6 Konzentration im Nabelschnurblut, im Fruchtwasser, Nachweis pathogener Keime und Geburtsmodus.....	45

**Literaturverzeichnis**

1. March of Dimes, The Partnership for Maternal, Newborn & Child Health, Save the Children, WHO. Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth. 2012.
2. Beinder E. Impact of iatrogenic preterm birth on newborn morbidity. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2011;215(4):133–8. doi: 10.1055/s-0031-1284417. PubMed PMID: 21863527.
3. AQUA – Institut für angewandte Qualitätsförderung und Forschung. Qualitätsreport 2013. *Zeitschrift für Evidenz, Fortbildung und Qualität im Gesundheitswesen [Internet].* 2013 [cited 2017 Aug 16];107(8):569. Available from: <https://www.sqg.de/sqg/upload/CONTENT/Qualitaetsberichte/2013/AQUA-Qualitaetsreport-2013.pdf>.
4. Kirschner W, Halle H, Pogonke MA. Kosten der Früh- und Nichtfrühgeburten und die Effektivität und Effizienz von Präventionsprogrammen am Beispiel von BabyCare: Eine Schätzung auf der Grundlage der DRG unter Berücksichtigung der Primäraufnahmen in der Neonatologie. *Praev Gesundheitsf [Internet].* 2009 [cited 2017 Aug 16];4(1):41–50. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11553-008-0148-7.pdf>.
5. Weichert A, Weichert TM, Bergmann RL, Henrich W, Kalache KD, Richter R, Neymeyer J, Bergmann KE. Einflussfaktoren auf die Frühgeburt in Deutschland - Analyse der für Deutschland repräsentativen KiGGS-Daten. Available from: [https://www.thieme-connect.de/media/gebfra/201508/supmat/10-1055-s-0035-1557817-sup\\_gf939.pdf#Zum%20Artikel](https://www.thieme-connect.de/media/gebfra/201508/supmat/10-1055-s-0035-1557817-sup_gf939.pdf#Zum%20Artikel).
6. WHO. Preterm Birth [cited 2017 May 26]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>.
7. Westdeutscher Rundfunk Köln. Übersicht zur Frühgeborenen-Einteilung [cited 2017 Aug 8]. Available from: <http://www1.wdr.de/nachrichten/rheinland/fruehgeborene-informationen-100.html>.
8. Mader S. Preterm Birth [cited 2017 Aug 9]. Available from: <http://www.efcni.org/index.php?id=2285&L=-1%27>.
9. Saling E. SM. Allgemeines zu Fehl- und Frühgeburten [cited 2017 May 26]. Available from: <http://www.saling-institut.de/german/04infoph/01allg.html>.
10. World Health Organization. Preterm Birth [cited 2017 Aug 7]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>.
11. Berger R GY. Die Frühgeburt: Pathogenese, Risikoselektion und präventive Maßnahmen. *Preterm Delivery: Pathogenesis, Detection of Patients at Risk and Preventive Measures.*

12. Schleussner E. The prevention, diagnosis and treatment of premature labor. *Dtsch Arztebl Int.* 2013;110(13):227-35; quiz 236. doi: 10.3238/arztebl.2013.0227. PubMed PMID: 23596503.
13. Bernal AL. Die Frühgeburt: Herausforderungen und Chancen für die Prognose und Prävention. *PerkinElmer Life and Analytical Sciences.*
14. Ananth CV VA. Epidemiology of preterm birth and its clinical subtypes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006;19(12):773–82. doi: 10.1080/14767050600965882. PubMed PMID: 17190687.
15. Lockwood CJ KE. Markers of risk for preterm delivery. *J Perinat Med.* 1999;27(1):5–20. doi: 10.1515/JPM.1999.001. PubMed PMID: 10343929.
16. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008;371(9606):75–84. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60074-4. PubMed PMID: 18177778.
17. Roberto R, Mazor M, Munoz H, Gomez R, Galasso M, Sherer DM. The Preterm Labor Syndrome. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1993 [cited 2017 Aug 20];168(1):288. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.1994.tb21771.x/epdf>.
18. Wittwer A. Diagnostik und Therapie der Frühgeburtlichkeit bei vorzeitiger Wehentätigkeit, vorzeitigem Blasensprung und Amnioninfektionssyndrom.
19. Lockwood CJ. Pathogenesis of spontaneous preterm birth [cited 2017 Aug 22]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-of-spontaneous-preterm-birth?source=see\\_link&sectionName=ACTIVATION%20OF%20THE%20HPA%20AXIS&anchor=H3#H3](https://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-of-spontaneous-preterm-birth?source=see_link&sectionName=ACTIVATION%20OF%20THE%20HPA%20AXIS&anchor=H3#H3).
20. Goldenberg R, Andrews W, Goepfert AR, Faye-Petersen O, Cliver SP, Carlo WA, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth Study: Umbilical cord blood *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* cultures in very preterm newborn infants [cited 2020 Apr 18]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000293780700912X>.
21. Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Pineles BL, Erez O, et al. The fetal inflammatory response syndrome. *Clin Obstet Gynecol.* 2007;50(3):652–83. doi: 10.1097/GRF.0b013e31811ebef6. PubMed PMID: 17762416.
22. Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, Österreichische Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, Schweizerische Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe. Prävention und Therapie der Frühgeburt [cited 2020 May 24]. Available from: [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/015-025l\\_S2k\\_Praevention-Therapie\\_Fruhegeburt\\_2020-02.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/015-025l_S2k_Praevention-Therapie_Fruhegeburt_2020-02.pdf).

23. Challis J, Lockwood C, Myatt L, Norman J, Strauss J, Petraglia F. Inflammation and pregnancy. *Reprod Sci.* 2009;16(2):206–15. doi: 10.1177/1933719108329095. PubMed PMID: 19208789.
24. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000;342(20):1500–7. doi: 10.1056/NEJM200005183422007. PubMed PMID: 10816189.
25. Kusi E. Der immunmodulatorische Effekt von Indometacin und Betamethason auf die Zytokinproduktion fetaler mononukleärer Zellen nach in-vitro Stimulation mit *Streptococcus agalactiae* und *Enterococcus faecalis* [Dissertation]. Regensburg: Universität Regensburg; 2015.
26. Shim SS, Romero R, Hong JS, Park CW, Jun JK, Kim BI, Yoon BH. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(4):1339–45. doi: 10.1016/j.ajog.2004.06.085. PubMed PMID: 15507963.
27. Robinson J NE. Preterm birth: Risk factors and interventions for risk reduction [cited 2017 Aug 22]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/preterm-birth-risk-factors-and-interventions-for-risk-reduction?source=see\\_link](https://www.uptodate.com/contents/preterm-birth-risk-factors-and-interventions-for-risk-reduction?source=see_link).
28. Bhattacharya S, Raja EA, Mirazo ER, Campbell DM, Lee AJ, Norman JE, Bhattacharya S. Inherited predisposition to spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2010;115(6):1125–33. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181dffcdb. PubMed PMID: 20502281.
29. Zeitlin J, Saurel-Cubizolles MJ, De Mouzon J, Rivera L, Ancel PY, Blondel B, Kaminski M. Fetal sex and preterm birth: Are males at greater risk? *Hum Reprod.* 2002;17(10):2762–8. PubMed PMID: 12351559.
30. Joseph KS, Liston RM, Dodds L, Dahlgren L, Allen AC. Socioeconomic status and perinatal outcomes in a setting with universal access to essential health care services. *CMAJ.* 2007;177(6):583–90. doi: 10.1503/cmaj.061198. PubMed PMID: 17846440.
31. Han Z, Mulla S, Beyene J, Liao G, McDonald SD. Maternal underweight and the risk of preterm birth and low birth weight: A systematic review and meta-analyses. *Int J Epidemiol.* 2011;40(1):65–101. doi: 10.1093/ije/dyq195. PubMed PMID: 21097954.
32. Han Z, Lutsiv O, Mulla S, Rosen A, Beyene J, McDonald SD. Low gestational weight gain and the risk of preterm birth and low birthweight: A systematic review and meta-analyses. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011;90(9):935–54. doi: 10.1111/j.1600-0412.2011.01185.x. PubMed PMID: 21623738.
33. Shrim A, Ates S, Mallozzi A, Brown R, Ponette V, Levin I, Shehata F, Almog B. Is young maternal age really a risk factor for adverse pregnancy outcome in a canadian tertiary referral hospital? *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2011;24(4):218–22. doi: 10.1016/j.jpog.2011.02.008. PubMed PMID: 21620742.

34. Schure V, Voigt M, Schild RL, Hesse V, Carstensen M, Schneider KTM, Straube S. Perinatal Risks in "Late Motherhood" Defined Based On Parity and Preterm Birth Rate - an Analysis of the German Perinatal Survey (20th Communication). *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2012;72(1):49–55. doi: 10.1055/s-0031-1280407. PubMed PMID: 25253904.
35. Sibai BM, Caritis SN, Hauth JC, MacPherson C, VanDorsten JP, Klebanoff M, Landon M, Paul RH, Meis PJ, Miodovnik M, Dombrowski MP, Thurnau GR Moawad AH, Roberts J. Preterm delivery in women with preeclampsia or chronic hypertension relative to women with uncomplicated pregnancies. The National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(6):1520–4. PubMed PMID: 11120521.
36. Copper RL, Goldenberg RL, Das A, Elder N, Swain M, Norman G, Ramsey R, Cotroneo P, Collins BA, Johnson F, Jones P, Meier AM. The preterm prediction study: Maternal stress is associated with spontaneous preterm birth at less than thirty-five weeks' gestation. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(5):1286–92. PubMed PMID: 8942502.
37. McDonald SD, Han Z, Mulla S, Beyene J. Overweight and obesity in mothers and risk of preterm birth and low birth weight infants: Systematic review and meta-analyses. *BMJ.* 2010;341:c3428. doi: 10.1136/bmj.c3428. PubMed PMID: 20647282.
38. Aziz N, Cheng Y, Caughey A. Neonatal outcomes in the setting of preterm premature rupture of membranes complicated by chorioamnionitis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22(9):780–4. doi: 10.3109/14767050902922581. PubMed PMID: 19557664.
39. Huang J, Meng J, Choonara I, Xiong T, Wang Y, Wang H, Qu Y, Mu D. Antenatal infection and intraventricular hemorrhage in preterm infants: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(31):e16665. doi: 10.1097/MD.00000000000016665. PubMed PMID: 31374040.
40. Xing L, Wang G, Chen R, Ren J, Qian J, Huang Y. Is chorioamnionitis associated with neurodevelopmental outcomes in preterm infants? A systematic review and meta-analysis following PRISMA. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(50):e18229. doi: 10.1097/MD.00000000000018229. PubMed PMID: 31852083.
41. Bryant-Greenwood GD. The extracellular matrix of the human fetal membranes: Structure and function. *Placenta.* 1998;19(1):1–11. PubMed PMID: 9481779.
42. Parry S. Premature Rupture of the Fetal Membranes. *The Review of English Studies.* 1998;49(195):331–5. doi: 10.1093/res/49.195.331.

43. Egarter C RK. Früher vorzeitiger Blasensprung. In: Schneider H, Husslein P, Schneider KTM, editor. *Die Geburtshilfe: Mit 193 Tabellen*. 4th ed. Berlin: Springer; 2014. p. 557–67.
44. Wacker J, Bastert G, Beckmann MW, Sillem M. *Therapiehandbuch Gynäkologie und Geburtshilfe: Vorzeitiger Blasensprung*. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2007. 9 p. ger.
45. Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Furth EE, Lei H, Muschel RJ, Stetler-Stevenson WG, Strauss JF. 92-kd type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor. *Am J Pathol*. 1995;146(1):148–56. PubMed PMID: 7856724.
46. Schneider H. Vorzeitige Wehen, Zervixreifung und Blasensprung: Die Bedeutung von endokrinen und immunologischen Veränderungen. *Gynäkologe* [Internet]. 2000 [cited 2017 Aug 20](33):336–43. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs001290050558.pdf>.
47. Friese K MI. Vorzeitiger Blasensprung. In: Friese K, Mylonas I, Schulze A, editor. *Infektionserkrankungen der Schwangeren und des Neugeborenen*. 3rd ed. Wien: Springer; 2013. p. 585–94.
48. Antwerpes F. Amnioninfektionssyndrom [cited 2017 Aug 29]. Available from: <http://flexikon.doccheck.com/de/Amnioninfektionssyndrom>.
49. Simhan HN CTP. Preterm premature rupture of membranes: Diagnosis, evaluation and management strategies. *BJOG*. 2005;112 Suppl 1:32–7. doi: 10.1111/j.1471-0528.2005.00582.x. PubMed PMID: 15715592.
50. Ragosch V, Dudenhausen W, Grauel L, Schneider KTM, Vetter K, Weitzel H. *Empfehlungen zum Vorgehen beim vorzeitigen Blasensprung*. 2006.
51. Bublak R. Vorzeitiger Blasensprung: Abwarten lohnt sich. *Gynäkologie und Geburtshilfe* [Internet]. 2016 [cited 2018 Nov 16](21). Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s15013-016-0896-y>.
52. Kenyon S, Boulvain M, Neilson J. Antibiotics for preterm rupture of membranes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013(12):CD001058. doi: 10.1002/14651858.CD001058.pub3. PubMed PMID: 24297389.
53. Seelbach-Goebel B. Antibiotic Therapy for Premature Rupture of Membranes and Preterm Labor and Effect on Fetal Outcome. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2013;73(12):1218–27. doi: 10.1055/s-0033-1360195. PubMed PMID: 24771902.
54. Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel S. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;3:CD004454. doi: 10.1002/14651858.CD004454.pub3. PubMed PMID: 28321847.

55. Harding JE, Pang J, Knight DB, Liggins GC. Do antenatal corticosteroids help in the setting of preterm rupture of membranes? *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184(2):131–9. PubMed PMID: 11174492.
56. Aigner F. Die nichtinvasive Zytokinbestimmung aus Fruchtwasser nach frühem vorzeitigem Blasensprung: Korrelation von Zytokinwerten und mütterlichen Parametern [cited 2020 Sep 7]. Available from: [https://epub.uni-regensburg.de/43529/1/Dissertation\\_AignerFranziska\\_Rigorosum2020.pdf](https://epub.uni-regensburg.de/43529/1/Dissertation_AignerFranziska_Rigorosum2020.pdf).
57. Nils Nicolay, Arian Baume, Dr. med. Norbert Ostendorf, Dr. Frank Antwerpes. ELISA [cited 2017 Jul 23]. Available from: <http://flexikon.doccheck.com/de/ELISA>.
58. Lateral Flow Test [cited 2017 Jul 30]. Available from: [https://de.wikipedia.org/wiki/Lateral\\_Flow\\_Test](https://de.wikipedia.org/wiki/Lateral_Flow_Test).
59. Willsch C. Lateral Flow Immunoassay for the semi-quantitative/ quantitative evaluation of human Interleukin-6 (IL-6). 19 p.
60. Egarter C HP. Geburtsregulation und Wehensteuerung: Physiologie, Pathophysiologie und klinische Implikationen. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart. 35 p.
61. Wenstrom KD, Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL, DuBard MB, Cliver SP. Elevated second-trimester amniotic fluid interleukin-6 levels predict preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178(3):546–50. PubMed PMID: 9539524.
62. Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL, Gomez R, Romero R, Cassell GH. 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):606–12. PubMed PMID: 7645642.
63. Ahmed WAS, Ahmed MR, Mohamed ML, Hamdy MA, Kamel Z, Elnahas KM. Maternal serum interleukin-6 in the management of patients with preterm premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(19):3162–6. doi: 10.3109/14767058.2015.1118036. PubMed PMID: 26669630.
64. Romero R, Chaemsaitong P, Docheva N, Korzeniewski SJ, Tarca AL, Bhatti G, Xu Z, Kusanovic JP, Chaiyasit N, Dong Z, Yoon BH, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Yeo L, Kim YM. Clinical chorioamnionitis at term V: Umbilical cord plasma cytokine profile in the context of a systemic maternal inflammatory response. *J Perinat Med.* 2016;44(1):53–76. doi: 10.1515/jpm-2015-0121. PubMed PMID: 26360486.
65. Rodriguez-Trujillo A, Cobo T, Vives I, Bosch J, Kacerovsky M, Posadas DE, et al. Gestational age is more important for short-term neonatal outcome than microbial invasion of the amniotic cavity or intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016;95(8):926–33. doi: 10.1111/aogs.12905. PubMed PMID: 27061307.

66. Marchini G, Berggren V, Djilali-Merzoug R, Hansson LO. The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta Paediatr.* 2000;89(9):1082–6. PubMed PMID: 11071089.
67. Braun J. Einfluss des Tragzeitalters bzw. der Schwangerschaftsprolongation sowie schwangerschaftsspezifischer Parameter auf das fetale Outcome bei Frühgeburtsbestrebungen unter 28 SSW unter besonderer Berücksichtigung einer Tokolyse mit Indomethacin. Regensburg: Universität Regensburg.
68. Machado Reis J, Soave Figueiredo D, da Silva MV, Borges de Menezes L, Etchebehere RM, Gonçalves dos Reis Monteiro, ML, dos Reis MA, Corrêa RRM, Nunes Celes MR. Neonatal sepsis and inflammatory mediators. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:269681. doi: 10.1155/2014/269681. PubMed PMID: 25614712.
69. Kacerovsky M, Musilova I, Jacobsson B, Drahosova M, Hornychova H, Janku P, Prochazka M, Simetka O, Andrys C. Cervical fluid IL-6 and IL-8 levels in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(2):134–40. doi: 10.3109/14767058.2014.908179. PubMed PMID: 24670234.
70. Siedler D. Interleukin-8 (IL-8): Referenzwerte für den Einfluß von Hämatokrit und Hämolyse bei Früh- und Neugeborenen.
71. Dembinski J, Behrendt D, Heep A, Dorn C, Reinsberg J, Bartmann P. Cell-Associated Interleukin-8 in Cord Blood of Term and Preterm Infants. *Clinical and Vaccine Immunology.* 2002;9(2):320–3. doi: 10.1128/CDLI.9.2.320-323.2002.
72. Büscher U. Möglichkeiten der Infektabwehr des Neugeborenen und des Feten: Evaluierung der diagnostischen Mittel [cited 2018 Dec 1]. Available from: <https://edoc.hu-berlin.de/handle/18452/14512>.
73. Atici A, Satar M, Cetiner S, Yaman A. Serum tumor necrosis factor-alpha in neonatal sepsis. *Am J Perinatol.* 1997;14(7):401–4. doi: 10.1055/s-2007-994168. PubMed PMID: 9263559.
74. Chaemsaitong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A, Dong Z, Yoon BH, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Yeo L. A rapid interleukin-6 bedside test for the identification of intra-amniotic inflammation in preterm labor with intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(3):349–59. doi: 10.3109/14767058.2015.1006620. PubMed PMID: 25758618.
75. Chaemsaitong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A, Dong Z, Yoon BH, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Yeo L. A point of care test for interleukin-6 in amniotic fluid in preterm prelabor rupture of membranes: A step toward the early treatment of acute intra-amniotic inflammation/infection. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(3):360–7. doi: 10.3109/14767058.2015.1006621. PubMed PMID: 25758620.

76. Kunze M, Klar M, Morfeld CA, Thorns B, Schild RL, Markfeld-Erol F, et al. Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(1):96.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2016.01.181. PubMed PMID: 26829512.
77. Quist-Nelson J, Ruigh AA, Seidler AL, van der Ham DP, Willekes C, Berghella V, Pajkrt E, Patterson J, Espinoza D, Morris J, Mol B, Askie L. Immediate Delivery Compared With Expectant Management in Late Preterm Prelabor Rupture of Membranes: An Individual Participant Data Meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2018;131(2):269–79. doi: 10.1097/AOG.0000000000002447. PubMed PMID: 29324621.
78. Kayiga H, Lester F, Amuge PM, Byamugisha J, Autry AM. Impact of mode of delivery on pregnancy outcomes in women with premature rupture of membranes after 28 weeks of gestation in a low-resource setting: A prospective cohort study. *PLoS One.* 2018;13(1):e0190388. doi: 10.1371/journal.pone.0190388. PubMed PMID: 29320516.
79. Rudiger M KD. Apgar score and risk of cause-specific infant mortality. *Lancet.* 2015;385(9967):505–6. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60196-9. PubMed PMID: 25705838.
80. Iwen J. Geburtenreport: Eine Routinedatenanalyse zu Kaiserschnitt und Frühgeburt. Techniker Krankenkasse [Internet]. 2016 [cited 2017 Sep 27]. Available from: <https://www.tk.de/centaurus/servlet/contentblob/951938/Datei/69990/Geburtenreport-2017.pdf>.
81. Johanzon M, Odesjo, H, Jacobsson B, Sandberg K, Wennerholm U. Extreme preterm birth: Onset of delivery and its effect on infant survival and morbidity. *Obstet Gynecol.* 2008;111(1):42–50. doi: 10.1097/01.AOG.0000295866.97499.35. PubMed PMID: 18165391.
82. Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Stark AR, Bauer CR, Donovan EF, Korones SB, Laptook AR, Lemons JA, Oh W, Papile L, Shankaran S, Stevenson DK, Tyson JE, Poole WK. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(2):147.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2006.09.014. PubMed PMID: 17306659.
83. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, Hale EC, Newman NS, Schibler K, Carlo WA, Kennedy KA, Poindexter BB, Finer NN, Ehrenkranz RA, Duara S, Sanchez PJ, O'Shea TM, Goldberg RN, van Meurs KP, Faix RG, Phelps DL, Frantz ID, Watterberg KL, Saha S, Das A, Higgins RD. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2010;126(3):443–56. doi: 10.1542/peds.2009-2959. PubMed PMID: 20732945.

84. Bancalari E, Claure N, Gonzalez A. Patent ductus arteriosus and respiratory outcome in premature infants. *Biol Neonate*. 2005;88(3):192–201. doi: 10.1159/000087582. PubMed PMID: 16210841.
85. Yoon BH, Romero R, Jun JK, Park KH, Park JD, Ghezzi F, Kim BI. Amniotic fluid cytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8) and the risk for the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;177(4):825–30. PubMed PMID: 9369827.
86. Watterberg KL, Demers LM, Scott SM, Murphy S. Chorioamnionitis and early lung inflammation in infants in whom bronchopulmonary dysplasia develops. *Pediatrics*. 1996;97(2):210–5. PubMed PMID: 8584379.
87. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(4):757–89. doi: 10.1128/CMR.18.4.757-789.2005. PubMed PMID: 16223956.
88. Katz B, Patel P, Duffy L, Schelonka RL, Dimmitt RA, Waites KB. Characterization of ureaplasmas isolated from preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *J Clin Microbiol*. 2005;43(9):4852–4. doi: 10.1128/JCM.43.9.4852-4854.2005. PubMed PMID: 16145157.
89. Schelonka RL, Katz B, Waites KB, Benjamin DK. Critical appraisal of the role of Ureaplasma in the development of bronchopulmonary dysplasia with metaanalytic techniques. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24(12):1033–9. PubMed PMID: 16371861.
90. Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BI, Jun JK. A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 1999;181(4):773–9. doi: 10.1016/S0002-9378(99)70299-1.
91. Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Jun JK, Gomez R, Choi JH, Syu HC. Amniotic fluid interleukin-6: A sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity [cited 2020 Apr 13]. Available from: [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(95\)90028-4](https://doi.org/10.1016/0002-9378(95)90028-4).
92. Yoon BH, Jun JK, Romero R, Park KH, Gomez R, Choi JH, Kim IO. Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1beta, and tumor necrosis factor-alpha), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy [cited 2020 Apr 13]. Available from: [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(97\)70432-0/fulltext](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(97)70432-0/fulltext).
93. Yoon BH, Romero R, Yang SH, Jun JK, Kim IO, Choi JH, Syn HC. Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. [cited 2020 Apr 13]. Available from: 10.1016/s0002-9378(96)70585-9.

94. Pierce BT, Pierce LM, Wagner RK, Apodaca CC, Hume RF, Nielsen PE, Calhoun BC. Hypoperfusion causes increased production of interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in the isolated, dually perfused placental cotyledon. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(4):863–7. doi: 10.1067/mob.2000.108887. PubMed PMID: 11035327.
95. Jung E, Romero R, Yeo L, Diaz-Primera R, Marin-Concha J, Para R, Lopez AM, Pacora P, Gomez-Lopez N, Yoon BH, Kim CJ, Berry SM, Hsu CD. The fetal inflammatory response syndrome: The origins of a concept, pathophysiology, diagnosis, and obstetrical implications. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* [Internet]. 2020;25(4):101146. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1744165X20300718>.
96. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(1):194–202. PubMed PMID: 9704787.
97. Pacora P, Chaiworapongsa T, Maymon E, Kim YM, Gomez R, Yoon BH, et al. Funisitis and chorionic vasculitis: The histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002;11(1):18–25. doi: 10.1080/jmf.11.1.18.25. PubMed PMID: 12380603.
98. Gibson E NU. Respiratory Distress Syndrome in Neonates [cited 2017 Sep 27]. Available from: <http://www.merckmanuals.com/professional/pediatrics/perinatal-problems/respiratory-distress-syndrome-in-neonates>.
99. Levit O, Jiang Y, Bizzarro MJ, Hussain N, Buhimschi CS, Gruen JR, Zhang H, Bhandari V. The genetic susceptibility to respiratory distress syndrome. *Pediatr Res.* 2009;66(6):693–7. doi: 10.1203/PDR.0b013e3181bbce86. PubMed PMID: 19687775.
100. Nakstad B. The diagnostic utility of procalcitonin, interleukin-6 and interleukin-8, and hyaluronic acid in the Norwegian consensus definition for early-onset neonatal sepsis (EONS). *Infect Drug Resist.* 2018;11:359–68. doi: 10.2147/IDR.S155965. PubMed PMID: 29563816.
101. Memar MY, Alizadeh N, Varshochi M, Kafil HS. Immunologic biomarkers for diagnostic of early-onset neonatal sepsis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017:1–11. doi: 10.1080/14767058.2017.1366984. PubMed PMID: 28797204.
102. Herting E. Prophylaxe der Neugeborenssepsis - frühe Form - durch Streptokokken der Gruppe B [cited 2017 May 27]. Available from: [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/024-020l\\_S2k\\_Prophylaxe\\_Neugeborenssepsis\\_Streptokokken\\_2016-04.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-020l_S2k_Prophylaxe_Neugeborenssepsis_Streptokokken_2016-04.pdf).
103. Stoll BJ, Hansen NI, Sanchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, van Meurs KP, Bizzarro MJ, Goldberg RN, Frantz ID, Hale EC, Shankaran S, Kennedy K, Carlo WA, Watterberg KL, Bell EF, Walsh MC, Schibler K, Laptook AR, Shane AL, Schrag SJ, Das A, Higgins RD.

- Early onset neonatal sepsis: The burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics*. 2011;127(5):817–26. doi: 10.1542/peds.2010-2217. PubMed PMID: 21518717.
104. Berner R, Bialek R, Borte M, Forster J, Heininger U, Liese JG, Nadal D, Roos R, Scholz H. Fetale und neonatale Infektionen. In: Gesellschaft fPID, editor. *DGPI Handbuch: Infektionen bei Kindern und Jugendlichen*. 6th ed. s.l.: Georg Thieme Verlag KG; 2013.
105. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Lemons JA, Donovan EF, Stark AR, Tyson JE, Oh W, Bauer CR, Korones SB, Shankaran S, Laptook AR, Stevenson DK, Papile LA, Poole WK. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med*. 2002;347(4):240–7. doi: 10.1056/NEJMoa012657. PubMed PMID: 12140299.
106. Puopolo KM BCJ. Group B streptococcal infection in neonates and young infants [cited 2017 May 27]. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/group-b-streptococcal-infection-in-neonates-and-young-infants>.
107. Berthiaume M, Rousseau E, Rola-Pleszczynski M, Pasquier JC. Rapid evaluation of the absence of inflammation after rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014;27(9):865–9. doi: 10.3109/14767058.2013.829814. PubMed PMID: 23947432.
108. Chaemsaitong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Dong Z, Yeo L, Hassan SS, Kim YM, Yoon BH, Chaiworapongsa T. A point of care test for the determination of amniotic fluid interleukin-6 and the chemokine CXCL-10/IP-10. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015;28(13):1510–9. doi: 10.3109/14767058.2014.961417. PubMed PMID: 25182862.
109. Kacerovsky M, Musilova I, Hornychova H, Kutova R, Pliskova L, Kostal M, Jacobsson B. Bedside assessment of amniotic fluid interleukin-6 in preterm prelabor rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;211(4):385.e1-9. doi: 10.1016/j.ajog.2014.03.069. PubMed PMID: 24705131.
110. Romero R, Yoon BH, Mazor M, Gomez R, Gonzalez R, Diamond MP, Baumann P, Araneda H, Kenney JS, Cotton DB. 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):839–51. PubMed PMID: 7694463.

## **Danksagung**

Bedanken möchte ich mich bei all den Personen, die mir während der Anfertigung dieser Arbeit mit Rat und Tat zur Seite standen und mich in dieser Zeit unterstützten.

Mein Dank gilt zunächst Frau Prof. Dr. med. Birgit Seelbach-Göbel, Direktorin in Ruhestand der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe der Universität Regensburg. Ich danke Ihnen für die Betreuung dieser Arbeit und die Möglichkeit, an diesem spannenden Thema forschen zu dürfen. Vielen Dank für Ihr Vertrauen und Ihre Unterstützung.

Ein besonderer Dank geht an Frau Dr. med. Dipl. Biol. Edith Reuschel, die mir bei Fragen und Sorgen jederzeit zur Seite stand.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Dr. Wolfgang Ernst und Frau Ellen Wiesler für die gute Zusammenarbeit im Labor und die Unterstützung bei statistischen Fragestellungen bedanken.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Kommilitonin Franziska Aigner für ihre Motivation und ihren Tatendrang, meinem Partner für seine Unterstützung und sein Verständnis sowie meinen Eltern und meiner Schwester für den immerwährenden Rückhalt danken.

## **Erklärung**

Die vorliegende Arbeit wurde am Lehrstuhl für Frauenheilkunde und Geburtshilfe unter der Betreuung von Prof. Dr. med. Birgit Seelbach-Göbel durchgeführt. Die Gewinnung und Analyse der Proben erfolgten durch mich in Zusammenarbeit mit Franziska Aigner. Die gewonnenen Daten wurden anschließend im Hinblick auf unterschiedliche Fragestellungen ausgewertet.

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich keine entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, erhalten. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

*Nadine Hock*

---

Nadine Hock, Aschaffenburg, den 16.01.2021