

Aus der Universitätsfrauenklinik und Poliklinik am Klinikum Südstadt Rostock
 Südring 81
 18059 Rostock

Direktor: Prof. Dr. med. habil. Bernd Gerber
 (Themenvergeber: Prof. Dr. med. habil. Johannes Stubert)

Untersuchungen zur diagnostischen Präzision prädiktiver Biomarker in der Risikoevaluation der drohenden Frühgeburt

**Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Universitätsmedizin Rostock**

**vorgelegt von
Kathleen Gründler, geb. Hömke, geboren am 23.08.1988 in Schwedt/Oder
aus Schwerin**

Schwerin, August 2022

Dekan: Prof. Dr. med. univ. Emil C. Reisinger, MBA

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Johannes Stubert

2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Dagmar-Christiane Fischer

3. Gutachter: Prof. Dr. med. Dirk Watermann

Jahr der Promotion: 2023

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	III
Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	IX
1 Einleitung.....	1
1.1 Definition und Folgen der Frühgeburt.....	1
1.2 Klassifikation und Epidemiologie der Frühgeburt	2
1.3 Ätiologie der Frühgeburt.....	4
1.4 Prädiktoren der Frühgeburt	9
1.4.1 Risikofaktoren der Frühgeburt	9
1.4.2 Klinische Zeichen der Frühgeburt.....	10
1.4.3 Sonographische Prädiktoren	11
1.4.4 Klinisch etablierte zervikovaginale Biomarker	14
1.4.5 in der Forschung befindliche zervikovaginale Biomarker	16
1.5 Studienansatz und Studienziel	19
2 Material und Methoden	20
2.1 Studiendesign und Rekrutierung der Patientinnen.....	20
2.2 Verarbeitung des Untersuchungsmaterials.....	23
2.2.1 Probengewinnung, Zervixabstrich und Lagerung.....	23
2.2.2 Probenaufarbeitung	23
2.3 Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA)	24
2.3.1 Methode.....	24
2.3.2 Durchführung	25
2.4 Statistik.....	28

3	Ergebnisse.....	30
3.1	Charakterisierung des Studienkollektivs	30
3.2	Therapiemanagement	33
3.2.1	Medikamentöse und invasive Präventionsstrategien	33
3.2.2	Entbindungsmodus.....	34
3.3	Neonatales Outcome.....	34
3.4	Risikoanalyse für das Auftreten einer Frühgeburt	35
3.4.1	Risikoanalyse für maternale, klinische und mikrobiologische Risikofaktoren	35
3.4.2	Sonographische Risikofaktoren: Zervixlänge und Zervikouteriner Winkel	39
3.4.3	Biomarker Desmoplakin, Stratifin und Thrombospondin-1 im Zervikovaginalsekret... ..	44
4	Diskussion.....	56
4.1	Maternale und mikrobiologische Risikofaktoren	56
4.2	Klinische Prädiktoren der Frühgeburt	56
4.3	Sonographische Prädiktoren	58
4.3.1	Zervixlänge als Prädiktor	58
4.3.2	Zervikouteriner Winkel als Prädiktor.....	59
4.4	Biochemische Prädiktoren der Frühgeburt	61
4.5	Methodenkritik.....	63
5	Zusammenfassung.....	64
6	Thesen	66
7	Literatur.....	67
8	Veröffentlichungen und Präsentationen	83
9	Danksagung	84
10	Lebenslauf	85
11	Selbstständigkeitserklärung.....	86

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropin
aOR	adjustierte Odds Ratio
AUC	Fläche unter der Kurve (engl. Area Under the Curve)
BMI	Body-Mass-Index
BPD	biparitaler Kopfdurchmesser
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
DHEA-S	Dehydroepiandrosteronsulfat
EA	Eigenanamnese
fFN	fetales Fibronektin
FG	Frühgeburt
GA	Gestationsalter
IQB	Interquartilbereich
KI	Konfidenzintervall
LR	Likelihood Ratio
MM	Muttermund
NPV	negativer Vorhersagewert
OR	Odds Ratio
p	Signifikanzwert
PAMG-1	plazentares Alpha-Mikroglobulin 1
phIGFBP-1	phosphorylierter insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1
PPV	positiver Vorhersagewert
r	Korrelationskoeffizient
ROC	Operationscharakteristik eines Beobachters (receiver operating characteristic)
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SFN	Stratifin
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
SSW	Schwangerschaftswoche
THBS-1	Thrombospondin-1
TVS	transvaginale Sonographie
VBS	vorzeitiger Blasensprung
ZL	Zervixlänge
ZUW	Zervikouteriner Winkel
ZVS	Zervikovaginalsekret

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Überblick über die Definition der Frühgeburt.....	3
Abbildung 2:	Frühgeburtssklassifikation nach Villar et al.	4
Abbildung 3:	Endstrecke der Geburtsaktivierung.....	5
Abbildung 4:	Auswirkungen eines Progesteronentzuges während der Schwangerschaft.....	6
Abbildung 5:	Stress induzierte Störung der CRH/ACTH/Cortisol-Achse mit konsekutiver Induktion von Wehentätigkeit	8
Abbildung 6:	Referenzwerte der Zervixlänge während des Schwangerschaftsverlaufes von 16-36 SSW	12
Abbildung 7:	Schematische Darstellung des zervikouterinen Winkels (A); Transvaginale Zervixsonographie mit eingezeichnetem zervikouterinen Winkel (B)	22
Abbildung 8:	Leukosep™ Röhrrchen mit zervikovaginalen Nylonabstrichtupfer vor der Zentrifugation (A); Laborarbeitsplatz mit geöffneter Megafuge 10 (B)	24
Abbildung 9:	Schematische Darstellung des Enzyme-linked Immunosorbent Assays	25
Abbildung 10:	Schematische Darstellung der Herstellung der Verdünnungsreihe für ELISA-Kit Thrombospondin-1	26
Abbildung 11:	ELISA-Platte: ELISA-Platte nach Auftragen der Verdünnungsreihe und der Proben (A); blauer Farbumschlag nach Hinzugabe der Substratlösung (B); gelber Farbumschlag nach Hinzugabe der Stopplösung (C)	27
Abbildung 12:	Streudiagramm mit Darstellung des Zusammenhangs zwischen Gestationsalter zum Studienaufnahmezeitpunkt (A) bzw. Entbindungszeitpunkt (B) und Zeitintervall bis zur Entbindung in Tagen	30
Abbildung 13:	Analyse von Prädiktoren für die Frühgeburt <34 SSW (A) und Frühgeburt <37 SSW (B).....	38
Abbildung 14:	Gruppierte Boxplotdarstellung mit Abbildung des Zusammenhangs zwischen Zervixlänge zum Aufnahmezeitpunkt und Gestationsalter zum Entbindungszeitpunkt für Einlinge (blau, n=95) und Mehrlinge (rot, n=14)	39
Abbildung 15:	Streudiagramm mit Darstellung der funktionellen Zervixlänge (blau) und des zervikouterinen Winkels (rot) bei drohender Frühgeburt <32 SSW zum Aufnahmezeitpunkt in Abhängigkeit der SSW bei Entbindung bei Einlingsgravida	40
Abbildung 16:	ROC-Analyse für die Zervixlänge bei Frühgeburt <34 SSW (A) und Frühgeburt <37 SSW (B)	40

Abbildung 17:	Gruppierte Boxplotdarstellung mit Darstellung des Zusammenhangs zwischen zervikouterinen Winkel und Gestationsalter zum Entbindungszeitpunkt für Einlinge (blau, n=95) und Mehrlinge (rot, n=14)	42
Abbildung 18:	ROC-Analyse für den zervikouterinen Winkel in der Prädiktion der Frühgeburt <34 SSW (A) und Frühgeburt <37 SSW (B).....	43
Abbildung 19:	Boxplotdarstellung der Desmoplakinkonzentration im Zervikovaginalsekret in ng/ml, gemessen mittels ELISA, in den unterschiedlichen Entbindungsgruppen (n=40): Entbindung <34 SSW n=12, 34 - <37 SSW n=15 und ≥37 SSW n=13	44
Abbildung 20:	Boxplotanalysen der Desmoplakinkonzentration im Zervikovaginalsekret in ng/ml, gemessen mittels ELISA, bei Entbindung <34 SSW (Entbindung <34 SSW n=12, ≥34 SSW n=28) (A) und Entbindung <37 SSW (Entbindung <37 SSW n=27 vs. ≥37 SSW n=13) (B).	45
Abbildung 21:	ROC-Analyse von Desmoplakin im Zervikovaginalsekret für die Prädiktion der Frühgeburt <34 SSW (A) und Frühgeburt <37 SSW (B).....	46
Abbildung 22:	Boxplotdarstellung der Stratifinkonzentration im Zervikovaginalsekret in pg/ml, gemessen mittels ELISA, in den unterschiedlichen Entbindungsgruppen nach Gestationsalter am gesamten Studienkollektiv (n=109): Entbindung <34 SSW n=16, 34 - <37 SSW n=20 und ≥37 SSW n=73.....	47
Abbildung 23:	Boxplotdarstellung der Stratifinkonzentration im Zervikovaginalsekret in pg/ml, gemessen mittels ELISA, am gesamten Studienkollektiv (n=109) für FG <34 SSW (Entbindung <34 SSW n=16 vs. ≥34 SSW n=93) (A) und FG <37 SSW (Entbindung <37 SSW n=36 vs. ≥37 SSW n=73) (B).	47
Abbildung 24:	ROC-Analyse für Stratifin im Zervikovaginalsekret für die Prädiktion der Frühgeburt <34 SSW (A) und Frühgeburt <37 SSW (B).....	48
Abbildung 25:	Boxplot der Thrombospondin-1-Konzentration [pg/ml] im Zervikovaginalsekret, gemessen mittels ELISA, gruppiert nach Gestationsalter zum Entbindungszeitpunkt für das gesamte Studienkollektiv (n=109): Entbindung <34 SWS n=16, 34 - < 37 SWS n=20 und ≥ 37 SWS n=73) (A) sowie gruppiert nach Einlings-(blau, n=95) und Mehrlingsgravida (rot, n=14) (B).	49
Abbildung 26:	Profildiagramm der geschätzten Randmittelwerte für Thombospondin-1 im Zervikovaginalsekret, gemessen mittels ELISA, für Einlings- (blau, n=95) und Mehrlingsgravida (rot, n=14).....	50
Abbildung 27:	ROC-Kurven für die Prädiktion der spontanen Frühgeburt für Thrombospondin-1 im Zervikovaginalsekret für Entbindung <34 SSW (A), <37 SSW (B) und innerhalb von sieben Tagen nach Studienaufnahme (C).....	50

Abbildung 28:	Ergebnisse der multiplen logistischen Regression: Ergebnisse bei Verwendung des optimalen Cut-off-Wertes von Thrombospondin-1 von 2.163 pg/ml (A) und Ergebnisse bei Verwendung des diagnostischen Cut-off-Wertes von 4.420 pg/ml (B).	53
Abbildung 29:	Kaplan-Meier Kuve mit Darstellung des Risikos für eine Frühgeburt <34 SSW (A, B) und Frühgeburt <37 SSW (C, D) bei Verwendung des optimalen Thrombospondin-1 Cut-off-Wertes von 2.163 pg/ml (A, C) und diagnostischen Cut-off-Wertes von 4.420 pg/ml (B, D).	54/55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Risikofaktoren der Frühgeburt	9
Tabelle 2:	Testcharakteristika klinischer Parameter in der Prädiktion einer Frühgeburt <34+0 SSW (Prävalenz 33,9%). Subgruppe der Frauen mit drohender Frühgeburt <32+0 SSW	11
Tabelle 3:	Testgütekriterien für die Prädiktion einer Frühgeburt <34 SSW von symptomatischen Schwangeren bei verschiedenen Cut-off-Werten laut einer Metaanalyse	13
Tabelle 4:	Biomarker und deren kommerzielle Tests zur Prädiktion der Frühgeburt innerhalb der nächsten sieben Tage	15
Tabelle 5:	Testgütekriterien für die Prädiktion der Frühgeburt innerhalb von sieben Tagen von plazentares Alpha-Mirkoglobulin-1, fetales Fibronektin and phosphorylierter insulinähnlicher Wachstumsfaktor-1 für das intermediäre Risikoprofil (Zervixlänge 15-30 mm).....	16
Tabelle 6:	Westin-Score.	21
Tabelle 7:	Verwendete ELISA-Kits für die Proteinquantifizierung im Zervikovaginalsekret mit Angabe von Variabilitätskoeffizienten, Detektionsbreite und Detektionslimit (Sensitivität).....	25
Tabelle 8:	Charakteristik des Studienkollektivs	32
Tabelle 9:	Medikamentöse und invasive Präventionsstrategien.	33
Tabelle 10:	Entbindungsmodus.....	34
Tabelle 11:	Neonatales Outcome.....	35
Tabelle 12:	Testgütekriterien klinischer Risikofaktoren für das Auftreten einer Frühgeburt ...	36
Tabelle 13:	Unadjustierte Odds Ratio zwischen Risikofaktor und Frühgeburt <34 SSW.....	36
Tabelle 14:	Unadjustierte Odds Ratio zwischen Risikofaktor und Frühgeburt <37 SSW	37
Tabelle 15:	Testgütekriterien für die Zervixlänge für die Prädiktion einer Frühgeburt.....	41
Tabelle 16:	Odds Ratios für die Prädiktion der Frühgeburt <34 SSW bei verschiedenen Cut-off Werten für die Zervixlänge.....	41
Tabelle 17:	Deskriptive Statistik der Demoplakinkonzentration im Zervikovaginalsekret in ng/ml nach Entbindungsgruppen	45
Tabelle 18:	Testcharakteristika von Desmoplakin für die Prädiktion einer Frühgeburt	46
Tabelle 19:	Deskriptive Statistik der Stratifinkonzentration im Zervikovaginalsekret nach Entbindungsgruppen	48
Tabelle 20:	Testcharakteristika von Stratifin im Zervikovaginalsekret für die Prädiktion einer Frühgeburt	49

Tabelle 21:	Cut-off Werte für Thrombospondin-1 für die Prädiktion der Frühgeburt	51
Tabelle 22:	Testcharakteristik von Thrombospondin-1 zur Prädiktion der Frühgeburt mittels zwei verschiedener Cut-off-Werte	51

1 Einleitung

1.1 Definition und Folgen der Frühgeburt

Definiert ist die Frühgeburt (FG) als Entbindung eines Kindes vor der 37. vollendeten Schwangerschaftswoche (SSW) mit einem Gewicht von mindestens 500 g oder mit Lebenszeichen, unabhängig vom Geburtsgewicht [1].

Die Berechnung des Gestationsalters (GA) bezieht sich auf den ersten Tag der letzten Menstruationsblutung. In Ländern mit Verfügbarkeit einer Sonographie erfolgt während des ersten Sonographiescreenings zwischen 9 bis 12 SSW post menstruationem zusätzlich die Messung der fetalen Scheitel-Steiß-Länge (SSL) bzw. des biparitalen Kopfdurchmessers (BPD). Liegt nach Messung eine Abweichung des GA von mehr als sieben Tagen vor, sollte eine Korrektur des GA nach Ultraschallbefund erfolgen.

Die Überlebensfähigkeit Neugeborener ist global stark von den medizinischen Versorgungsgegebenheiten abhängig. Der Beginn potentieller Lebensfähigkeit ist daher regional unterschiedlich zwischen 18 SSW – 28 SSW definiert [2]. In Deutschland wird ab 24+0 SSW und einem Gewicht ≥ 400 g eine lebenserhaltene Therapie angestrebt [3]. Aufgrund der geringen Überlebenswahrscheinlichkeit des Neugeborenen wird unter 22+0 SSW als auch bei einem Gewicht von weniger als 400 g <23+0 SSW ein palliatives Therapiemanagement angeraten. Der Zeitraum zwischen 22+0 SSW und 23+6 SSW und einem Gewicht ≤ 400 g wird als Grauzone definiert. Laut Leitlinie kann eine Maximaltherapie oder ein palliatives Therapiekonzept nach umfassender Aufklärung über das hohe fetale Morbitäts- und Mortalitätsrisiko im Konsens mit den Eltern festgelegt werden.

Die mit der FG einhergehende fetale Morbidität und Mortalität zeigt einen inversen Zusammenhang mit dem GA [4]. Für das Neugeborene ist daher der Entbindungszeitpunkt für die Gesundheit und die spätere Entwicklung im Kindes- bis zum Erwachsenenalter von entscheidender Bedeutung. Von den weltweit etwa 15 Millionen Frühgeborenen pro Jahr sterben etwa eine Million an den Komplikationen ihrer FG [2, 5-6].

In der Neonatalperiode sind 35 % aller Todesfälle auf Komplikationen im Zusammenhang mit einer FG zurückzuführen [2]. Damit ist die FG die häufigste Ursache für die Sterblichkeit unter fünf Jahren und bedingt 70 % aller neonatalen Todesfälle [6]. Bei Lebensfähigkeit der Frühgeborenen treten infolge der Unreife gehäuft Komplikationen der Atmung (respiratorische Insuffizienz, bronchopulmonale Dysplasie), des Darms (nekrotisierende Enterokolitis), des Hörens, des Sehens oder

neurologische Komplikationen (periventriculäre Leukomalazie, hämorrhagische intrakranielle Blutungen, hypoxische Enzephalopathie) auf [7, 8]. Diese bedingen zum Teil lebenslange Beeinträchtigungen in Form von Lernschwierigkeiten, Aufmerksamkeitsdefizitstörungen, emotionale Probleme, bis hin zu bleibenden körperlichen und geistlichen Behinderungen [9, 10].

Die unmittelbaren Kosten für die neonatologische Intensivbetreuung extrem Frühgeborener belaufen sich auf etwa 100.000 €/Kind und belasten das Gesundheitssystem damit auch finanziell [1]. Die langjährigen Folgekosten liegen weitaus höher [1]. Allein in den USA wurden die Gesamtkosten auf 26 Milliarden US-Dollar für das Jahr 2005 geschätzt [11]. Für die betroffenen Familien stellen die FG und ihre Folgen neben den finanziellen auch hohe psychosoziale Belastungen dar [12, 13]. Die FG zählt damit zu den Hauptrisikofaktoren für disability-adjusted life years (verloren gegangene Jahre aufgrund von frühem Tod, Behinderung oder Krankheit) [14].

1.2 Klassifikation und Epidemiologie der Frühgeburt

Gegenwärtig existieren verschiedene Klassifikationssysteme der FG [7]. Im klinischen Alltag wird die Subgruppenbildung nach GA präferiert: extreme FG (<28 SSW), frühe FG (28 bis 34 SSW), moderate FG (34 bis <37 SSW) (Abbildung 1) [2]. Die phänotypische Kategorisierung nach Villar et al. mit Gültigkeit zwischen >16 SSW bis zur 38+6 SSW verbessert unter Einschluss von Risikofaktoren und Entbindungsmodus das Verständnis für die Ursache der FG [15] (Abbildung 2). Für Studien wird dadurch eine bessere Vergleichbarkeit von konsistenten Phänotypen erreicht. Die FG kann demnach anhand maternaler, fetaler und plazentarer Faktoren, dem Fehlen bzw. Auftreten klinischer Zeichen einer drohenden FG sowie der Entbindungsindikation klassifiziert werden. Gegenwärtig sind 40-50 % der Frühgeburten ideopathisch, 30 % durch einen vorzeitigen Blasensprung und etwa 20-25 % medizinisch/elektiv bedingt [16]. Eine weitere Klassifizierungsmöglichkeit kann anhand der Ätiologie beziehungsweise des pathophysiologischen Verlaufes vorgenommen werden (Kapitel 1.3).

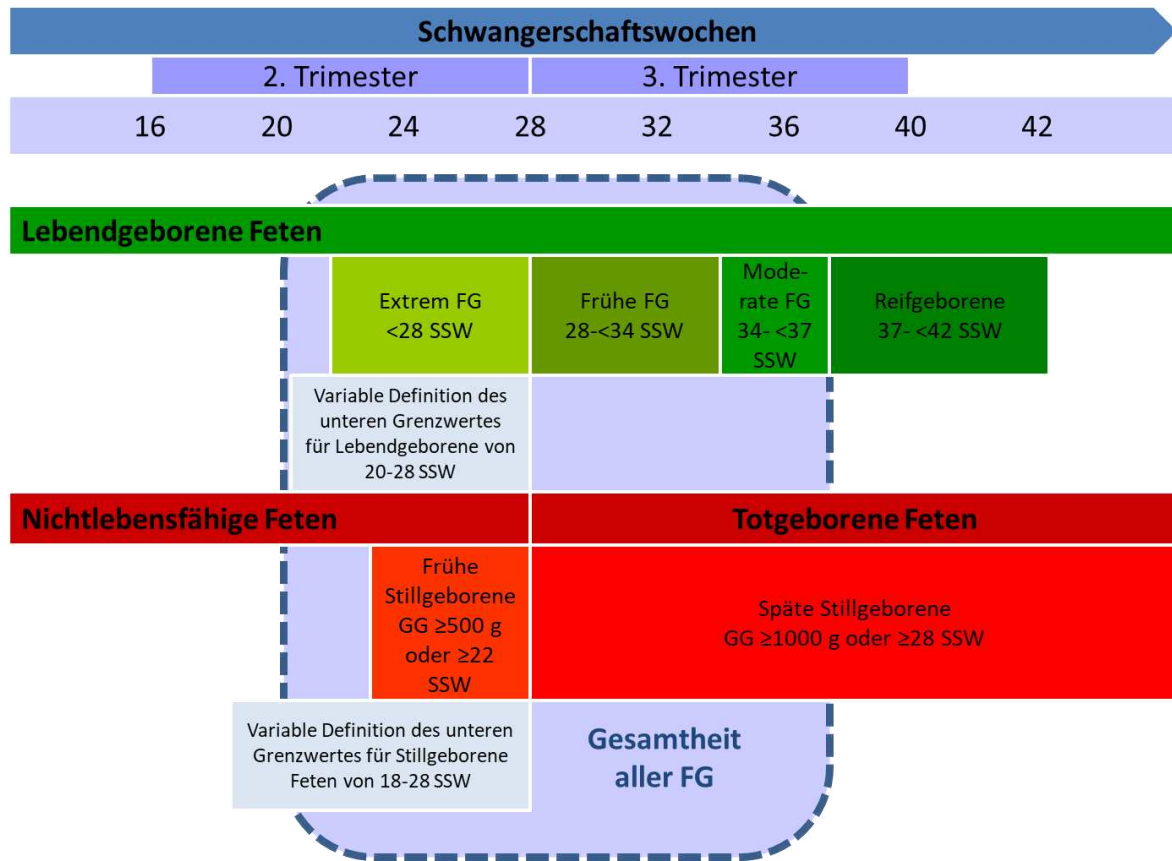


Abbildung 1: Überblick über die Definition der Frühgeburt [2]

Abkürzungen: GG Geburtsgewicht, SSW Schwangerschaftswochen

2010 lag die Frühgeburtsrate weltweit bei 11,1 % (14,9 Millionen FG) mit Schwankungen zwischen 5 % in einigen europäischen Ländern und bis zu 18 % in afrikanischen Ländern [2]. Über die Hälfte aller Frühgeborenen kamen in Südasien und in der Subsahara-Region zur Welt. 16 % aller FG wurden vor 32 SSW geboren. Infolge der Verfügbarkeit neonataler Intensiveinheiten überlebten in Europa 86 % aller extrem Frühgeborenen <28 SSW. In Ländern mit fehlender medizinischer Versorgungsmöglichkeit sank die Überlebenschance auf unter 10 %.

In Europa lag die Frühgeburtsrate im Jahr 2010 zwischen 5,3 % in Island und 10,4 % in Zypern [17]. Sie wies auch 5 Jahre später eine ähnliche Schwankungsbreite auf (5,4 % in Litauen; 12,0 % in Zypern) [18]. Deutschland lag mit einer relativ konstanten Inzidenzrate von 8,4 -8,8 % im Zeitraum von 2010-2019 im Mittelfeld [18, 19].

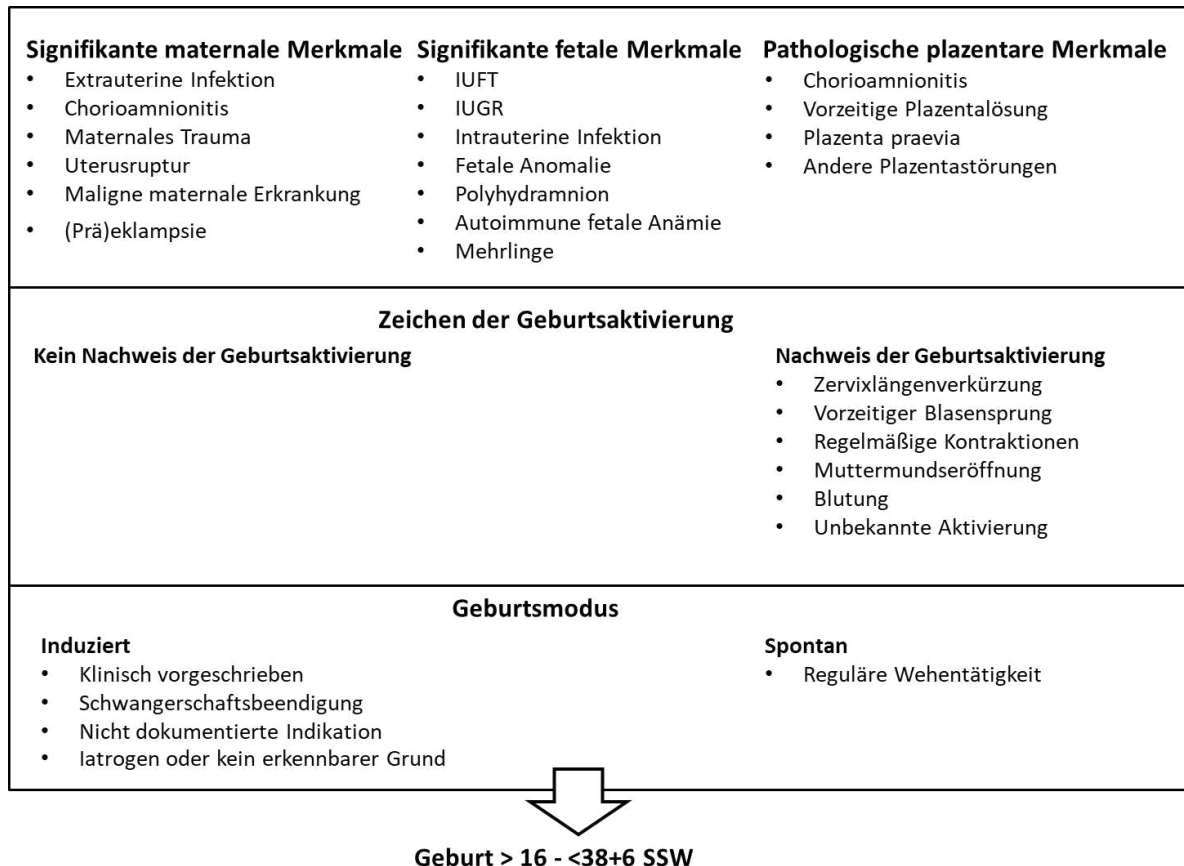


Abbildung 2: Frühgeburtsklassifikation nach Villar et al. [15]

Abkürzungen: IUFT intrauteriner Fruchttod; IUGR Intrauterine Wachstumsretardierung

1.3 Ätiologie der Frühgeburt

Gegenwärtige Hypothesen gehen davon aus, dass die FG ein multiätiologisches Syndrom darstellt [20-21]. Die Aktivierungsphase, die physiologisch zum Ende des dritten Trimenons beginnt, kann durch nachfolgend beschriebene Faktoren vorzeitig ausgelöst werden (Abbildung 3). Dabei kommt es zur Freisetzung von Chemokinen (z.B. IL-1, IL-8) und Zytokinen (TNF- α , IL- β) [22]. Zum einen bedingen diese eine myometriale Kontraktilitätssteigerung durch vermehrten intrazellulären Calciumeinstrom, zum anderen werden proinflammatorische Modulatoren, wie Prostaglandine und Proteasen (Matrix Metalloproteasen, MMPs), freigesetzt [23, 24]. Diese wiederum führen zu einer Degeneration der Extrazellulären Matrix und Zervixreifung [25, 26]. Klinisch bedingt dies eine regelmäßige, zervixwirksame Wehentätigkeit und/oder einen vorzeitigen Blasensprung sowie eine Zervixlängenverkürzung [22, 27]. Diese proinflammatorischen Prozesse sind auf molekularer Ebene weiterhin Gegenstand der Forschung [27].

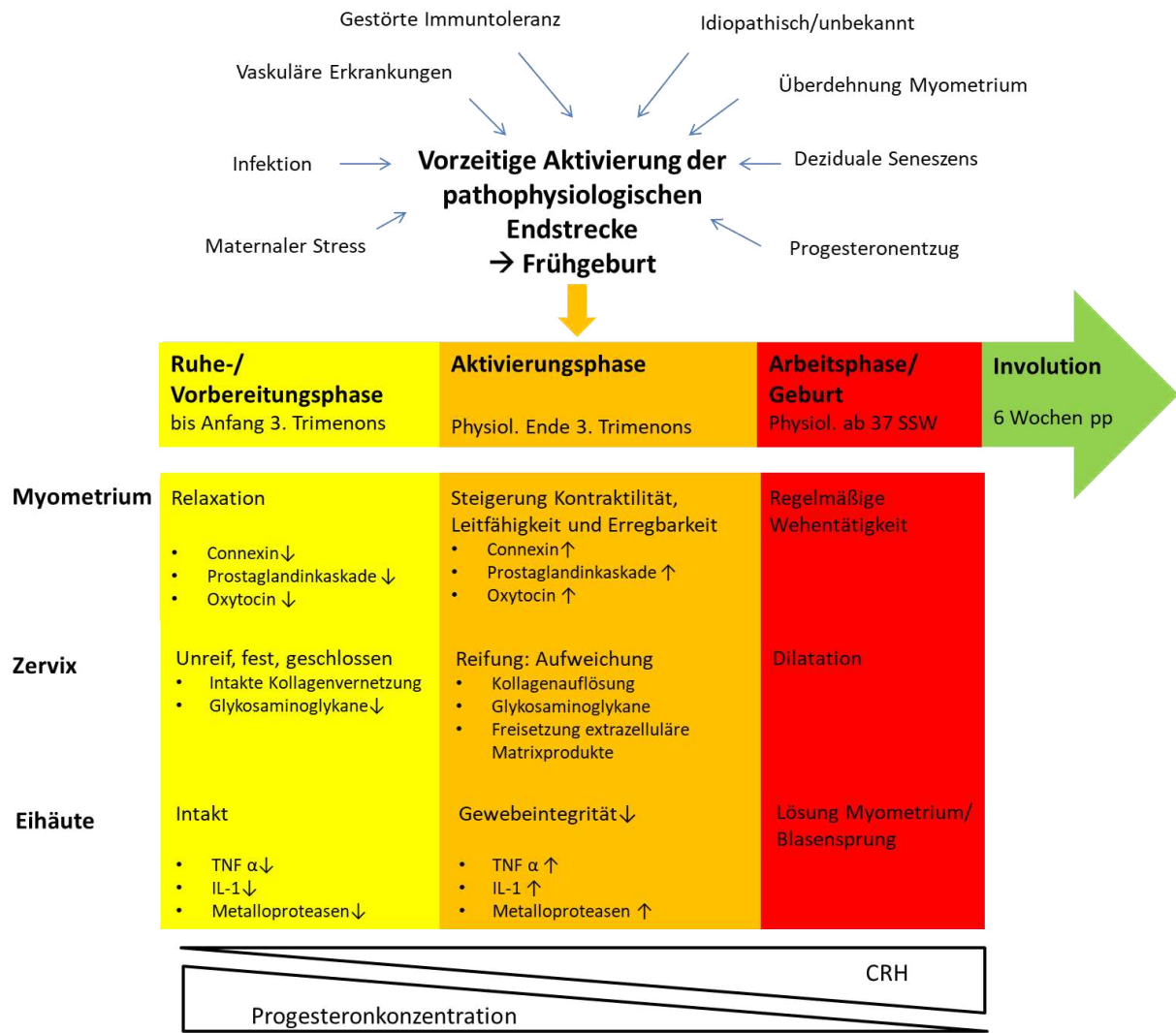


Abbildung 3: Endstrecke der Geburtsaktivierung, modifiziert nach [1, 22, 28, 29]

Abkürzungen: CRH Corticotropin-Releasing-Hormon; IL Interleukin; pp postpartum; TNF Tumornekrosefaktor, SSW Schwangerschaftswoche

a) Aszendierende Infektionen des Genitaltrakts

Bei Auftreten einer Dysbiose mit konsekutivem Anstieg des pH-Wertes kann es zur Vermehrung (fakultativ) pathogener Keime in der Scheide kommen, die aszendieren und vorzeitige Wehen mit oder ohne Blasensprung als auch ein Amnioninfektionssyndrom auslösen können [30]. Erreger, die dies bedingen können, sind u. a. Chlamydien und Mycoplasmen [31, 32]. Eine bakterielle Vaginose gilt als Risikofaktor für eine FG [33].

b) Mechanische Überdehnung des Uterus

Bei Mehrlingen oder Vorliegen eines Polyhydramnions wirkt der erhöhte intraamniotische Druck proinflammatorisch und resultiert in einer Zunahme von Zytokinen, wie IL-8, IL-6, TNF-alpha und IL-1 β [34].

c) Progesteronaktivität

Progesteron ist ein Schlüsselhormon zum Schwangerschaftserhalt [35]. Es wird bis zur 8. SSW p.c. im Corpus luteum und nachfolgend in der Plazenta gebildet [36]. Während der Schwangerschaft hat es multiple Effekte an der Zervix, dem Amnion, der Plazenta und dem Myometrium. Es wirkt hier tokolytisch, u. a. durch Hemmung von Calciumkanälen, Oxytocin, Gap-Junctions und Prostaglandinrezeptoren (Abbildung 4) [29, 36]. Eine Antagonisierung durch Mifepriston führt in der Frühgravidität zum Abort [37]. Progesteron wirkt auf das Amnion antiapoptotisch [38–40]. Sowohl eine Geburt am Termin als auch die FG sind durch einen funktionellen Progesteronentzug gekennzeichnet [41–43].

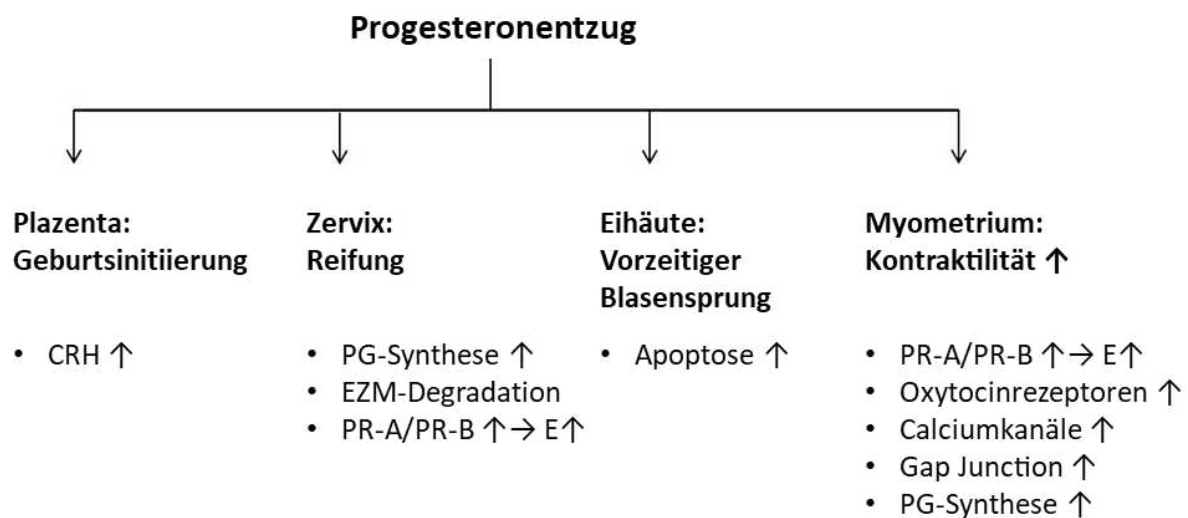


Abbildung 4: Auswirkungen eines Progesteronentzuges während der Schwangerschaft, modifiziert nach [1]

Abkürzungen: CRH Corticotropin-Releasing-Hormon; E Östrogen; EZM Extrazelluläre Matrix; PG Prostaglandin; PR Progesteronrezeptoren

d) Störungen der feto-maternalen Immuntoleranz

Die Einnistung des Feten stellt aufgrund der paternalen Gene immunologisch eine Semiallograft-Transplantation dar (2). Die Mechanismen der hierbei erforderlichen Immuntoleranz sind im Detail noch nicht gänzlich bekannt. Gegenwärtig ist belegt, dass ein Zusammenhang zwischen FG und reduzierter Immuntoleranz durch vermehrte Aktivierung von T-Zellen und Ausbildung einer chronischen Chorioamnionitis besteht [44].

e) Stress mit Störungen der fetalen CRH/ACTH/Cortisol-Achse

Die Corticotropin-Releasing-Hormon-Konzentration (CRH) im maternalen Plasma steigt kontinuierlich im Schwangerschaftsverlauf an, exponentiell zum Geburtszeitpunkt [45, 46]. Allerdings kommt es im maternalen Kreislauf im Schwangerschaftsverlauf durch östrogen-induzierte CRH-Bindungsproteine nur zu einem milden Hyperkortisolismus [47]. Die Hauptwirkung wird im fetalen Kreislauf erzielt. Exogener Stress, Anstieg von Oxytocin und Prostaglandinen sowie ein Abfall von Progesteron bedingen in der Plazenta einen lokalen CRH-Anstieg (Abbildung 5) [28]. Dieser stimuliert die fetale Hypophysen-Nebennierenachse mit konsekutivem Anstieg von adrenocorticotropem Hormon (ACTH), sekundär von Cortisol und Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEA-S). Cortisol bedingt die Induktion von Surfactant Protein A in der fetalen Lunge und aktiviert hierüber einen inflammatorischen Prozess (IL-1 β - und NF- κ B-Steigerung), welcher zu einer Weheninduktion führt [48, 49]. DHEA-S wird zu Östrogen in der Plazenta metabolisiert, das ebenso kontraktilitätssteigend wirkt [50]. CRH selbst erzielt zudem eine direkte Wirkung am Myometrium. Zum einen wird die Expression von Connexin-43, Transmembranprotein der Gap junction der glatten Muskelzellen, gesteigert [51] und zum anderen besitzt das Myometrium CRH-Rezeptoren [52]. Die unterschiedliche Expression der CRH-Rezeptoren 1 und 2, modifiziert durch alternatives Splicing, entscheidet über den Funktionszustand des Myometriums, vom Ruhezustand zur Weheninduktion [46, 53].

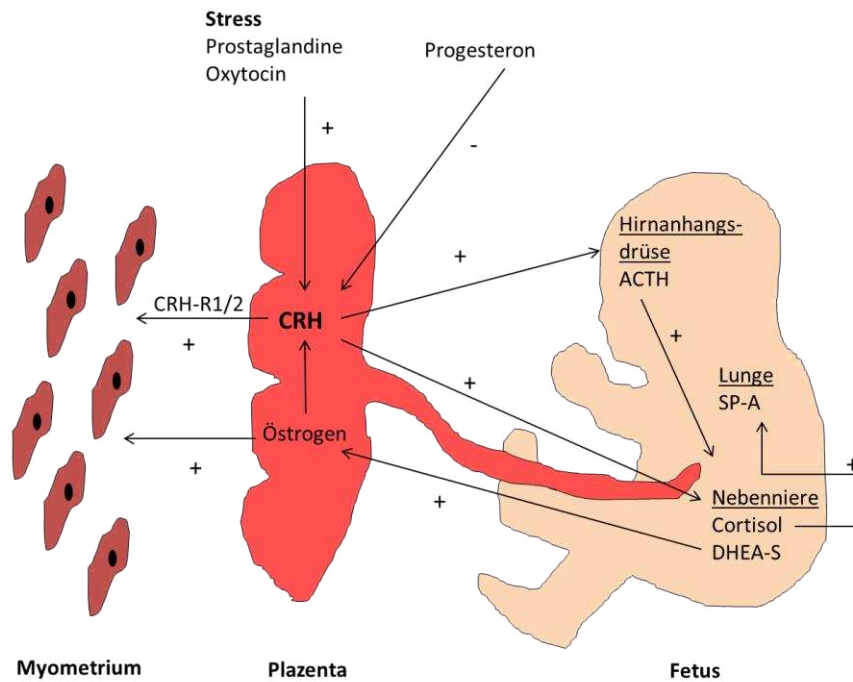


Abbildung 5: Stress induzierte Störung der CRH/ACTH/Cortisol-Achse mit konsekutiver Induktion von Wehentätigkeit [28]

Abkürzungen: CRH Corticotrophin-Releasing-Hormon; PG Prostaglandin; ACTH Adrenocorticotropes Hormon; DHEA-S Dehydroepiandrosteronsulfat; SP-A Surfactant Protein A; + stimulierende Wirkung; - hemmende Wirkung.

f) Störungen der Blutgefäßfunktion/Blutung

Bei Blutungen kommt es zur Freisetzung von Thrombin, welches eine Aktivierung des Myometriums bedingt und zur FG führen kann [54]. Pathophysiologisch erfolgt dies durch direkte Bindung am Myosin und fördert somit die Prostaglandinsynthese durch Expression von Protease-activated receptor 1 (PAR1) und Prostaglandin-Endoperoxidase Synthase-2 (PTGS2) [55].

g) Seneszenz

Seneszenz beschreibt die biologische Alterung von Zellen, indem sie ihre Proliferation/Teilung einstellen, ohne abzusterben [56]. Dieser Prozess findet während der Schwangerschaft sowohl in der Dezidua als auch in der Plazenta und dem Chorioamnion statt [56–58]. Stress und Infektionen fördern diesen Prozess [56]. Bisherige Kenntnisse weisen darauf hin, dass eine vorzeitige Seneszenz eine Wachstumsretardierung (IUGR), Präeklampsie, intrauterinen Fruchttod oder eine Frühgeburtlichkeit während der Schwangerschaft durch vorzeitige myometrale Kontraktibilität und Aktivierung der fetalen Membranen bedingen kann [56, 59].

1.4 Prädiktoren der Frühgeburt

1.4.1 Risikofaktoren der Frühgeburt

Es sind zahlreiche Risikofaktoren bekannt, die im Zusammenhang mit der FG stehen (Tabelle 1) [1, 9, 60, 61]. Diese sollten möglichst präkonzeptionell, spätestens aber zum Schwangerschaftsbeginn erfasst werden, um entsprechende präventive Maßnahmen frühzeitig zu beginnen und Schwangere intensiver im Schwangerschaftsverlauf zu begleiten [60]. Besonders gefährdet für eine FG sind Patientinnen mit zurückliegender FG bzw. Spätabort [62]. Eine aktuelle Metaanalyse belegt ein Wiederholungsrisiko bei Z. n. Einlingsfrühgeburt von 20 % für Einlingsgravida bzw. 57 % für Schwangere mit aktueller Zwillingschwangerschaft [63].

Tabelle 1: Risikofaktoren der Frühgeburt, modifiziert nach [1, 9, 60]

Risikofaktoren		OR	KI
Maternale Charakteristika	Niedriger sozioökonomischer Status	1.75	1.65- 1.86
	Maternales Alter <18 Jahre	1.7	1.02- 3.08
	Ethnizität (Afrikaner, Afro-Karibik)	2.0	1.8- 2.2
	Stress		
	Nikotinabusus	1.7	1.3- 2.2
	Untergewicht	1.35	1.14- 1.60
	Asymptomatische Bakteriurie	1.5	1.2- 1.9
	Bakterielle Vaginose	1.4	1.1- 1.8
	Parodontitis	2.0	1.2- 3.2
	Uterusanomalien		
Reproduktive Kennzeichen	Z.n. Konisation	1.7	1.24- 2.35
	Z.n. spontaner Frühgeburt	3.6	3.2- 4.0
	Z.n. Spätabort >16 SSW		
	Z.n. Zervixlängenverkürzung		
	Schwangerschaftsintervall <12 Monate	4.2	3.0.- 6.0
Zwillings-/Mehrlingsschwangerschaft	ca.6		
Risikofaktoren der aktuellen Schwangerschaft	Vaginale Blutung in der Frühgravidität	2.0	1.7- 2.3
	Vaginale Blutung in der Spätgravidität	5.9	1.7- 6.9
	Zervixlängenverkürzung		
	Anämie	1.5	1.1- 2.2
	In-vitro-Fertilisation	2.13	1.26-3.61

Abkürzungen: KI Konfidenzintervall; OR Odds Ratio

Das Frühgeburtsrisiko wird iatrogen durch die Anwendung von reproduktionsmedizinischen Techniken erhöht [64–66]. Bereits der Embryonentransfer von lediglich einer Eizelle resultiert in einer Risikoerhöhung (RR 2.13, 95 % KI 1.26-3.61) [65]. Beim Transfer mehrerer Eizellen mit konsekutiver Zwillings- bzw. Mehrlingsschwangerschaft erhöht sich das Risiko u. a. durch eine frühere Zervixverkürzung und Überdehnung des Myometriums zusätzlich [64, 67]. Empfohlen wird der Transfer von maximal zwei befruchteten Eizellen. Die gesetzlich erlaubte Obergrenze liegt bei drei Eizellen (§ 1 Abs. 1, Nr. 3 Embryonenschutzgesetz).

1.4.2 Klinische Zeichen der Frühgeburt

Klinische Zeichen einer drohenden FG sind vorzeitige Wehen, eine vorzeitige Zervixreifung und ein vorzeitiger Blasensprung vor der vollendeten 37. SSW [68].

Eine vorzeitige Wehentätigkeit allein weist eine hohe falsch positiv Rate für die Prädiktion einer FG auf. Studien belegen, dass 70-85 % der Frauen mit diesem Symptom erst am Termin entbinden [69, 70]. Zudem entbinden nur etwa 10-15 % aller symptomatischen Schwangeren nach Diagnose von vorzeitigen Wehen innerhalb der nächsten sieben Tage [71, 72]. Mittels weiterführender Diagnostik muss zwischen zervixwirksamer Wehentätigkeit und Kontraktionen, die keine Zervixveränderungen bewirken, differenziert werden [73]. Das Tokogramm objektiviert das subjektive klinische Symptom hinsichtlich Wehenstärke und -frequenz, allerdings ohne Rückschlüsse auf Veränderungen an der Zervix zu geben. Dies obliegt der vaginalen Palpation, mit der eine vorzeitige Zervixreifung durch die Beurteilung der Portiolänge, der Konsistenz der Portio, Höhenstand des vorangehenden Teiles relativ zur Interspinalebene, Portiolage und Muttermundsweite möglich sind [74].

Tabelle 2 gibt die Testgütekriterien der oben genannten klinischen Zeichen zur Prädiktion der drohenden FG <32 SSW aus einer retrospektiven Analyse mit 389 Probandinnen der Jahre 2014-2015 der UFK Rostock wieder [persönliche Mitteilung Prof. J. Stubert]. Die Ergebnisse unterstreichen die bisherigen Kenntnisse, dass aufgrund des relativ geringen PPV der aufgeführten Merkmale die Prädiktion der FG ohne Hinzuziehen weiterer apparativer Diagnostik bzw. biochemischer Marker unzulänglich ist.

Tabelle 2: Testcharakteristika klinischer Parameter in der Prädiktion einer Frühgeburt <34+0 SSW (Prävalenz 33,9%). Subgruppe der Frauen mit drohender FG <32+0 SSW

	Sensi- tivität	Spezi- fität	PPV	NPV	LR+	LR-	p-Wert	OR	95% KI
Vorgereifte Zervix (WSC pathologisch)	55,9 %	60,8 %	34,9 %	78,6 %	1,42	0,73	0,022	1,96	1,12-3,45
Tokographie >3/30' positiv	16,4 %	90,7 %	47,2 %	68,1 %	1,76	0,92	0,090	1,91	0,95-3,86
Subjektive Wehen/ Schleimabgang	20,4 %	85,0 %	40,7 %	67,8 %	1,36	0,94	0,269	1,45	0,79-2,64

Abkürzungen: KI Konfidenzintervall; NPV negativer Vorhersagewert; LR Likelihood Ratio; OR Odds Ratio; PPV positiver Vorhersagewert; p-Wert Signifikanzwert; VBS vorzeitiger Blasensprung; WSC Westin-Score

1.4.3 Sonographische Prädiktoren

In klinischer Anwendung: Sonographie der Zervixlänge

Die Zervix erfüllt eine mechanische Barrierefunktion zum Erhalt der Schwangerschaft [75]. Während der Zervixreifung (Kapitel 1.3), physiologisch als auch vorzeitig, kann die Verkürzung der Zervixlänge (ZL) und die Eröffnung des Muttermundes mittels Sonographie beurteilt werden. Dabei ist die transvaginale Sonographie (TVS) der abdominellen Messung überlegen [76, 77]. Sie stellt ein standardisiertes Untersuchungsverfahren dar und weist eine hohe Objektivität und Reliabilität auf [78, 79].

Die ZL, definiert als Distanz zwischen innerem und äußerem Muttermund, zeigt während des Schwangerschaftsverlaufes zwischen 16-36 SSW einen annähernd linearen Abfall [80]. Hierfür sind entsprechende Perzentilenkurven verfügbar. Dabei steigt das Frühgeburtsrisiko mit zunehmender Zervixverkürzung und je früher im Schwangerschaftsverlauf die Veränderungen auftreten [81, 82]. Als Normwerte gelten eine ZL von 35-40 mm in der 24. SSW bzw. 30-35 mm in der 28. SSW [83].

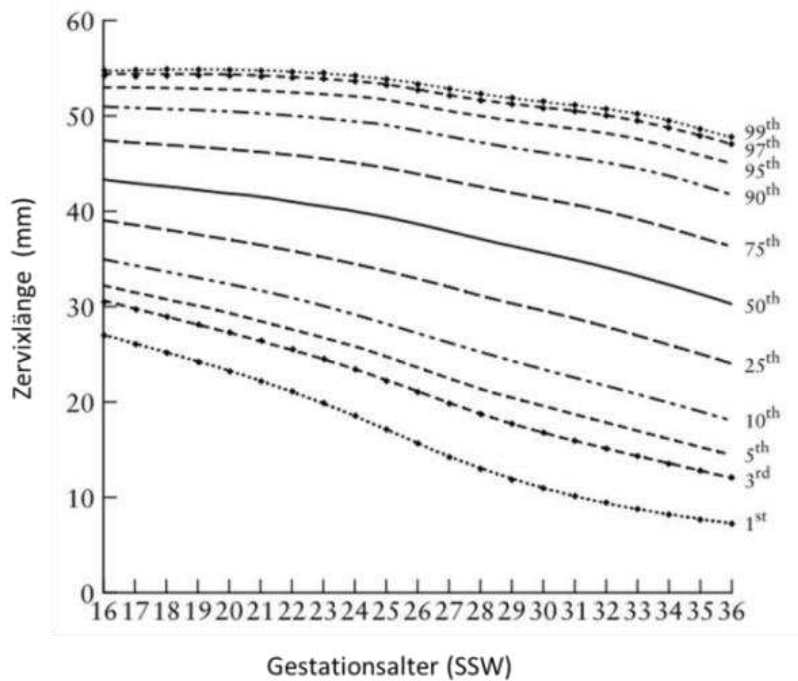


Abbildung 6: Referenzwerte der Zervixlänge während des Schwangerschaftsverlaufes von 16 -36 SSW [80]

Abkürzung: SSW Schwangerschaftswochen

Laut deutscher Leitlinie spricht man von einer verkürzten Zervix bei ZL <25 mm vor 34+0 SSW, welches nach Salomon et al. in 16 SSW, 24 SSW bzw. 33 SSW etwa der 0,5. , 2. bzw. 20. Perzentile entspricht [1, 80].

Der Grenzwert von 25 mm zeigt bei Fehlen weiterer Risikofaktoren einen hohen negativen prädiktiven Wert [83]. Dieser liegt laut einer prospektiven Multicenterstudie mit Teilnahme von 2915 asymptomatischen Probandinnen und Zervixlängenmessung in 24 SSW bei 97 % für die Prädiktion der FG <35 SSW. Bei Überschreitung des Cut-Off-Wertes liegt somit ein geringes Frühgeburtsrisiko vor, 4,3 % (n=126) in o. g. Studie. Aufgrund dessen kann auf eine stationäre Überwachung verzichtet werden. Bei Patientinnen mit vorausgegangener FG ist auch bei Überschreitung des 25 mm Cut-off-Wertes, insbesondere im Intermediärbereich von 25-29 mm ZL, ein erhöhtes Frühgeburtsrisiko zu beobachten [84]. Die vorzeitige Wehentätigkeit weist einen geringen positiven Vorhersagewert auf, insbesondere für die FG <34 SSW bei einer ZL zwischen 15-30 mm [85]. Die Unsicherheit bei der Prädiktion der FG resultiert in einer erheblichen Übertherapie mit unnötiger Hospitalisierung, antenataler Steroidprophylaxe und medikamentöser Tokolyse. Folgen sind Verunsicherungen sowie Ängste bei den Schwangeren aufgrund einer hohen Anzahl falsch positiv getesteter Personen (Tabelle 3) [86]. Im klinischen Kontext ist der Einsatz von zusätzlicher Diagnostik, z. B. in Form von Biomarkerbestimmung, zur genaueren Evaluierung des Frühgeburtsrisikos angeraten [1,75]. Bei einer ZL <15 mm sind in der Regel aufgrund der hohen Frühgeburtsgefahr [71, 87] Maßnahmen zur

Schwangerschaftsprolongation (Tokolyse, Cerclage) und Reduktion der neonatalen Morbidität und Mortalität (antenatale Steroidprophylaxe, Neuroprotektion mit Magnesiumsulfat sowie Verlegung in einer Perinatalzentrum) erforderlich [88–90].

Tabelle 3: Testgütekriterien für die Prädiktion einer FG <34 SSW von symptomatischen Schwangeren bei verschiedenen Cut-off-Werten laut einer Metaanalyse [86]

Zervixlänge	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	LR+	LR-
<15 mm	46,2	93,7	4,31	0,63
<20 mm	49,4	93,1	6,04	0,63
<25 mm	64,3	68,4	2,22	0,54

Abkürzung: LR Likelihood Ratio

In der Forschung: Sonographie des zervikouterinen Winkels

Der zervikouterine Winkel (ZUW) ist definiert als Winkel der Verbindungslinien zwischen äußerem und innerem Muttermund sowie der Tangente entlang der Uterusvorderwand [85]. Die Anwendung des ZUWs, als potentiell Diagnosewerkzeug bei Frühgeburtsbestrebungen, geht auf Publikationen im Zusammenhang mit dem Arabin-Pessar zurück [91]. Cannie et al. zeigten in einer MRT-Studie, dass das Einführen eines Pessars eine Druckentlastung auf den inneren Muttermund zur Folge hat [92]. Ihrer Hypothese nach soll dies zu einer Verringerung des ZUWs führen. Den Autoren zufolge ist dieser Mechanismus für die beobachtete Verringerung der Frühgeburtsrate verantwortlich. Konsekutiv wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein vergrößerter ZUW als Risikofaktor für eine FG angesehen werden kann. Nachfolgende Kohortenstudien legten nahe, dass ein vergrößerter ZUW während des frühen zweiten Trimesters eine höhere Vorhersagekraft für eine FG hat, als eine verkürzte ZL [85, 93]. Dies trifft sowohl auf Einlings- als auch Mehrlingsgravida zu.

1.4.4 Klinisch etablierte zervikovaginale Biomarker

Biomarker sind definiert als „messbare Parameter biologischer Prozesse, die prognostische oder diagnostische Aussagekraft haben und daher als Indikatoren, z. B. für ... Krankheiten herangezogen werden können“ [94]. Gegenwärtig werden sowohl biologische Flüssigkeiten, u. a. Plasma/Serum/Amnionflüssigkeit, als auch feste Gewebe, wie Plazenta und Eihäute, auf Biomarker zur Prädiktion einer FG untersucht [95, 96]. Ziel ist es, Biomarker zu identifizieren, die eine bessere prädiktive Vorhersagekraft einer FG aufweisen, als die bekannten Risikofaktoren, klinischen Zeichen bzw. sonographischen Verfahren.

Im Zervikovaginalsekret (ZVS) sind eine Vielzahl von Proteinen aus Vagina, Endozervix, Endometrium und fetalen Eihäuten nachweisbar [97–99]. Die Gewinnung von ZVS aus dem hinteren Scheidengewölbe, vor vaginaler Manipulation mittels eines sterilen Abstrichtupfers, ist einfach, nicht invasiv und risikoarm [100]. Durch die Konzentrationsänderung der Proteine im ZVS während der Geburtsaktivierung, bedingt durch Zervixreifung, myometriale Aktivität und/oder durch einen Blasensprung, ist ein fetales bzw. maternales Monitoring, auch bei Frühgeburtsbestrebungen möglich [101]. Zudem liegen im ZVS im Vergleich zum Plasma/Serum eine höhere Organspezifität und eine geringe Verdünnung der gelösten Proteine vor [99].

Drei POCT (Point of Care Test) -Assays stehen derzeit zur Abschätzung des Frühgeburtenrisikos kommerziell zur Verfügung:

- fetales Fibronektin (fFN)
- phosphorylierter insulinähnlicher Wachstumsfaktor- 1 (pIIGFBP-1)
- plazentares Alpha-Mikroglobulin- 1 (PAMG-1) [102].

Mittels eines produktspezifischen Entnahmetupfers wird zu Beginn der vaginalen Untersuchung, vor Manipulation per TVS oder digitaler Palpation, ein vaginaler Abstrich aus dem hinteren Scheidengewölbe entnommen und nachfolgend die Biomarker semiquantitativ per Immunochromatographie bestimmt (Tabelle 4). Das Ergebnis erhält man nach 5-10 min. Ein Blasensprung muss für diese Testung ausgeschlossen sein [103–107].

Ein positives Ergebnis geht mit einem erhöhten Frühgeburtsrisiko innerhalb der nächsten 7-14 Tage einher [102, 108–110]. Auf Grundlage der vorhandenen Studien und einer Metaanalyse weist PAMG-1 den höchsten positiven Vorhersagewert für eine stattfindende FG bei positivem Testergebnis binnen der nächsten sieben Tage auf [109, 111-112]. Allerdings ist allen drei Tests gemein, dass der positive Vorhersagewert (PPV) dem negativen Vorhersagewert (NPV) deutlich unterlegen ist (Tabelle 5) [102, 112]. Aufgrund des hohen negativen Vorhersagewertes aller drei

Biomarker von >95 % ist eine FG eher unwahrscheinlich und betroffene Frauen können hinsichtlich der Frühgeburtsgefahr beruhigt werden. Unnötige sekundäre und tertiäre Präventionen sind nicht erforderlich.

In Deutschland wird die Anwendung des Biomarkers „fetales Fibronektin“ lediglich bei symptomatischen Patientinnen und ZL zwischen 15-30 mm empfohlen, um das Frühgeburtsrisiko mittels des hohen NPV besser eingrenzen zu können [1].

Tabelle 4: Biomarker und deren kommerzielle Tests zur Prädiktion der Frühgeburt innerhalb der nächsten sieben Tage [103–106]

Marker	Eigenschaften der Biomarker	Kommerzielle Test	Testcharakteristika	Cut-off
phIFGBP-1	Protein Produktion: - Deziduazellen	Actim Partus (Alere)	- ab 22+0 SSW - Qualitativer Test - falsch positiv bei Blutung - gegen Samenflüssigkeit, Urin, vaginale Medikation, Infektion unempfindlich	10 ng/ml
fFN	Protein Produktion: - fetale Membranen/ Trophoblast Funktion: - Adhäsion Chorion und Dezidua	Rapid fFN-10QSystem (Hologic)	- ab 22+0 SSW-35+6 SSW - Quantitativer Test 0-500 ng/ml - Keine Anwendung bei VBS, Zerklage, Blutung, MM >3cm	50 ng/ml; (pos. Korrelation fFN-Konz. und Frühgeburtsrisiko)
		QuickChek-fFN Test (Hologic)	- ab 22+0 SSW-34+6 SSW - Qualitativer Test - Anwendbar nach vag. Untersuchung, Sex, TVS	50 ng/ml
PAMG-1	Protein Produktion: - Deziduazellen Vorkommen: - Maternales Blut - Fruchtwasser - zervikovaginal Sekret	Partosure (Qiagen)	- ab 20+0 SSW - unempfindlich gegenüber Urin, vag. Infektionen, Samenflüssigkeit, unmittelbar nach vag. Untersuchung - Falsch positiv bei Blutungen	1 ng/ml

Abkürzungen: fFN fetales Fibronektin; MM Muttermund; PAMG-1 plazentares Alpha-Mikroglobulin- 1; phIFGBP-1 phosphorylierter insulinähnlicher Wachstumsfaktor- 1; TVS transvaginale Sonographie; VBS vorzeitiger Blasensprung

Tabelle 5: Testgütekriterien für die Prädiktion der FG innerhalb von sieben Tagen von PAMG-1, fFN und pHlGFBP-1 für das intermediäre Risikoprofil (ZL 15-30 mm) [102]

Biomarker	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	PPV	NPV	LR+ (95 % KI)	LR- (95 % KI)
PAMG-1	77	97	0,69	0,98	22,63 (13,99-36,61)	0,24 (0,15-0,38)
fFN	77	81	0,29	0,97	4,04 (3,42-4,77)	0,28 (0,22-0,36)
pHlGFBP-1	68	80	0,25	0,96	3,39 (2,54-4,54)	0,40 (0,29-0,56)

Abkürzungen: fFN fetales Fibronektin; KI Konfidenzintervall; LR Likelihood Ratio; PAMG-1 plazentares Alpha-Mikroglobulin 1; pHlGFBP-1 phosphorylierter insulinähnlicher Wachstumsfaktor-1; PPV positiver Vorhersagewert, NPV negativer Vorhersagewert

1.4.5 in der Forschung befindliche zervikovaginale Biomarker

Das ZVS wird aufgrund seiner bereits beschriebenen Eigenschaften (Kapitel 1.4.4) zur Prädiktion der FG auf weitere potentielle Biomarker, v. a. in der Grundlagenforschung mittels Proteomanalyse an asymptomatischen und symptomatischen Patientinnen, erforscht [97, 99, 100, 113].

Die Arbeitsgruppe um Shah et al. erfasste 1211 verschiedene Proteine aus 2 verschiedenen endozervikal und vaginaler gewonnenen Zellreihen, wovon 236 Proteine in allen Fraktionen nachweisbar waren [100]. Sie erstellten einen Zellstandard für die weitere simultan durchführbare quantitative Analyse von ZVS asymptomatischer Frauen zwischen 24-28 SSW. Die laborchemische Analyse wurde mittels Literaturrecherche auf 15 potentielle Proteine begrenzt, die zum gegenwärtigen Studienzeitpunkt einen bekannten Bezug zur FG aufwiesen. Im Design einer Fall-Kontroll-Studie mit je fünf Probandinnen mit FG zwischen 28-32 SSW vs. Entbindung >37 SSW wurden drei potentielle Biomarker für die FG entdeckt: Desmoplakin mit 70,7-facher, Stratifin mit 42,4-facher und Thrombospondin-1 mit 5,1-facher Erhöhung in der Frühgeburtskohorte.

1.4.5.1 Thrombospondin-1

Durch Bindung einer Vielzahl von Liganden vermittelt das extrazelluläre Matrixglykoprotein Thrombospondin-1 (THBS-1) Signaltransduktionen zwischen extrazellulärer Matrix und Oberflächenrezeptoren (z.B. CD 47, CD 36, Integrin) [114]. THBS-1 ist involviert in verschiedene funktionelle Abläufe, wie Antiangiogenese, Inflammation und myometrale Kontraktionen. Es zeigt ein inkonstantes Genexpressionsmuster bei Tumoren [114]. Während der Schwangerschaft lässt sich THBS-1 im Myometrium, in der Plazenta, in der Amnionflüssigkeit und im ZVS nachweisen [100, 115-116]. Eine Expressionssteigerung von THBS-1 in der Plazenta wurde bei Reif- und Frühgeborenenplazenten nachgewiesen [117-118]. Die Konzentration lag bei spontaner FG deutlich

höher [119]. Beim humanen Myometrium wird THBS-1 während der Schwangerschaft in Form von mRNA und Protein exprimiert [120]. Mit Einsetzen der Wehentätigkeit am Termin, spontan oder Oxytocin induziert, erfolgt ein starker Konzentrationsanstieg von THBS-1 [120-121]. Im Tiermodell an schwangeren Schafen resultierte dieser sowohl bei Reif- als auch Frühgeborenen [122]. Die Behandlung des Myometriums mit Nimesulid, einem selektivem Cox-2-Inhibitor, verminderte die Kontraktilität, während die Expression von THBS-1 sank [122]. Bei Mäusen konnte eine 5,2-fach stärkere Expression von THBS-1 mit Einsetzen von vorzeitiger, als auch zeitgerechter Wehentätigkeit im Vergleich zum kontraktionslosen Myometrium, nachgewiesen werden [123]. Die vorzeitigen Wehen in diesem Tierexperiment wurden zum einen durch Ovariectomie und damit einhergehendem Progesteronabfall, zum anderen durch intrauterine Injektion von hitzeinaktivierten E.coli, modellgebend für eine Infektion, induziert. Der Anstieg von THBS-1 wurde in beiden Modellen gesehen, sodass der Konzentrationsanstieg von THBS-1 unabhängig von seiner Ätiologie der vorzeitigen Wehen war.

1.4.5.2 Stratifin

Stratifin (SFN), auch 14-3-3-Sigma Protein genannt, ein in allen eukaryotischen Zellen exprimiertes Protein, ist als Zell-Zyklusregulatorgen an einer Reihe von Signaltransduktionswegen beteiligt [124-125]. Bei DNA-Schäden führt es zu einem Arrest der Mitose (G2/M-Arrest), um weiterführende DNA-Schäden zu verhindern [124]. Aus diesem Grund ist Stratifin bisher primär im onkologischen Zusammenhang, z. B. bei Lungen-, Prostata- bzw. Brustcarcinom, analysiert worden [126–128]. Im geburtshilflichen Kontext liegen zum Stratifin gegenwärtig nur Daten aus drei Proteomstudien vor. Diese analysierten Stratifin im ZVS als potentiellen Biomarker bei FG mittels Massenspektroskopie bzw. Flüssigkeitschromatographie [97, 100, 129]. Die erste publizierte Grundlagenstudie von 2007, die das gepoolte ZVS von je 5 Probandinnen mit vorzeitigen Wehen ohne vorzeitige Entbindung zwischen 16-37 SSW, spontaner Frühgeburt <37 SSW und Kontrollgruppe mit Entbindung \geq 37 SSW analysierte, wies mittels Flüssigkeitschromatographie eine 11-fach gesteigerte Expression von Stratifin bei spontaner FG auf [97]. Mittels Massenspektroskopie zeigte sich lediglich zwischen Kontrollgruppe und der Gruppe mit vorzeitigen Wehen ohne Entbindung eine 3,4-fache Expressionssteigerung. Dahingegen wurde ein Abfall im Vergleich zwischen vorzeitigen Wehen ohne Entbindung und spontaner FG gesehen (10,1-fach). In den nachfolgenden Studien von 2009 und 2020 zeigte sich Stratifin im ZVS bei Frühgeburtsbestrebungen jeweils erhöht [100, 129]. Eine mindestens 2-fache Konzentrationserhöhung war im Schwangerschaftsverlauf vom ersten über zweiten zum dritten Trimenon bei FG <34 SSW (n=33) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=32) mit Entbindung nach der 39. SSW messbar [129]. Bei allen Probandinnen war als ein Einschlusskriterium mindestens eine FG in der Anamnese zu verzeichnen. In der Fall-Kontroll-Studie anhand asymptomatischer

Probandinnen (GA 24-28 SSW) konnte im Vergleich zwischen FG 28-32 SSW (n=5) und Entbindung >37 SSW (n=5) sogar ein 42,4-facher Anstieg von Stratifin im ZVS nachgewiesen werden [100].

1.4.5.3 Desmoplakin

Desmoplakin ist Bestandteil von Desmosomen, einer Zellstruktur an der Zellmembran, die plaqueartig an der Innenseite der Zellmembran haftet [130]. In ihr strahlen sowohl Intermediärfilamente des Zytoskeletts, sogenannte Tonofilamente, als auch Adhäsionsproteine des Extrazellulärraums (Cadherine) ein. Desmoplakin fördert somit eine Zell-Zell-Kommunikation, stabilisiert das Zytoskelett der Zelle und bedingt eine Zell-Zell-Verankerung, die dem Gewebe insgesamt eine höhere Widerstandsfähigkeit verleiht [131]. Desmosomen finden sich daher gehäuft an Epithelien, während der Schwangerschaft am Amnion- und Throphoblastepithel [132-133]. Bei Deletion des Gens treten schwere Haut- und Herzfehler auf, die zum Teil letal verlaufen können [134-135]. Im geburtshilflichen Kontext ist es auf molekularer Ebene unklar, wie Desmoplakin bei FG involviert ist [100]. Die verfügbaren Daten zum Desmoplakin als Prädiktor für eine FG sind zudem widersprüchlich. Mittels Proteomforschung konnte 2009 eine 70,7-fache Erhöhung von Desmoplakin im gepoolten ZVS von fünf asymptomatischen Schwangeren mit FG zwischen 28+0 bis 31+7 SSW vs. fünf ZVS-Proben bei Termingeburt nachgewiesen werden [100]. Die gleiche Arbeitsgruppe wiederlegte mit einer kürzlich veröffentlichten Studie ihre dortigen Erkenntnisse und wies in der jetzigen Publikation auf einen statistisch signifikanten Abfall von Desmoplakin um das 1,5-fache bei FG hin [129]. Sie schloss sich so den Erkenntnissen von Pereira et al. an [97]. Massenspektroskopisch konnte in dieser Kohortenstudie folgender Abfall der Desmoplakinkonzentration im gepoolten ZVS von je fünf Probandinnen (GA \bar{x} =26,9 SSW) gesehen werden: spontane FG <37 SSW < vorzeitige Wehen ohne Entbindung zwischen 16-37 SSW < asymptomatische Patientinnen zwischen 16-37 SSW.

1.5 Studienansatz und Studienziel

Patientinnen mit Zeichen einer drohenden FG werden anhand der klinischen Symptomatik, der Tokographie und Zervixlängenmessung zum Teil falsch positiv klassifiziert [152]. Daraus resultieren zum einen eine Übertherapie und zum anderen Verunsicherungen und Ängste bei den Schwangeren. Die Etablierung der Biomarker fFN, plGFBP-1 und PAMG-1 hat die Vorhersagewahrscheinlichkeit verbessert [102, 108, 136]. Ein negatives Ergebnis macht eine FG innerhalb der folgenden 7-14 Tage unwahrscheinlich, allerdings ist der PPV bei allen Biomarkern unzureichend gering [102]. Es fehlen prädiktive Marker mit höherem PPV, welche die Vorhersage einer FG auch über einen längeren Zeitraum erlauben. Eine frühere Identifizierung dieser Patientinnen, bevor die Endstrecke der Geburtsaktivierung erfolgt, würde die Möglichkeit ebnen, therapeutisch wirksam zu werden (z. B. vaginale Progesteronapplikation) und eine intensivierete Überwachung anzustreben, um eine Schwangerschaftsprolongation zu erzielen.

In der bereits dargelegten Grundlagenforschung von Sumit J. Shan et al. wurden Stratifin, Thrombospondin-1 und Desmoplakin Isoform 1 im ZVS als signifikante Biomarker zur Prädiktion einer FG mittels Massenspektroskopie und Flüssigkeitschromatographie identifiziert [79]. Ziel dieser Pilotstudie ist die Untersuchung der oben genannten Biomarker im ZVS an einem Risikokollektiv mittels vereinfachter Nachweismethodik (ELISA). Zudem wurde der zeitliche Zusammenhang zwischen Biomarkerergebnis und Auftreten einer FG untersucht.

Weiteres Studienziel ist die Reevaluierung der prädiktiven Vorhersagekraft von Risikofaktoren, u. a. einer verkürzten ZL und des ZUWs.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign und Rekrutierung der Patientinnen

Im Zeitraum vom Januar 2017 bis zum April 2019 wurde eine prospektive klinische Kohortenanalyse, mit Einschluss von schwangeren Frauen mit erhöhtem Frühgeburtsrisiko zwischen 20+0 und 31+6 SSW, durchgeführt. Die Rekrutierung erfolgte über die Vorstellung im Kreißaal. Einschlusskriterien waren entweder schmerzhafte und/oder regelmäßige (>3/30 min) uterine Kontraktionen beziehungsweise eine vaginalsonographisch dokumentierte ZL <25 mm oder eine FG beziehungsweise ein Spätabort in der Eigenanamnese. Dabei waren sowohl Einlings- als auch Mehrlingsschwangerschaften erlaubt. Ausgeschlossen wurden Schwangere, wenn zum Zeitpunkt der Vorstellung eines der nachfolgenden Kriterien zutraf: vorzeitiger Blasensprung, hypertensive Schwangerschaftserkrankung, operative Zerklage oder liegendes Zerklagepessar, maternale Temperatur >37,5 °C, Muttermundseröffnung von mehr als 3 cm oder eine tokolytische Therapie in den letzten sieben Tagen. Des Weiteren wurden Probandinnen mit einer vaginalen Untersuchung oder vaginale Sonographie in den letzten 6 h, Geschlechtsverkehr in den letzten 24 h beziehungsweise einer frischen vaginalen Blutung ausgeschlossen.

Nach Studienaufklärung und –einverständnis wurde zum Zeitpunkt der Aufnahme mit drohender FG eine gynäkologische Aufnahmeuntersuchung durch die diensthabenden Ärzte vorgenommen. Zuerst wurde während der SpekulumEinstellung ZVS aus dem hinteren Scheidengewölbe zur späteren Bestimmung der Biomarker THBS-1, Desmoplakin und Stratifin mittels eines sterilen Nylontupfers (ESwap™ 480C, Copan, Brescia, Italien) entnommen. Dieser wurde unmittelbar im Anschluss in eine Proteaseinhibitor enthaltende Pufferlösung gegeben. Die Probe wurde bis zum Transport ins Forschungslabor (maximal 24 h) bei 7 °C gelagert. Danach folgten erst die transvaginale Zervixsonographie und anschließend die vaginale Zervixpalpation, die Bestandteile der Routineuntersuchung waren. Die Zervixbefundung wurde anhand des Westin-Scores, einem GA abhängigem Bewertungssystem, vorgenommen [137]. Die Zervixmerkmale Höhenstand nach Lee, Dilatationsbreite des Muttermundes, Verkürzung der Portio, Konsistenz sowie der Position der Zervix wurden je nach Ausprägungsgrad mit null bis zwei Punkten bewertet. Ein Verhältnis von größer eins, aus der Summe aus dem palperten Zervixbefund zum maximalen physiologischem Wert je GA, wurde als vorgereift gewertet (Tabelle 6).

Tabelle 6: Westin-Score: gestationsabhängiges Bewertungssystem der vaginalen Palpation. Bei der vaginalen Palpation werden unten genannte Kriterien beurteilt, entsprechende Punkte je Ausbildungsgrad vergeben und miteinander addiert (Tabelle 6A). Die Summe wird je nach SSW und Parität mit den Werten in Tabelle 6B verglichen. Überschreitet der addierte Wert aus der vaginalen Untersuchung (Tabelle 6A) den Tabellenwert aus Tabelle 6B, so liegt ein vorgereifter Muttermundsbe­fund vor.

A

Merkmal Muttermund	0	1	2
Höhenstand nach Lee	-5 bis -3	-2 bis -1	0 bis 2
MM-Dilatation	<0,5 cm	0,5-1,5 cm	>1,5 cm
Verkürzung der Portio	keine	<50 %	≥50 %
Konsistenz	derb	mittel	weich
Position Zervix	sacral	mediosacral	zentral

B

SSW \ Parität	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	1			2		3			4		
≥2	2			3		4			5		

Abkürzungen: MM Muttermund; SSW Schwangerschaftswoche

Die Bestimmung des ZUWs erfolgte auf Basis der Bilddokumentation der transvaginalen Zervixsonographie. Sie wurde durch eine Person (Kathleen Gründler) mittels Winkelmesser ermittelt. Der ZUW ist definiert als die Tangente entlang des vorderen Uterinsegments und der Tangente zwischen der Verbindungslinie vom inneren zum äußeren Muttermund (Abbildung 7) [85]. Die Messung des zervikouterinen Winkels in Spezialsituationen, wie z. B. beim Vorhandensein eines großen Trichters oder einer gebogenen Zervix, erfolgte in der Form, wie dies in der Publikation von Dziadosz et al. beschrieben wurde.

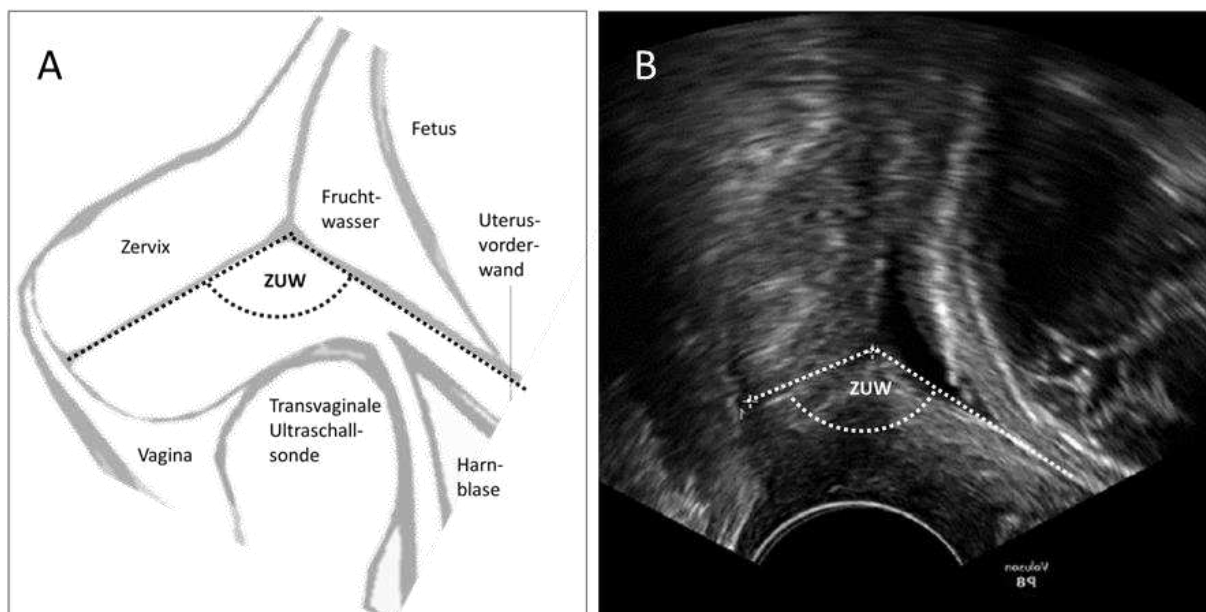


Abbildung 7: Schematische Darstellung des zervikouterinen Winkels (Winkel der Verbindungslinien zwischen äußerem und innerem Muttermund sowie der Tangente entlang der Uterusvorderwand) (A); Transvaginale Zervixsonographie mit eingezeichnetem zervikouterinen Winkel (B)

Abkürzung: ZUW zervikouteriner Winkel

Je nach Aufnahmebefund und dem weiteren klinischen Verlauf waren die betreuenden Ärzte für die Behandlungsentscheidungen, einschließlich der Indikation zur Tokolyse, antenatalen Steroidprophylaxe, Progesterongabe, Zerclage oder Pessareinsatz, verantwortlich. Dabei waren den Ärzten die Ergebnisse der Biomarkerbestimmung THBS-1, Stratifin und Desmoplakin aus dem ZVS sowie der ZUW nicht bekannt. Point of Care-Tests von ffN, plGFBP-1 oder PAMG-1 wurden nicht durchgeführt.

Die Patientendaten aus der Aufnahmeuntersuchung sowie die weiteren ambulanten bzw. stationären Verläufe bis hin zu den Geburten wurden in pseudonymisierter Form in IBM SPSS Statistics 25 (SPP Inc. Chicago, IL, USA) übertragen.

Die Studie wurde durch die zuständige Ethikkommission der Universität Rostock als prospektive klinische Kohortenanalyse genehmigt (Ethikvotum A2016-0162) und im Deutschen Register für Klinische Studien registriert (DRKS-ID: DRKS00010763).

2.2 Verarbeitung des Untersuchungsmaterials

2.2.1 Probengewinnung, Zervixabstrich und Lagerung

Unmittelbar nach Abstrichentnahme wurde der Nylontupfer (ESwap™ 480C, Copan, Brescia, Italien) in 1000 µl Lysepuffer überführt, welcher 10 µg des Proteinaseinhibitors Aprotinin (Roth, Karlsruhe, Deutschland) enthielt. Hierfür wurde eine Aprotinin-Stammlösung aus 10 mg Aprotinin, gelöst in 1000 µl Aquadest, hergestellt und anschließend in 10 µl-Portionen aliquotiert (Konzentration 10 µg/µl). Bis zur Weiterverarbeitung erfolgte eine Lagerung bei -20 °C. Zur Herstellung einer Arbeitslösung wurden 10 µl der Stammlösung mit 90 µl RIPA-Puffer (Sigma-Aldrich, Hamburg, Deutschland) verdünnt (Aprotinin-Konzentration ein µg/µl). Für die Tupfer wurden zehn Abstrichröhrchen mit je 10 µl dieser Arbeitslösung und 990 µl RIPA-Puffer gefüllt. Pro Röhrchen lag somit eine Zielkonzentration von 10 µg Aprotinin/ml vor. Der so vorbereitete Lysepuffer war bei 7 °C für eine Woche haltbar.

Die Abstrichröhrchen und die zugehörigen sterilen Tupfer wurden im Kühlschrank des Kreißsaals hinterlegt. Nach Einschluss einer Probandin wurde das Abstrichröhrchen ins Forschungslabor überführt und bis zur Weiterverarbeitung bei -80 °C gelagert. Binnen sieben Tagen nicht verwendeter Lysepuffer wurde verworfen.

2.2.2 Probenaufarbeitung

Die Abstrichröhrchen mit Nylontupfer wurden zum Bearbeitungszeitpunkt aus der Tiefkühlung entnommen und auf Raumtemperatur aufgetaut. Der Großteil der Pufferlösung wurde in ein Eppendorfröhrchen pipettiert. Jeder Nylontupfer wurde in ein steriles 50 ml Polypropylenröhrchen (Greiner Bio-One™ Leukosep™, Kremsmünster, Deutschland) gegeben (Abbildung 8). Dieses enthielt einen Trennfilter aus einer porösen Polyethylenschicht zur Separierung zellulärer Bestandteile. Durch Zentrifugieren des Tupfers bei 1000 U/min (Relative Zentrifugalkraft 168 g) für 60 s (Heraeus Megafuge 10, Hanau, Deutschland) konnte die im Tupfer verbliebende Flüssigkeit gewonnen und in das Eppendorfröhrchen überführt werden. Das Leukosep™-Röhrchen und das Abstrichröhrchen wurden mit jeweils 100 µl RIPA-Puffer gespült. Die Spüllösung wurde nach nochmaliger Abzentrifugation ebenfalls dem Eppendorfröhrchen zugegeben.



Abbildung 8: Leukosep™ Röhrcchen mit zervikovaginalen Nylonabstrichtupfer vor der Zentrifugation (A); Laborarbeitsplatz mit geöffneter Megafuge 10 (B)

Die so aufgearbeitete Probe im Eppendorfröhrcchen wurde zum Separieren der verbliebenen Festbestandteile nochmals bei 13.000 U/min (Relative Zentrifugalkraft 14.171 g) für 60 s zentrifugiert (Heraeus BIOFUGE pico, Hanau, Deutschland). Anschließend wurde der Überstand, unter Belassen des Sediments, in ein neues Eppendorfröhrcchen abpipettiert und die Flüssigkeitsmenge quantifiziert. Zielmenge pro Röhrcchen waren 1.000 µl Probenflüssigkeit. Proben mit weniger als 1.000 µl Probenmaterial wurden bis zur Zielkonzentration mittels RIPA-Puffer aufgefüllt. Eppendorfröhrcchen mit überschrittener Zielmenge wurden auf 1.000 µl eingengt. Dies erfolgte mittels Eppendorf Concentrator 5301 (Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, Deutschland). Nachfolgend wurden die aufgearbeiteten Proben zu je 100 µl aliquotiert und bis zur Durchführung der ELISA-Testung bei -80 °C gelagert.

2.3 Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA)

2.3.1 Methode

Ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) ist ein immunologisches Testverfahren zum quantitativen Nachweis von in Flüssigkeit gelösten Substanzen, welches erstmalig 1971 von Engvall und Perlmann beschrieben wurde [138]. Es basiert auf einer Antikörper-Antigen-Wechselwirkung und wird umgangssprachlich auch „Sandwichverfahren“ genannt [138]. In Abbildung 9 ist das Testprinzip dargestellt.

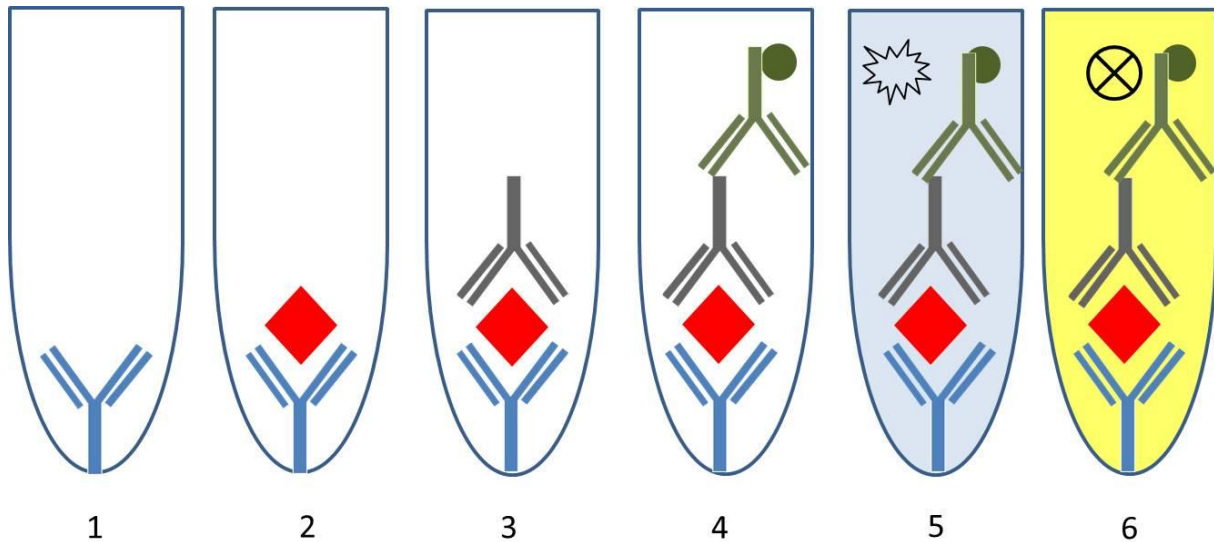


Abbildung 9: Schematische Darstellung des Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA)
 1) ELISA-Well mit einem spezifischen Antikörper gegen das zu quantifizierende Analysat (Antigen); 2) Hinzugabe des Analysats (Antigen); 3) Hinzugabe des ersten Antikörpers, der am Analysat bindet; 4) Hinzugabe eines enzymgekoppelten Sekundärantikörpers, welcher spezifisch am Primärantikörper bindet; 5) Hinzugabe eines farblosen Substrats, welches durch den antikörpergekoppelten Enzymkomplex unter Bildung eines farbigen Reaktionsproduktes umgesetzt wird; 6) Hinzugabe einer Stopplösung, die die Enzymreaktion beendet, makroskopisch sichtbar mittels Farbumschlag. Die Farbintensität, die sich pro Well zeigt, wird mittels Fotometrie in Form der Extinktionen gemessen und ist proportional der Konzentration des Analysats. Die exakte Konzentration der Analysate kann rechnerisch durch die zeitgleich mitlaufende Standardverdünnungsreihe quantifiziert werden.

2.3.2 Durchführung

In der Studie wurden ELISAs zur Quantifizierung von THBS-1, SFN und Desmoplakin durchgeführt (Tabelle 7). Die Arbeitsschritte waren für alle drei Proteine identisch und werden nachfolgend für THBS-1 exakt beschrieben.

Tabelle 7: Verwendete ELISA-Kits für die Proteinquantifizierung im Zervikovaginalsekret mit Angabe von Variabilitätskoeffizienten (VK), Detektionsbreite und Detektionslimit (Sensitivität)

Biomarker	Produkt-nummer	Firma	Detektionsbreite	Intra-Assay VK	Inter-Assay VK	Detektionslimit (Sensitivität)
Stratifin (SFN)	SEH179Hu	Cloud-Clone.Corp	31,2-2.000 pg/ml	<10 %	<12 %	11,9 pg/ml
Desmoplakin	SEC203Hu	Cloud-Clone.Corp	0,312-20 ng/ml	<10 %	<12 %	0,114 ng/ml
Thrombospondin-1 (THBS-1)	SEA611Hu	Cloud-Clone.Corp	125-8.000 pg/ml	<10 %	<12 %	53 pg/ml

Die bereits aufgearbeiteten, portionierten Proben (jeweils 100 µl) sowie die ELISA-Kits wurden aus der Tiefkühlung entnommen und bei Raumtemperatur gelagert, bis diese aufgetaut waren.

Initial wurde die Standardlösung in einer Konzentration von 64.000 pg/ml THBS-1 durch Hinzugabe von 1.000 µl der mitgelieferten Standardverdünnung erstellt. Diese wurde bei Raumtemperatur für 10 min auf einem Rüttler vermischt. Da das ELISA-Kit für THBS-1 eine Detektionsbreite von 125-8.000 pg/ml abdeckt, wurde die entsprechende Standardlösung 1:8 auf 8.000 pg/ml (Probe 1) durch Mischung von 125 µl Standardlösung und 875 µl mitgelieferter Standardverdünnung erstellt. Sechs Eppendorfröhrchen wurden jeweils mit 500 µl Standardverdünnung befüllt. Im nächsten Arbeitsschritt erfolgte die Herstellung einer Verdünnungsreihe durch Überführung von 500 µl der Probe 1 in Probe 2. Es wurden erneut 500 µl aus Probe 2 entnommen, in Probe 3 gegeben und erneut vermischt. Diese Schrittreihenfolge wurde bis Röhrchen 8 fortgeführt, sodass sich jeweils von Probe 1-8 eine Verdünnung im Verhältnis 1:2 ergab. Probe 9 stellte die Leerprobe dar (Abbildung 10).

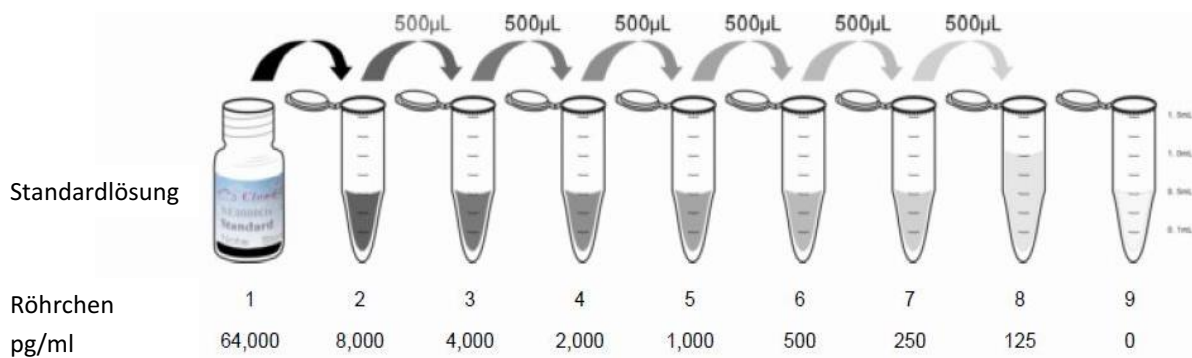


Abbildung 10: Schematische Darstellung der Herstellung der Verdünnungsreihe für ELISA-Kit Thrombospondin-1 [139]

Anschließend wurden die Detektionsreagentien (enzymgebundene Antikörper) hergestellt. Die Detektionslösungen, ein Biotin konjugierter Erstantikörper spezifisch für humanes THBS-1 und ein Avidin konjugierter Zweitantikörper mit Horseradish-Peroxidase, wurden zur Durchmischung kurz an zentrifugiert und laut Herstellerangaben 100-fach verdünnt: 120 µl Detektionslösung A/B + 12 ml Verdünnung. Ebenso war es erforderlich, das Waschlösungskonzentrat zu verdünnen (20 ml Waschlösungskonzentrat mit 580 ml destilliertem Wasser). Der letzte Vorbereitungsschritt vor dem Auftragen der Proben bestand in der Zentrifugation (Heraeus BIOFUGE pico, Hanau, Deutschland) der Proben für 2 min bei 1.000 min^{-1} (Relative Zentrifugalkraft 84 g).

Im nächsten Arbeitsschritt wurden die Proben und die Standardreihe auf die 96-well ELISA-Platte mit je 100 µl/well aufgetragen. Die Messung der Proben erfolgte doppelt (SFN, Desmoplakin) beziehungsweise dreifach (THBS-1). Die ELISA-Platte wurde abgedeckt und bei 37 °C für 1 h inkubiert.

Anschließend wurde die Flüssigkeit entfernt. Danach erfolgte die Hinzugabe des ersten Detektionsreagenz (primärer Antikörper) von 100 µl/well mittels Eppendorf-Multipipette. Es schloss sich eine nochmalige einstündige Inkubation der abgedeckten ELISA-Platte bei 37 °C an. Nach Entnahme aus dem Wärmeschrank und Entfernung der gesamten Flüssigkeit auf dem ELISA-Kit erfolgte ein gründlicher Waschvorgang. Jedes Well wurde hierzu separat mit jeweils 350 µl Waschlösung befüllt. Die Waschlösung verblieb für 60 s und wurde durch wenden sowie schütteln der ELISA-Platte gänzlich auf das Absorptionpapier entfernt. Der Vorgang wurde dreimal wiederholt und nachfolgend die Detektionslösung B (sekundärer enzymgebundener Antikörper) mit je 100 µl/well aufgetragen. Nach Inkubation über 30 min bei 37 °C schloss sich erneut ein fünfmaliger Waschvorgang an. Abschließend erfolgte die Hinzugabe von 90 µl Substratlösung/well, welche durch die antikörpergebundene Horseradish Peroxidase (HRP) umgesetzt wurde. Hierbei kam es zur Blaufärbung der THBS-1 enthaltenden Proben. Nach Inkubation über 15 min bei 37 °C wurde durch Hinzugabe einer Schwefelsäure enthaltenden Stopplösung die Reaktion beendet. Hierbei kam es zur Gelbfärbung der Wells, in denen THBS-1 nachgewiesen werden konnte (Abbildung 11). Die ELISA-Platte wurde unverzüglich in ein Photometer (Bio-Rad Laboratories Inc., CA, USA) gegeben und die Extinktionswerte bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen.

Die Bestimmung der quantitativen Menge an Substrat erfolgte nach Berechnung der Verdünnungskurve unter Verwendung einer quadratischen Funktion ($y = a \cdot x^2 + b \cdot x$) und Zuhilfenahme der Tabellenkalkulationssoftware Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

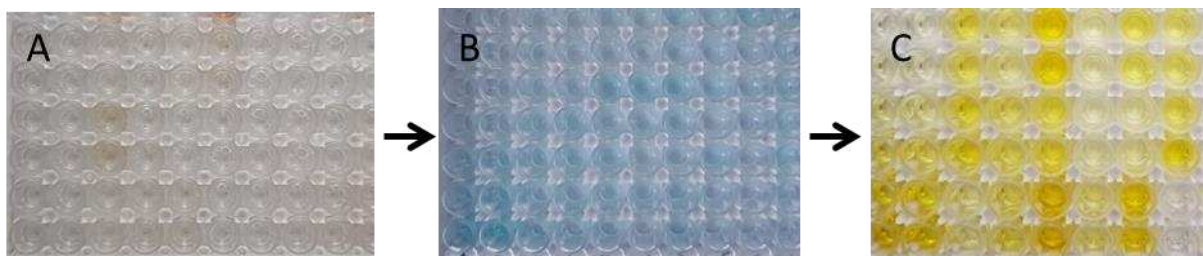


Abbildung 11: ELISA-Platte: ELISA-Platte nach Auftragen der Verdünnungsreihe und der Proben (A); blauer Farbumschlag nach Hinzugabe der Substratlösung (B); gelber Farbumschlag nach Hinzugabe der Stopplösung (C)

2.4 Statistik

Alle Daten wurden mittels IBM SPSS Statistics 25 (SPP Inc. Chicago, IL, USA), Excel 2013 und Sigmaplot 14 (Systat Software GmbH, Erkrath-Hochdahl, Deutschland) analysiert. Die deskriptive Statistik schloss die Bestimmung von Mittelwerten und Standardabweichungen (SD) für parametrische Variablen ein. Anderenfalls wurden Median, Minimum, Maximum und Interquartilbereich (IQB) berechnet. Für kategoriale Variablen wurden die Häufigkeit und relative Häufigkeit angegeben. Die Testung auf Unterschiede von quantitativen Merkmalen wurde für normalverteilte unabhängige Parameter mittels Student's T-Test bzw. Varianzanalyse, anderenfalls mittels U-Test nach Mann-Whitney bzw. Kruskal-Wallis-Test, in Abhängigkeit des Vergleichs von zwei bzw. drei Stichproben, durchgeführt. Zudem erfolgte ein paarweiser Vergleich zwischen den Gruppenmittelwerten der THBS-1-Konzentration nach Dunn Bonferroni. Die Testauswahl basierte auf der Auswertung der Variablen für die Standardverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests. Der Vergleich von qualitativen Merkmalen zwischen den Gruppen wurde mittels Chi-Quadrat-Test oder exaktem Test nach Fisher durchgeführt. Korrelationsanalysen erfolgten bei Normalverteilung nach Pearson, andernfalls unter Angabe des Korrelationskoeffizienten (r) nach Spearman.

Der Zusammenhang zwischen FG und Zeitintervall sowie Studieneinschluss und Geburtszeitpunkt wurde mittels Kaplan-Meier-Kurve graphisch dargestellt und ein statistischer Gruppenvergleich mittels log rank Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

Zur Testcharakterisierung der im Studienkollektiv untersuchten potentiellen Prädiktoren THBS-1, SFN, Desmoplakin, ZL und ZUW wurden ROC-Analysen (receiver operating characteristic) durchgeführt und AUC-Werte (Area under the curve) berechnet.

Der optimale Grenzwert (Cut-off Wert; minimaler Abstand zwischen Sensitivität und Spezifität von 1) für eine Testung wurde unter Verwendung der folgenden Gleichung berechnet:

$$\text{Cut off Wert} = (1 - \text{Sensitivität})^2 + (1 - \text{Spezifität})^2.$$

Zusätzlich wurde für THBS-1 ein zweiter diagnostischer Grenzwert mit einer fixen Spezifität von 0,9 festgelegt.

Für THBS-1, Stratifin, Desmoplakin, der ZL sowie für die klinischen Parameter (positives Tokogramm, subjektive Wehentätigkeit und palpatorisch vorgereifte Zervix) wurden die Testgütekriterien Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert, sowie das positive und negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis (likelihood ratio) berechnet.

Die Odds Ratio (OR) für verschiedene prädiktive Risikofaktoren wurden berechnet und mittels logistischen Regressionsmodells die Unabhängigkeit bestimmter Prädiktoren überprüft.

Vor Studieninitiierung erfolgte durch das genannte Regressionsmodell in Verbindung mit der Statistik-Software G*Power Version 3.1.9.2 (HHU, Düsseldorf, Deutschland) die Berechnung der Stichprobengröße. Dabei wurde die a-priori Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer FG < 34 SSW

im Studienkollektiv auf 15 % festgelegt. Bei Annahme einer post-Test-Wahrscheinlichkeit bei positivem Testergebnis von 30 %, einem α -Fehler von 0,05 und einer Teststärke von 90 % ergab sich eine notwendige Fallzahl von 139 Patientinnen. Die Studie wurde aufgrund einer über 2 Jahre andauernden Rekrutierungszeit vorzeitig nach Einschluss von 109 Probandinnen gestoppt. Eine zweiseitige post-hoc Poweranalyse mit demselben Modell resultierte in einer statistischen Power von >99 % für die endgültige Stichprobengröße.

3 Ergebnisse

3.1 Charakterisierung des Studienkollektivs

Während der 27-monatigen Rekrutierungszeit zwischen Januar 2017 bis April 2019 konnten 109 Probandinnen (95 Einlingsgravida und 14 Mehrlingsgravida), die sich ambulant oder stationär mit Zeichen einer drohenden FG in der Universitätsfrauenklinik Rostock vorstellten, rekrutiert werden (Tabelle 8). Alle eingeschlossenen Probandinnen präsentierten mindestens ein klinisches Symptom einer drohenden FG. 68 Probandinnen (62,4 %) wurden aufgrund subjektiver Wehentätigkeit in die Studie rekrutiert. Eine Zervixlängenverkürzung <25mm, mit oder ohne subjektiver Wehentätigkeit, lag bei 70 Probandinnen (64,2 %) vor. Das GA zum Aufnahmezeitpunkt betrug im Median 26 SSW (IQB 24-29 SSW) und zum Entbindungszeitpunkt 38 SSW (IQB 35-39 SSW). Das mediane Intervall zwischen Studieneinschluss und Geburt war erwartungsgemäß vom GA bei Studieneinschluss sowie der Schwangerschaftswoche bei Entbindung abhängig (Abbildung 12).

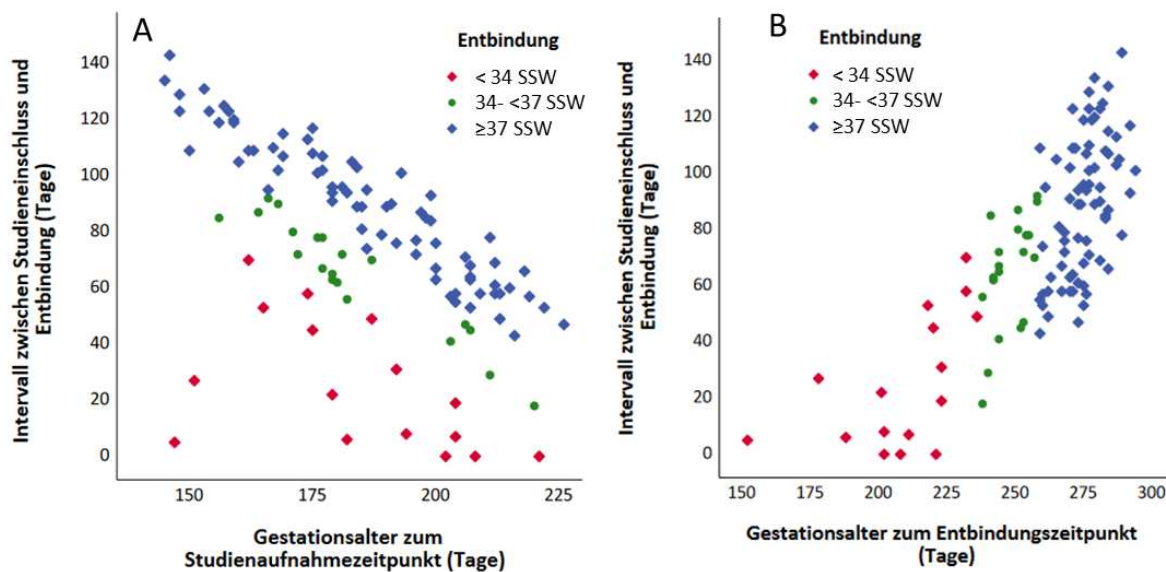


Abbildung 12: Streudiagramm mit Darstellung des Zusammenhangs zwischen Gestationsalter zum Studieneinschluss (A) bzw. Entbindungszeitpunkt (B) und Zeitintervall bis zur Entbindung in Tagen

Abkürzung: SSW Schwangerschaftswochen

Das mediane Intervall zwischen Studieneinschluss und Geburt betrug 21 Tage (IQB 5-48) für FG <34 SSW, 51 Tage (IQB 20-72) für FG <37 SSW und 89 Tage (IQB 65-108) für Geburten ≥37 SSW. Es kam in 33 % des Studienkollektivs zur FG <37 SSW, wovon 16 Probandinnen <34 SSW (14,7 %) und 67 % am Termin (≥37+0 SSW; n=73) entbunden wurden. Lediglich sechs Patientinnen (5,5 % der Gesamtkohorte bzw. 37,5 % mit FG <34 SSW) wurden innerhalb von sieben Tagen nach Studieneinschluss (Median 2,5 Tage, IQB 0-6,25) entbunden. Demnach kam es bei der Mehrheit der

Patientinnen mit FG <34 SSW nach Ablauf der sieben Tage nach Studieneinschluss zur Entbindung. Von den eingeschlossenen 14 Mehrlingsschwangerschaften (Di-Di-Gemini n=11, Mo-Di-Gemini n=2 und Drillinge n=1) kam es nur bei zwei Di-Di-Geminigraviditäten zur Geburt am Termin. Die restlichen Mehrlingsschwangerschaften endeten als FG (FG <34 SSW: n=8/14, 57,1 %; FG <37 SSW: n=12/14, 85,7 %). Von den besagten Mehrlingsgravida mit FG <34 SSW bzw. <37 SSW lag bei 7 von 8 Fällen (87,5 %) bzw. 9 von 12 Fällen (75,0 %) eine Kinderwunschbehandlung zu Grunde.

Tabelle 8: Charakteristik des Studienkollektivs, Gruppenvergleich Entbindung <34 SSW, 34-<37 SSW, ≥37 SSW mit Berechnung der p-Werte nach *Kruskal-Wallis-Test bzw. **Chi-Quadrat-Test nach Pearson.

Charakteristik	Alle Probanden n=109 (100 %)	Probanden mit Entbindung <34 SSW n=16 (14,7 %)	Probanden mit Entbindung 34 bis <37 SSW n=20 (18,3 %)	Probanden mit Entbindung ≥37 SSW n=73 (67,0 %)	p-Wert
Maternales Alter (Jahre, x ± SD)	30 ± 5	31 ± 4	29,4 ± 4,6	31 ± 5	0,480*
Prägravid BMI [kg/m ² , x ± SD]	25,1 ± 6,1	29,4 ± 9,9	24,3 ± 5,4	24,4 ± 4,8	0,138*
Übergewicht (BMI ≥30kg/m ²), n (%)	21 (19,3 %)	7 (43,8 %)	2 (10,0 %)	12 (16,4 %)	0,025**
Gestationsalter bei Studieneinschluss, SSW (Median, IQR)	26 (24-29)	26 (23,3 - 28,8)	25 (24,0 - 28,3)	26,0 (24,0 -29,2)	0,710*
Gestationsalter zur Geburt, SSW (Median, IQR)	38 (35-39)	30,5 (28-31)	34,5 (34–36)	39,0 (38–40)	0,001*
Zeitintervall bis zur Entbindung, Tage (Median, IQR)	76,0 (56,5 - 98,5)	20,5 (5,3 - 48,0)	68,5 (49,3 - 79,5)	89 (65 -107,5)	0,001*
Gravidität, n (Median, min-max)	2 (1-7)	2 (1-7)	2 (1-6)	2 (1-6)	0,449*
Nullipara, n (%)	60 (55,0 %)	8 (50,0 %)	12 (60,0 %)	40 (54,8 %)	0,689**
FG in Eigenanamnese, n (%)	20 (18,3 %)	5 (31,3 %)	3 (15,0 %)	12 (16,4 %)	0,359**
Anwendung Reproduktionsmedizin, n (%)	11 (10,1 %)	7 (43,8 %)	2 (10,0 %)	2 (2,7 %)	0,001**
Zervixlänge, [mm] (Median, IQB)	20,0 (14,5-32,5)	14,5 (6,0-21,3)	17,5 (11,3-23,8)	22,0 (16,0-35,0)	0,008*
ZL ≤20 mm, n (%)	61 (56,0 %)	12 (75,0 %)	15 (75,0 %)	34 (46,6 %)	0,019**
ZL ≤25 mm, n (%)	70 (64,2 %)	14 (87,5 %)	16 (80,0 %)	40 (54,8 %)	0,013**
Zervixouteriner Winkel [°, x±SD]	103,2 ± 19,7	103,7 ± 21,0	106,1 ± 18,9	102,4 ± 20,0	0,924*
Subjektive vorzeitige Wehen, n (%)	68 (62,4 %)	10 (62,5 %)	9 (45,0 %)	49 (67,1 %)	0,195**
Druckgefühl Vagina/ Rücken	73 (67,0 %)	13 (81,3 %)	14 (70,0 %)	45 (61,6 %)	0,298**
Subjektive Wehen und/oder Druckgefühl Vagina/ Rücken	86 (78,9 %)	13 (81,3 %)	15 (75,0 %)	58 (79,5 %)	0,883**
Positives Tokogramm (≥3 Kontraktionen/30 min), n (%)	61 (56,0 %)	10 (62,5 %)	8 (40,0 %)	43 (58,9 %)	0,252**
Palpatorisch vorzeitige Zervixreifung nach Westin-Score, n (%)	53 (48,6 %)	14 (87,5 %)	13 (65,0 %)	26 (35,6 %)	0,001**
Zervixtrichter, n (%)	49 (45,0 %)	11 (68,8 %)	12 (60,0 %)	26 (35,6 %)	0,007**
Hypertensive Erkrankung, n (%)	2 (1,8 %)	0 (0,0 %)	2 (10,0 %)	0 (0,0 %)	0,011**
Nikotinabusus, n (%)	10 (9,2 %)	3 (18,8 %)	3 (15,0 %)	4 (5,5 %)	0,147**
Gestationsdiabetes, n (%)	16 (14,7 %)	6 (37,5 %)	0 (0,0 %)	10 (13,7 %)	0,007**
Konisation in EA, n (%)	7 (6,4 %)	2 (12,5 %)	1 (5,0 %)	4 (5,5 %)	0,568**
Ureaplasma spp. vag., n (%)	16 (14,7 %)	4 (25,0 %)	4 (20,0 %)	8 (11,0 %)	0,392**

Abkürzungen: BMI body mass index; EA Eigenanamnese; FG Frühgeburt; IQB Interquartilbereich; p-Wert Signifikanzwert; SD Standardabweichung; x Mittelwert; ZL Zervixlänge

3.2 Therapiemanagement

3.2.1 Medikamentöse und invasive Präventionsstrategien

Die antenatale Steroidprophylaxe wurde insgesamt bei 55 % der Probanden (n=60) durchgeführt: in der Frühgeburtskohorte mit FG <34 SSW in 14 Fällen (87,5 %), mit FG <37 SSW in 32 Fällen (88,9 %) und in 28 Fällen (38,4 %) in der Gruppe mit Geburt \geq 37 SSW ($p=0,001$). Eine Lungenreifeinduktion erfolgte zu 88,3 % (n=53/60) gemeinsam mit einer medikamentösen Tokolyse, im individuellen Fall auch über 48 h hinaus.

Eine operative Zerklage wurde bei zwei Frauen vorgenommen, bei denen eine ZL <10 mm sowie in der Eigenanamnese eine FG beziehungsweise ein Zustand nach Konisation bestand. Bei einer Probandin trat erneut eine FG mit 25+3 SSW auf. Die Einlage eines Zervixpessars erfolgte bei 12 Probandinnen, wobei es in sechs Fällen (50 %) zu einer FG <37 SSW kam, davon zwei Fälle mit FG <34 SSW ($p=0,350$) (Tabelle 9).

Tabelle 9: Medikamentöse und invasive Präventionsstrategien. Die p-Wert Berechnung erfolgte nach Qui-Quadrat-Test nach Pearson.

Charakteristik	Gesamtes Studienkollektiv n=109	Entbindung <34 SSW n=16	Entbindung 34 - <37 SSW n=20	Entbindung \geq 37 SSW n=73	p-Wert
Lungenreifeinduktion, n (%)	60 (55 %)	14 (87,5 %)	18 (90,0 %)	28 (38,4 %)	0,001
Tokolyse Partusisten, n (%)	53 (48,6 %)	13 (81,3 %)	16 (80,0 %)	24 (32,9 %)	0,001
Tokolysedurchbruch unter Partusisten	10 (9,2 %)	9 (56,3 %)	1 (5,0 %)	0 (0,0 %)	0,001
• n (%) davon mikrobiologisch gesicherte vag. Infektion	8 (7,3 %)	7 (43,8 %)	1 (5,0 %)	0 (0,0 %)	0,001
Nifedipin, n (%)	27 (24,8 %)	4 (25,0 %)	10 (50,0 %)	13 (17,8 %)	0,016
Pessartherapie, n (%)	12 (11,0 %)	2 (12,5 %)	4 (20,0 %)	6 (8,2 %)	0,350
Zerklage, n (%)	2 (1,8 %)	1 (6,3 %)	0 (0,0 %)	1 (1,4 %)	0,343
Antibiotikagabe, n (%)	35 (32,1 %)	10 (62,5 %)	8 (40,0 %)	17 (23,3 %)	0,001
Davon früher VBS im Verlauf, n (%)	4 (3,7 %)	2 (12,5 %)	2 (10,0 %)	0 (0,0 %)	0,112
Progesteronsubstitution, n (%)	77 (70,6 %)	9 (56,3 %)	15 (75,0 %)	53 (72,6 %)	0,316

Abkürzungen: p-Wert Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswochen; VBS vorzeitiger Blasensprung

3.2.2 Entbindungsmodus

Im Gesamtkollektiv entbanden ca. 2/3 aller Probanden spontan (n=71/109; 65,1 %) und 5,5 % vaginal operativ mittels Forceps oder Vakuumentraktion. Zur Sectio kam es in 29,4 % der Fälle, wobei hier zumeist sekundäre Sectiones durchgeführt wurden (prim. Sectio 4,6 %, n=5 vs. sek. Sectio 24,8 %, n=27). In der Subgruppenanalyse lässt sich zudem erkennen, dass mit Fortschreiten der Schwangerschaft prozentual die Spontangeburt dominierten (Entbindung <34 SSW: 12,5 %, Entbindung <37 SSW: 44,4 %, Entbindung ≥37 SSW: 75,3 %) und der prozentuale Anteil an Sectiones abnahm (Entbindung <34 SSW: 87,5 %, Entbindung <37 SSW: 52,8 %, Entbindung ≥37 SSW: 17,8 %). Die Mehrzahl der sekundären Sectiones erfolgte in der Subgruppe der Frauen mit Entbindung <34 SSW (n=14/27; 51,9%). Lediglich zwei Neugeborene <34 SSW kamen spontan zur Welt (n=2/16; 12,5 %) (Tabelle 10).

Tabelle 10: Entbindungsmodus

Abkürzung: SSW Schwangerschaftswochen

Entbindungsmodus	Gesamtes Studienkollektiv n=109	Entbindung <34 SSW n=16	Entbindung 34 - <37 SSW n=20	Entbindung ≥37 SSW n=73
Spontanpartus, n (%)	71 (65,1 %)	2 (12,5 %)	14 (70,0 %)	55 (75,3 %)
Davon Mehrlinge, n (%)	5 (4,6 %)	1 (6,3 %)	3 (15,0 %)	1 (1,4 %)
Vaginal operative Entbindung, n (%)	6 (5,5 %)	0 (0,0 %)	1 (5,0 %)	5 (6,8 %)
Davon Mehrlinge, n (%)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Sectio caesarea, n (%)	32 (29,4 %)	14 (87,5 %)	5 (25,0 %)	13 (17,8 %)
Davon Primäre Sectio	5 (4,6 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (6,8 %)
Davon Sekundäre Sectio	27 (24,8 %)	14 (87,5 %)	5 (25,0 %)	8 (11,0 %)
Davon Mehrlinge, n (%)	9 (8,3 %)	7 (43,8 %)	1 (5,0 %)	1 (1,4 %)

3.3 Neonatales Outcome

Es wurden 124 Neugeborene zwischen 21-42 SSW geboren. Inbegriffen ist dabei ein Spätabort in der 21. SSW mit einem Geburtsgewicht von 390 g. Die Nabelschnur-pH-Werte zeigten im Mittel in allen Subgruppen pH-Werte >7,25. Eine manifeste Azidose mit Geburts-pH <7,10 trat lediglich im Falle der Drillingsschwangerschaft mit Entbindung in 26+6 SSW auf. Sowohl hypo- als auch hypertrophe Neugeborene kamen quantitativ vermehrt bei Entbindung ≥37 SSW vor. Am gesamten Studienkollektiv wiesen fünf Neugeborene hypertrophe (≥90. Perzentile) und zehn hypotrophe (<10. Perzentile) Gewichtsperzentilen auf (Tabelle 11).

Tabelle 11: Neonatales Outcome

Charakteristik		Gesamtes Studienkollektiv N _{Neugeborene} = 124	Entbindung <34 SSW N _{Neugeborene} = 25	Entbindung <37 SSW N _{Neugeborene} = 49	Entbindung ≥37 SSW N _{Neugeborene} = 75
Geschlecht	Männlich, n (%)	58 (46,8 %)	15 (60,0 %)	25 (51,0 %)	33 (44,0 %)
	Weiblich, n (%)	66 (53,2 %)	10 (40,0 %)	24 (49,0 %)	42 (56,0 %)
5-Min-Apgar Median (Min.-Max.)		10 (3-10)	8 (3-10)	9 (3-10)	10 (8-10)
Nabelschnur-pH	Mittelwert±SD	7,29±0,07	7,30±0,09	7,30±0,08	7,29±0,69
	Min.-Max.	7,0-7,45	7,00-7,44	7,0-7,44	7,11-7,45
	Azidose, pH≤7,10, n (%)	1 (0,8 %)	1 (4,0 %)	0 (0%)	0 (0 %)
Gewicht	Mittelwert±SD [g]	2.811,5±888,8	1.407,2±497,5	2.015,5±780,7	3.331,5±473,3
	Min.-Max. [g]	390-4.460	390-2.140	390-3.670	2.490-4.460
Gewichtsperzentile	Median	41	33	39,5	41
	Min.-Max.	1-98	1-84	1-98	1-97
	<3. Perzentile, n (%)	3 (2,4 %)	1 (4,0 %)	1 (2,0 %)	2 (2,7 %)
	<10. Perzentile, n (%)	10 (8,1 %)	1 (4,0 %)	4 (8,2 %)	6 (8,0 %)
	>97. Perzentile, n (%)	1 (0,8 %)	0 (0,0 %)	1 (2,0 %)	0 (0,0 %)
	>90. Perzentile, n (%)	5 (4,0 %)	0 (0,0 %)	1 (2,0 %)	4 (5,3 %)

Abkürzung: SSW Schwangerschaftswoche

3.4 Risikoanalyse für das Auftreten einer Frühgeburt

3.4.1 Risikoanalyse für maternale, klinische und mikrobiologische Risikofaktoren

62,4 % der Studienprobandinnen zeigten Symptome der drohenden FG in Form von subjektiv wahrgenommener Wehentätigkeit (n=68). Nur in 14,7 % (n=10) der Fälle kam es zu einer FG <34 SSW. Sowohl für diesen klinischen Hauptrisikofaktor als auch für das Vorliegen eines positiven Tokogramms oder einer palpatorisch vorgereifte Zervix nach Westin-Score zum Aufnahmezeitpunkt wurden die Testgütekriterien für das primäre und sekundäre Studienziel berechnet. Dabei war lediglich die Erhebung des Zervixbefundes ein statistisch signifikanter Risikofaktor (Tabelle 12).

Für die potentiellen weiteren mikrobiologischen und maternalen Risikofaktoren, maternales Alter <22 Jahre bzw. >34 Jahre, Übergewicht (BMI ≥30 kg/m²), FG in der Eigenanamnese, die Anwendung reproduktionstechnischer Verfahren (ART), Mehrlingsschwangerschaften, Z. n. Konisation, Vorliegen einer bakteriellen Vaginose, Nikotinabusus, genitale Infektion mit Ureaplasmen spp. und vaginale Dysbiose wurden die Odds Ratio für die FG <34 SSW und <37 SSW berechnet. Von diesen genannten Risikofaktoren waren ART und Mehrlingsschwangerschaften sowohl für FG <34 SSW als auch für die FG <37 SSW signifikant assoziiert. Zusätzlich war auch ein BMI >30 kg/m² signifikant mit einer FG <34 SSW assoziiert (Tabelle 13, Tabelle 14, Abbildung 13).

Tabelle 12: Testgütekriterien klinischer Risikofaktoren für das Auftreten einer Frühgeburt

Merkmal	Studienziel	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	PPV [%]	NPV [%]	LR+	LR-	Odds Ratio (95 % KI)	p-Wert
Positives Tokogramm	FG <34 SSW	63	45	16	87	1,1	0,8	1,3 (0,4-4)	0,6
	FG <37 SSW	50	40	30	62	0,8	1,2	0,7 (0,3-1,5)	0,338
Subjektive Wehentätigkeit	FG <34 SSW	62	38	15	85	1,0	1,0	1,0 (0,3-3)	0,992
	FG <37 SSW	53	33	28	59	0,8	1,4	0,5 (0,2-1,2)	0,148
Palpatorisch vorgereifte Zervix nach Westin	FG <34 SSW	87	54	26	95	1,9	0,2	8,3 (1,8-38,6)	0,007
	FG <37 SSW	77	60	51	83	2,0	0,4	5,2 (2,0-13,2)	0,001

Abkürzungen: LR Likelihood Ratio; NPV negativer Vorhersagewert; PPV positiver Vorhersagewert; p-Wert Signifikanzwert; KI Konfidenzintervall; SSW Schwangerschaftswoche

Tabelle 13: Unadjustierte Odds Ratio zwischen Risikofaktor und Frühgeburt <34 SSW

Risikofaktor (Prädiktor)	FG <34 SSW in exponierter Gruppe	FG <34 SSW in nicht exponierter Gruppe	Unadjustierte OR	Unteres 95 % KI	Oberes 95 % KI	p-Wert
Reproduktionsmedizin	63,6 %	9,3 %	17,1	4,2	69,9	<0,001
Mehrlingsgravida	57,1 %	8,4 %	14,5	4	52,3	<0,001
Vorgereifte Zervix	26,4 %	4,2 %	8,3	1,8	38,6	0,007
Übergewicht (BMI ≥ 30 kg/m ²)	33,3 %	10,5 %	4,3	1,4	13,4	0,012
FG in Eigenanamnese	25,0 %	12,5 %	2,3	0,7	7,7	0,164
Rauchen	30,0 %	14,6 %	2,5	0,6	11,0	0,226
Genitalinfektion mit Ureaplasmen spp.	25,0 %	14,1 %	2	0,6	7,3	0,281
Konisation	28,6 %	13,9 %	2,5	0,4	14,1	0,303
Vaginale Dysbiose (pH >4,5)	13,5 %	17,0 %	1,3	0,5	3,8	0,617
Positives Tokogramm	16,4 %	12,8 %	1,3	0,4	4	0,6
Maternales Alter >34 Jahre	16,0 %	14,3 %	1,1	0,3	3,9	0,832
Subjektive Wehentätigkeit	14,7 %	14,6 %	1	0,3	3	0,992
Maternales Alter <22 Jahre	0,0 %	15,7 %	Nicht anwendbar			
Bakterielle Vaginose	7,1 %	17,2 %	0,4	0,05	3,0	0,354

Abkürzungen: BMI Body-Mass-Index; FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; OR Odds Ratio; p-Wert Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche

Tabelle 14: Unadjustierte Odds Ratio zwischen Risikofaktor und Frühgeburt <37 SSW

Risikofaktor (Prädiktor)	FG <37 SSW in exponierter Gruppe	FG <37 SSW in nicht exponierter Gruppe	Unadjustierte OR	Unteres 95 % KI	Oberes 95 % KI	p-Wert
Reproduktionsmedizin	81,8 %	27,8 %	11,7	2,4	57,5	0,003
Mehrlingsgravida	85,7 %	25,3 %	17,8	3,7	85,1	0,001
Vorgereifte Zervix	77,1 %	39,4 %	5,2	2,0	13,2	0,001
Rauchen	60,0 %	29,3 %	3,6	0,9	14,0	0,062
Ureaplasmen spp. vaginal	22,2 %	12,3 %	2,0	0,7	60,	0,197
Übergewicht (BMI ≥ 30 kg/m ²)	42,9 %	31,4 %	1,6	0,6	4,3	0,322
Konisation	42,9 %	32,7 %	1,5	0,3	7,3	0,583
FG in Eigenanamnese	22,2 %	16,7 %	1,4	0,5	3,9	0,485
Bakterielle Vaginose	42,9 %	34,5 %	1,4	0,4	4,4	0,545
Maternales Alter <22 Jahre	28,7 %	33,4 %	0,8	0,1	4,3	0,796
Positives Tokogramm	29,5 %	38,3 %	0,7	0,3	1,5	0,338
Maternales Alter >34 Jahre	27,3 %	35,5 %	0,7	0,3	1,7	0,401
Subjektive Wehentätigkeit	27,9 %	41,5 %	0,5	0,2	1,2	0,148
Vaginale Dysbiose (pH >4,5)	17,6 %	35,4 %	0,4	0,1	1,5	0,166

Abkürzungen: BMI Body-Mass-Index; FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; OR Odds Ratio; p-Wert Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche

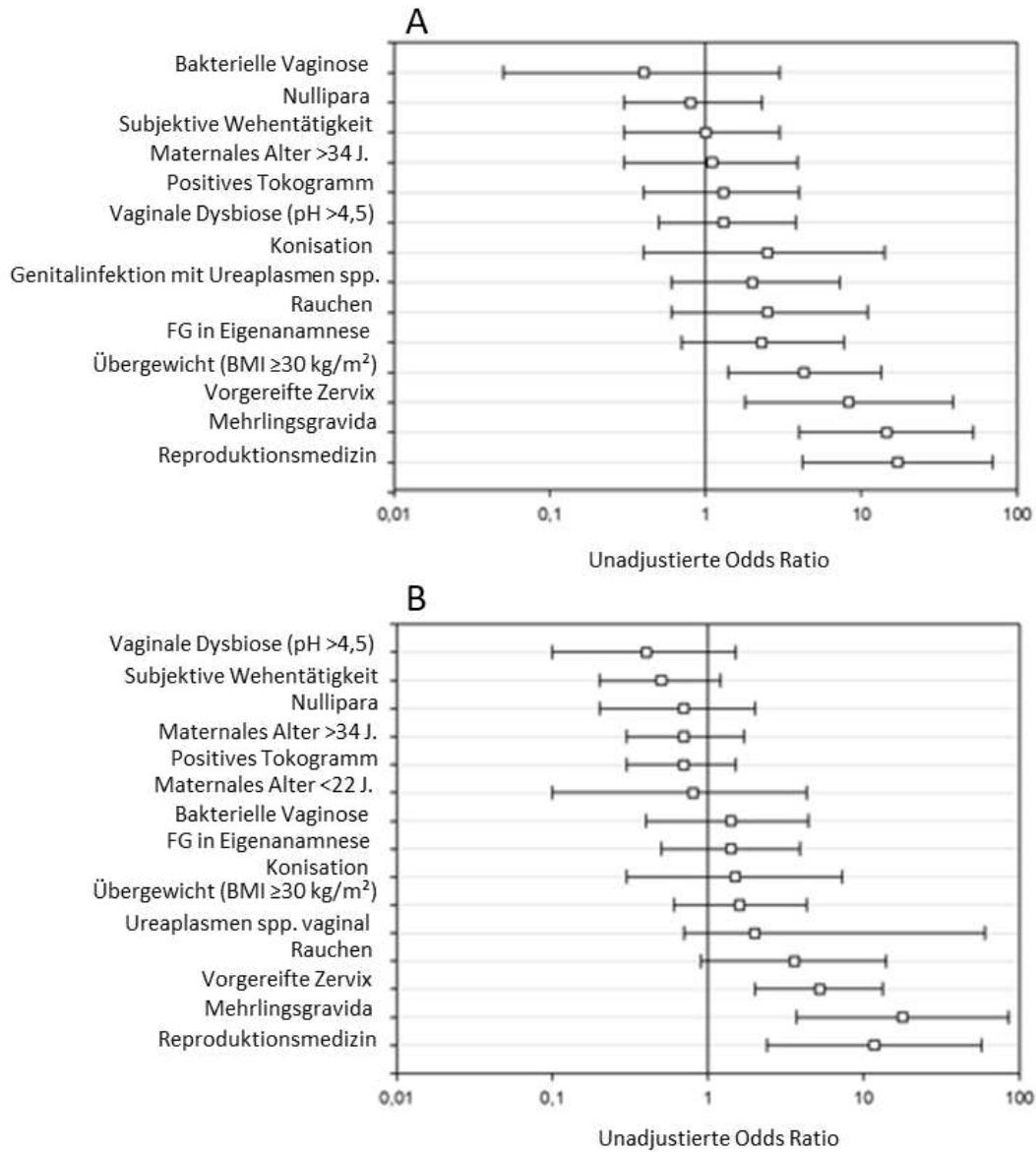


Abbildung 13: Analyse von Prädiktoren für die Frühgeburt <34 SSW (A) und Frühgeburt <37 SSW (B). Abgebildet sind die unadjustierten Odds Ratios (Box) mit Darstellung des 95 % Konfidenzintervalls

Abkürzungen: BMI Body-Mass-Index; FG Frühgeburt

3.4.2 Sonographische Risikofaktoren: Zervixlänge und Zervikouteriner Winkel

3.4.2.1 Zervixlänge

Die Zervixlänge betrug im Median 20,0 mm (IQB 14,5-32,5). Am Gesamtkollektiv konnte bei FG eine zunehmende Verkürzung der Zervix nachgewiesen werden: Entbindung <34 SSW 14,5 mm (IQB 6,0-21,3), Entbindung 34- <37 SSW 17,5 mm (IQB 11,3 -23,8 mm) vs. Entbindung \geq 37 SSW 22,0 mm (IQB 16,0-35,0) ($p=0,008$ nach Kruskal-Wallis-Test). In der Subgruppenanalyse zwischen Ein- und Mehrlingen war die Zervixverkürzung nur bei Einlingen statistisch signifikant ($p=0,048$ vs. $p=0,619$ mittels Kruskal-Wallis-Test) (Abbildung 14). Für Einlingsgravida zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen ZL und SSW bei der Entbindung ($\rho=0,3$, $p=0,002$) (Abbildung 15).

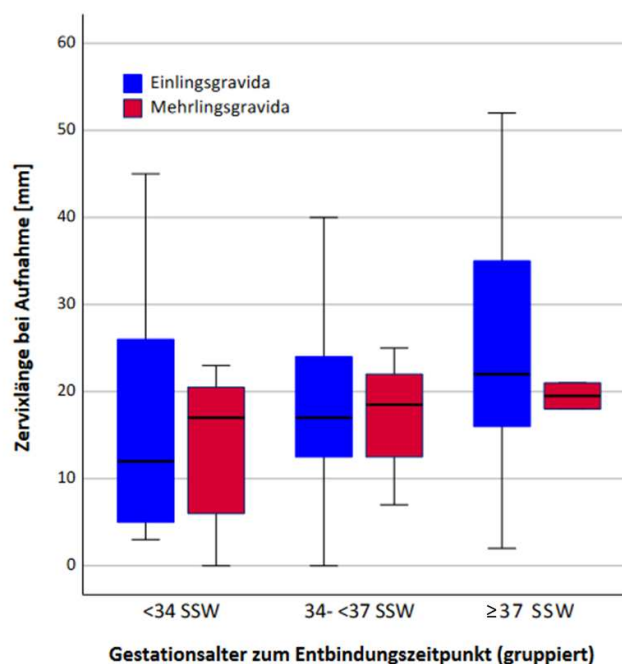


Abbildung 14: Gruppierte Boxplotdarstellung mit Abbildung des Zusammenhangs zwischen Zervixlänge zum Aufnahmezeitpunkt und Gestationsalter zum Entbindungszeitpunkt für Einlinge (blau, n=95) und Mehrlinge (rot, n=14).

Abkürzung: SSW Schwangerschaftswoche

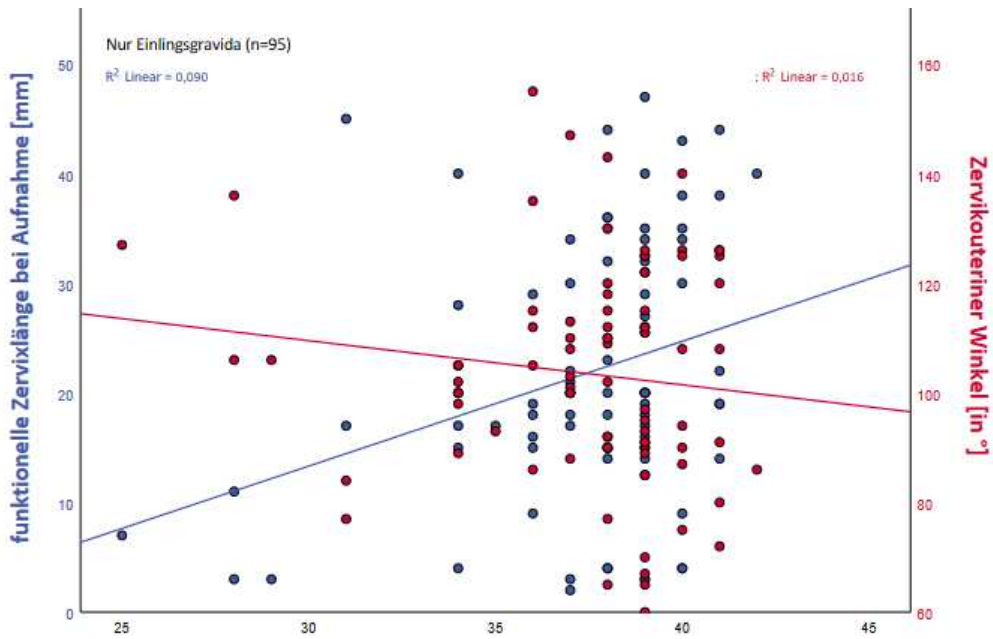


Abbildung 15: Streudiagramm mit Darstellung der funktionellen Zervixlänge (blau) und des ZUW (rot) bei drohender Frühgeburt <32 SSW zum Aufnahmezeitpunkt in Abhängigkeit der SSW bei Entbindung bei Einlingsgravida. Angegeben sind die jeweilige Regressionsgerade und das Bestimmtheitsmaß

Abkürzung: R Korrelationskoeffizient; SSW Schwangerschaftswoche; ZUW Zervikouteriner Winkel

In der Prädiktion der FG weist die ZL eine ROC-AUC von 0,68 (95 % KI 0,54-0,83, p=0,021) sowohl für die FG <34 SSW, als auch für die FG <37 SSW (95 % KI 0,57-0,78, p=0,003) auf (Abbildung 16).

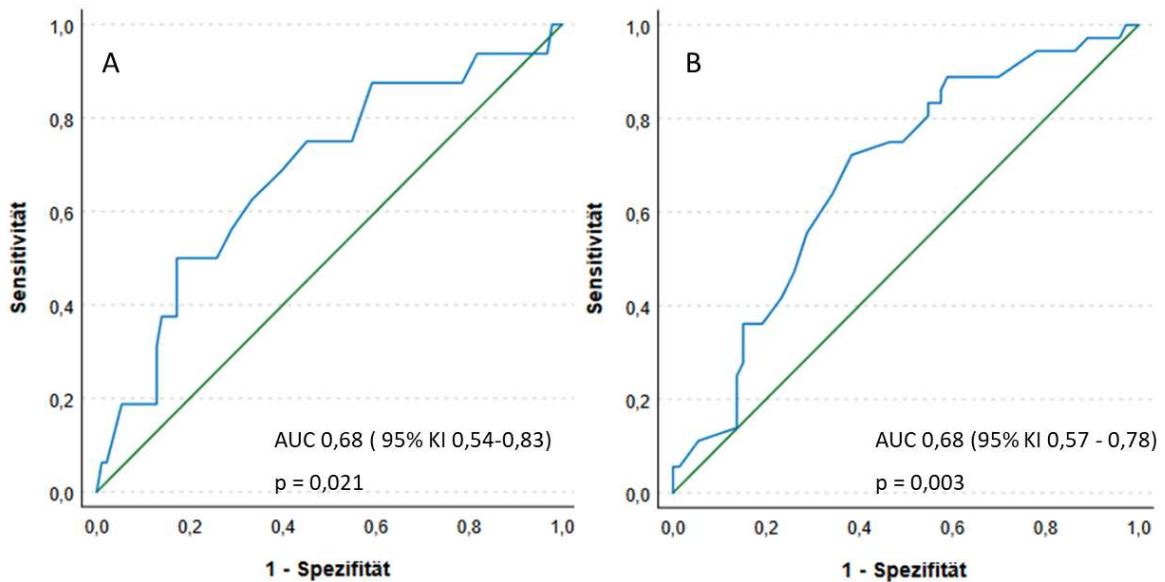


Abbildung 16: ROC-Analyse für die Zervixlänge bei FG <34 SSW (A) und FG <37 SSW (B)

Abkürzungen: AUC Area under the curve; FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; p Signifikanzwert, SSW Schwangerschaftswoche

Das Risiko einer FG <34 SSW lag bei einer ZL von ≤ 25 mm bei 20,0 % vs. 5,1 % bei einer ZL >25 mm ($p=0,047$). Für die Entbindung <34 SSW errechnet sich bei einem optimalem Cut-off von 14 mm Restzervix eine Sensitivität von 50 % bei einer Spezifität von 80 %. Die OR bei einem Cut-off von 14 mm für FG <34 SSW beträgt 3,9 (95 % KI 1,3-11,7, $p=0.016$). Nach Adjustierung für Mehrlinge und BMI betrug die aOR 4,7 (95 % KI 1,2-18,5, $p=0,027$).

Tabelle 15 gibt die Testgütekriterien für die ZL bei verschiedenen Cut-off-Werten für die Endpunkte FG <34 SSW und FG <37 SSW wieder. Die daraus resultierenden OR für Einlinge und Mehrlinge können aus Tabelle 16 entnommen werden.

Tabelle 15: Testgütekriterien für die Zervixlänge für die Prädiktion einer Frühgeburt am Gesamtkollektiv (n=109).

Studienziel	Cut-off Wert (\leq mm)	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	PPV [%]	NPV [%]	LR+	LR-	Odds Ratio (95 % KI)	p-Wert
Entbindung <34 SSW	14	50	80	30	90	2,4	0,6	3,9 (1,3-11,7)	0.016
	20	75	47	20	92	1,1	0,5	2,7 (0,8-9,0)	0.106
	25	88	40	20	95	1,5	0,3	4,6 (1,0-21,5)	0.051
Entbindung <37 SSW	14	36	81	48	72	1,9	0,8	2,4 (1,0-5,8)	0.057
	20	75	53	44	81	1,6	0,5	3,4 (1,4-8,3)	0.006
	25	83	45	43	85	1,5	0,4	4,1 (1,5-11,1)	0.005

Abkürzungen: LR Likelihood Ratio; NPV negativer Vorhersagewert; p Signifikanzwert; PPV positiver Vorhersagewert; KI Konfidenzintervall; SSW Schwangerschaftswoche

Tabelle 16: Odds Ratios für die Prädiktion der Frühgeburt <34 SSW bei verschiedenen Cut-off Werten für die Zervixlänge.

Risikofaktor	ZL	FG in exponierter Gruppe	FG in nicht exponierter Gruppe	Unadjustierte OR	Niedrigstes KI	Höchstes KI	p-Wert
Alle Patienten (n=109)	ZL ≤ 14 mm	29,6 %	9,8 %	3.9	1.3	11.7	0.016
	ZL ≤ 20 mm	19,7 %	8,3 %	2.7	0.8	9.0	0.106
Nur Einlinge (n= 95)	ZL ≤ 14 mm	21,7 %	4,2 %	6.4	1.4	29.3	0.017
	ZL ≤ 20 mm	11,8 %	4,5 %	2.8	0.5	14.6	0.223
Nur Mehrlinge (n=14)	ZL ≤ 14 mm	75,0 %	50,0 %	3.0	0.2	39.6	0.404
	ZL ≤ 20 mm	60,0 %	50,0 %	1.5	0.1	15.5	0.733

Abkürzungen: FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; OR Odds Ratio; p Signifikanzwert; ZL Zervixlänge

3.4.2.2 Zervikouteriner Winkel

Der ZUW konnte bei 84 % der Studiengruppe bestimmt werden ($n=92/109$). Bei 17 Probandinnen konnte keine Messung aufgrund einer verstrichenen Zervix bzw. unzureichender Darstellung des vorderen Uterinsegments erfolgen. Der Mittelwert (\pm Standardabweichung) im Gesamtkollektiv betrug $103,2 \pm 19,7^\circ$. Zwischen Einlingsgravida und Mehrlingsgravida zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Mittelwert des ZUW ($103,5 \pm 20,1^\circ$ vs. $101,6 \pm 17,7^\circ$, $p=0,751$) (Abbildung 17). Der ZUW korrelierte weder mit dem GA zum Aufnahmezeitpunkt ($r=-0,01$, $p=0,924$) noch mit dem Geburtszeitpunkt ($r=-0,07$, $p=0,508$). Eine leicht positive Korrelation zeigte sich zwischen ZUW und prägravidem BMI ($r=0,23$, $p=0,03$). Aus der ROC-Analyse resultierte für die FG <34 SSW eine AUC von 0,49 (95 % KI 0,31-0,67, $p=0,929$) vs. FG <37 SSW eine AUC von 0,52 (95 % KI 0,39-0,64, $p=0,793$) (Abbildung 18). Somit ist der ZUW sowohl bei Ein- als auch bei Mehrlingen nicht prädiktiv für die Vorhersage einer FG.

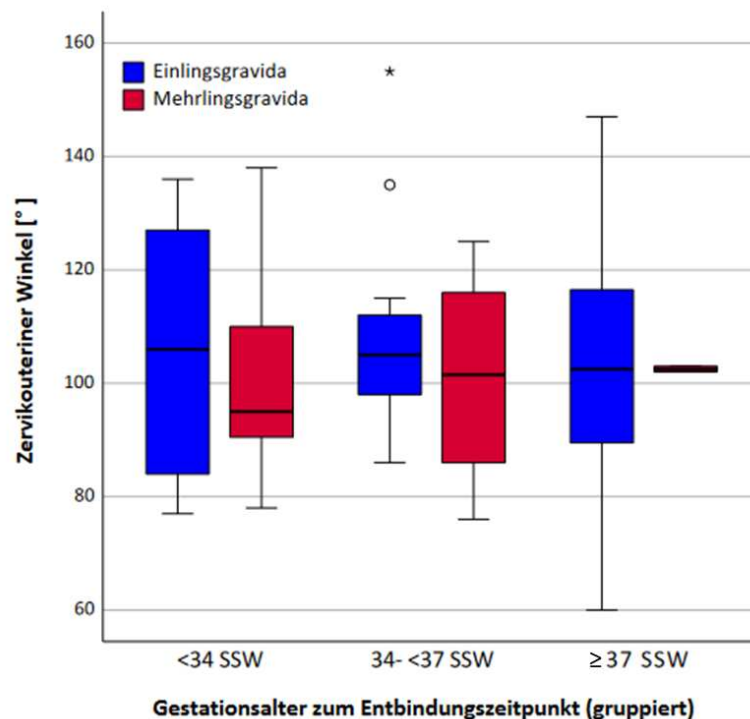


Abbildung 17: Gruppierter Boxplotdarstellung mit Darstellung des Zusammenhangs zwischen zervikouterinen Winkel und Gestationsalter zum Entbindungszeitpunkt für Einlinge (blau, $n=95$) und Mehrlinge (rot, $n=14$)

Abkürzung: SSW Schwangerschaftswoche

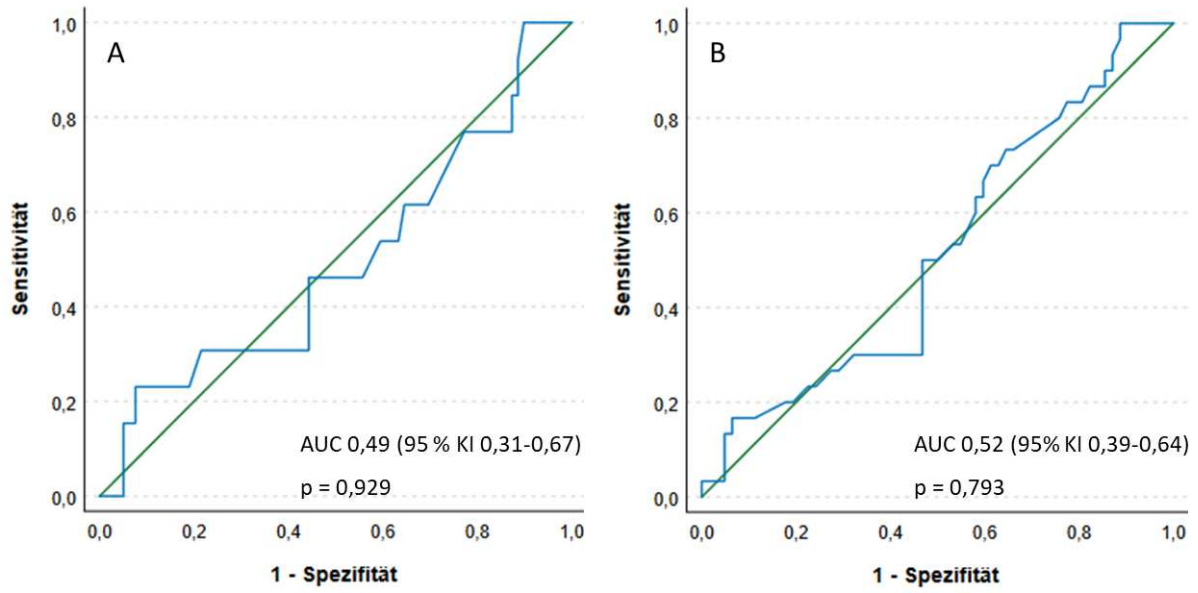


Abbildung 18: ROC-Analyse für den zervikouterinen Winkel in der Prädiktion der FG <34 SSW (A) und FG <37 SSW (B)

Abkürzungen: AUC Area under the curve; FG Frühgeburt; p Signifikanzwert, KI Konfidenzintervall; SSW Schwangerschaftswoche

3.4.3 Biomarker Desmoplakin, Stratifin und Thrombospondin-1 im Zervikovaginalsekret

3.4.3.1 Desmoplakin

Die ELISA-Testungen des ZVS für den Biomarker Desmoplakin wurden an 40 Probandinnen (36,7 %) des Gesamtstudienkollektivs durchgeführt (Entbindung <34 SSW: n=12, Entbindung 34-<37 SSW: n=15, Entbindung ≥37 SSW: n=13). Abbildung 19 stellt die gemessenen Desmoplakinkonzentrationen in ng/ml in Boxplotdarstellung in den einzelnen Subgruppen dar:

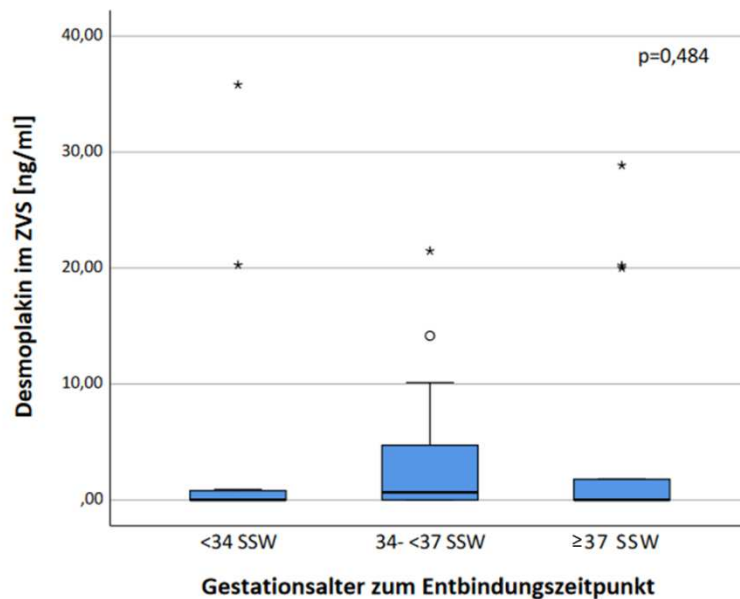


Abbildung 19: Boxplotdarstellung der Desmoplakinkonzentration im Zervikovaginalsekret (ZVS) in ng/ml, gemessen mittels ELISA, in den unterschiedlichen Entbindungsgruppen. Die Konzentrationsmessung von Desmoplakin beschränkte sich auf 40 von 109 Probandinnen (36,7 %): Entbindung <34 SSW n=12, 34 - <37 SSW n=15 und ≥37 SSW n=13. Die p-Wert Berechnung erfolgte nach Kruskal-Wallis-Test.

Abkürzungen: p Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche; ZVS Zervikovaginalsekret

Anhand dieser Abbildung ist zu erkennen, dass Desmoplakin im Median nicht oder nur minimal im ZVS detektierbar war. Folglich ergibt sich ein statistisch nicht signifikantes Ergebnis im Gruppenvergleich ($p=0,484$ nach Kruskal-Wallis-Test). Die genaue deskriptive Statistik ist Tabelle 17 zu entnehmen.

Tabelle 17: Deskriptive Statistik der Desmoplakinkonzentration im Zervikovaginalsekret in ng/ml nach Entbindungsgruppen

		Alle Proben (n=40)	Entbindung <34 SSW (n=12)	Entbindung 34-<37 SSW (n=15)	Entbindung ≥37 SSW (n=13)
Desmoplakin- konzentra- tion [ng/ml]	Mittelwert ± SD	4,7 ± 9,2	4,8 ± 11,3	3,9 ± 6,5	5,5 ± 10,2
	Median (IQB)	0,2 (0-2,8)	0,0 (0-0,85)	0,7 (0-6,3)	0,0 (0-10,9)
	25.-75. Perzentile	0-2,8	0-0,85	0-6,3	0-10,9
	Minimum-Maximum	0-35,8	0-35,8	0-21,5	0-28,9

Abkürzungen: IQB Interquartilbereich; SSW Schwangerschaftswochen

Konsekutiv spiegelt sich dieses Bild auch für die FG <34 SSW bzw. <37 SSW in der Boxplotdarstellung wieder (Abbildung 20).

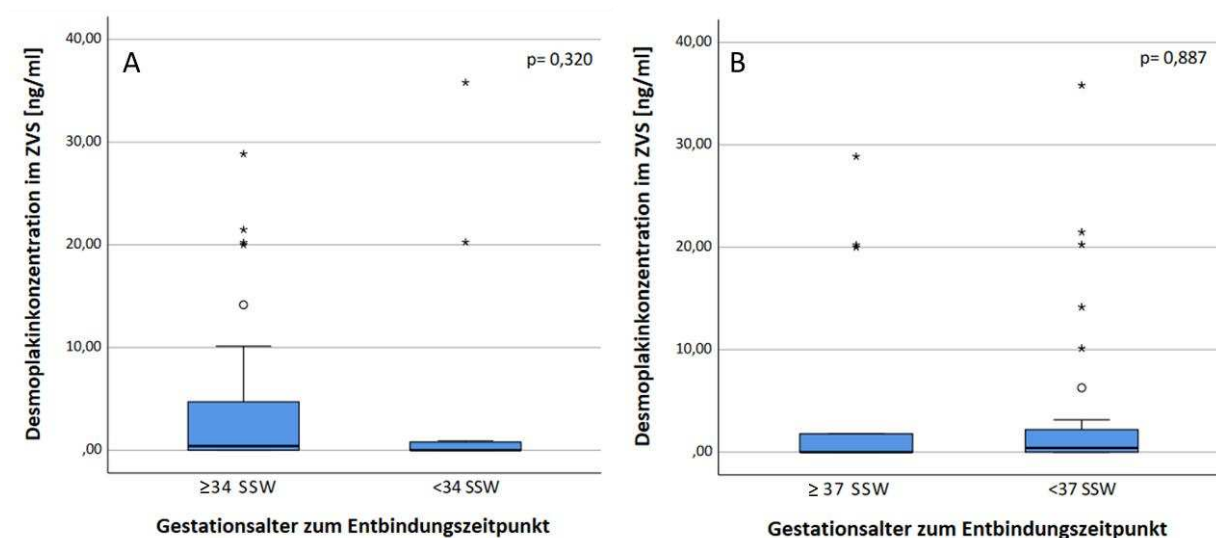


Abbildung 20: Boxplotanalysen der Desmoplakinkonzentration im Zervikovaginalsekret (ZVS) in ng/ml, gemessen mittels ELISA, bei Entbindung <34 SSW (Entbindung <34 SSW n=12, ≥34 SSW n=28) (A) und Entbindung <37 SSW (Entbindung <37 SSW n=27 vs. ≥37 SSW n=13) (B). Die p-Wert-Berechnung erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test.

Abkürzungen: p Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche, ZVS Zervikovaginalsekret

In der ROC-Analyse resultierte für die FG <34 SSW eine AUC von 0,41 (95 % KI: 0,2-0,61). Bei einem optimalen Cutoff von 0,68 ng/ml betrug die Sensitivität 33 % und die Spezifität 57 %. Die Ergebnisse sind statistisch nicht signifikant (p=0,578). Gleiches gilt für die Ergebnisse einer FG <37 SSW. Bei einem optimalen Cutoff von 0,41 ng/ml ergab sich eine AUC von 0,51 (95 % KI: 0,32-0,71) mit einer Sensitivität von 48 % und Spezifität von 61 % (p=0,569) (Abbildung 21, Tabelle 18).

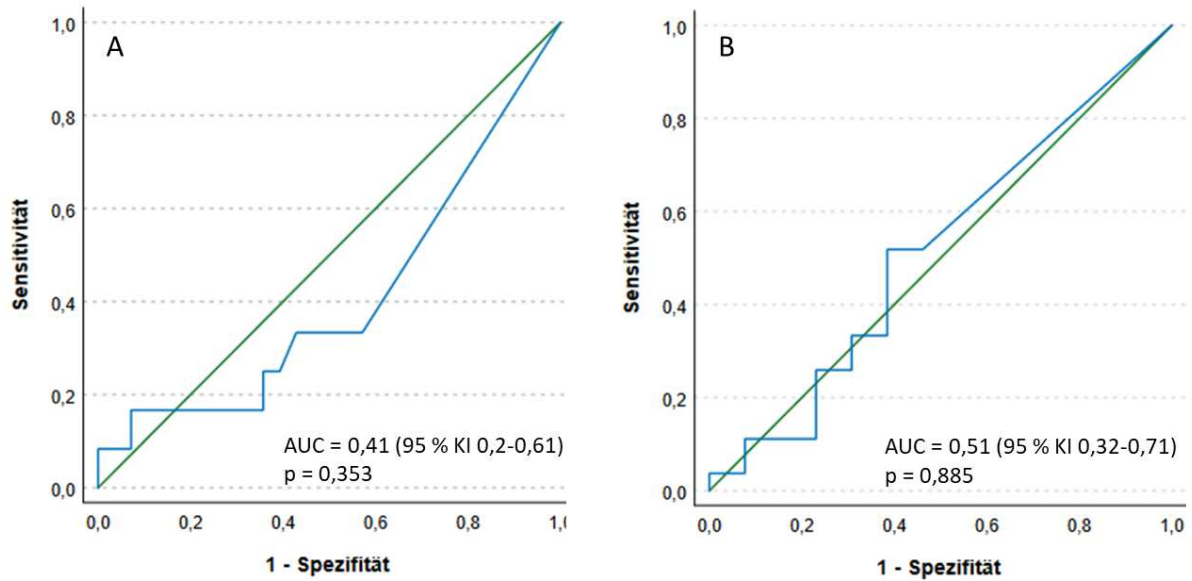


Abbildung 21: ROC-Analyse von Desmoplakin im Zervikovaginalsekret für die Prädiktion der FG <34 SSW (A) und FG <37 SSW (B)

Abkürzungen: AUC Area under the curve; FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; p Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche

Tabelle 18: Testcharakteristika von Desmoplakin für die Prädiktion einer Frühgeburt

Entbindungs- gruppen	ROC- AUC	Opt. Cut-off [pg/ml]	Sensi- tativität [%]	Spezi- fität [%]	PPV [%]	NPV [%]	Genauig- keit	LR+	LR-	OR	95% KI	p-Wert
FG <34 SSW	0,41	0,68	33	57	25	67	0,5	0,78	1,2	1,33	0,5-3,7	0,578
FG <37 SSW	0,51	0,41	48	61	72	36	0,53	1,3	0,8	0,88	0,6-1,4	0,569

Abkürzungen: FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; NPV negativer Vorhersagewert; PPV positiver Vorhersagewert; LR Likelihood Ratio, ROC-AUC receiver operating characteristic-Area under the curve; SSW Schwangerschaftswoche

Die Ergebnisse zeigen, dass der Biomarker Desmoplakin für die Vorhersage einer FG an dieser Studiengruppe nicht prädiktiv erscheint. Folglich wurden nach Auswertung dieses Zwischenergebnisses keine weiteren Analysen durchgeführt.

3.4.3.2 Stratifin

Die ELISA-Testungen für den Biomarker Stratifin wurden am Gesamtkollektiv durchgeführt (n=109). Auch hier zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Stratifinkonzentrationen im ZVS in den einzelnen Subgruppen ($p > 0,05$) (Abbildung 22, Abbildung 23, Tabelle 19).

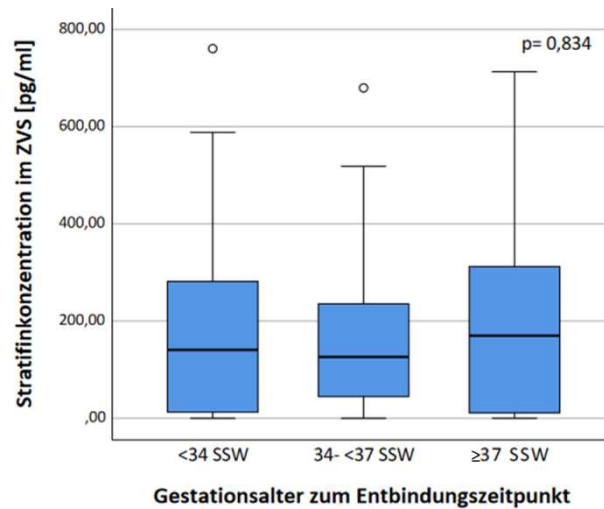


Abbildung 22: Boxplotdarstellung der Stratifinkonzentration im ZVS in pg/ml, gemessen mittels ELISA, in den unterschiedlichen Entbindungsgruppen nach Gestationsalter am gesamten Studienkollektiv (n=109): Entbindung <34 SSW n=16, 34 - <37 SSW n=20 und ≥37 SSW n=73. Die Berechnung des p-Wertes erfolgte mittels Kruskal-Wallis-Test.

Abkürzungen: FG Frühgeburt; p Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche, ZVS Zervikovaginalsekret

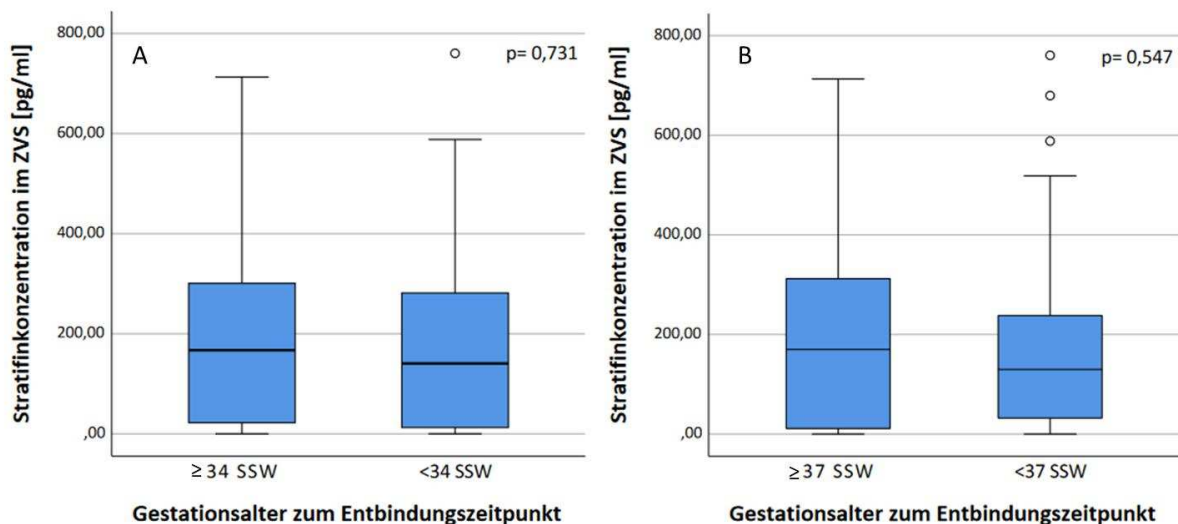


Abbildung 23: Boxplotdarstellung der Stratifinkonzentration im ZVS in pg/ml, gemessen mittels ELISA, am gesamten Studienkollektiv (n=109) für FG <34 SSW (Entbindung <34 SSW n=16 vs. ≥34 SSW n=93) (A) und FG <37 SSW (Entbindung <37 SSW n=36 vs. ≥37 SSW n=73) (B). Die p-Wert-Berechnung erfolgte mittels U-Test nach Mann/Whitney.

Abkürzungen: FG Frühgeburt; p Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche, ZVS Zervikovaginalsekret

Tabelle 19 Deskriptive Statistik der Stratifinkonzentration im Zervikovaginalsekret nach Entbindungsgruppen

		Alle Proben (n=109)	Entbindung <34 SSW (n=16)	Entbindung 34- <37 SSW (n=20)	Entbindung ≥37 SSW (n=73)
Stratifin- konzentration [pg/ml]	Mittelwert ± SD	192,7±188,2	193,0±225,6	175,0±180,5	197,5±183,9
	Median	156,0	140,6	126,1	169,9
	25.-75. Perzentile	18,0-306,4	6,2-318,0	41,8-251,4	8,3-311,9
	Minimum-Maximum	0-760,4	0-760,4	0-679,6	0-713,0

Abkürzungen: SD Standardabweichung, SSW Schwangerschaftswochen

Für das primäre Studienziel FG <34 SSW konnte keine statistisch signifikante Differenzierung für die Vorhersage einer FG festgestellt werden ($p=0,731$ nach U-Test). Die ROC-Analyse erbrachte eine AUC von 0,473 (95 % KI 0,314–0,632) (Abbildung 24). Bei einem optimalen Cut-off von 126,1 pg/ml ergab sich dabei eine Sensitivität von 56 % und Spezifität von 42 % (Tabelle 20). Ähnliche Werte resultieren auch aus der Analyse zum sekundären Studienziel der FG <37 SSW ($p=0,547$ nach U-Test) mit einer AUC von 0,465 (95 % KI 0,350–0,579) (Abbildung 24). Bei einem optimalen Cut-Off von 178,4 pg/ml ergibt sich hierbei eine Sensitivität von 42 % und eine Spezifität von 52 % (Tabelle 20).

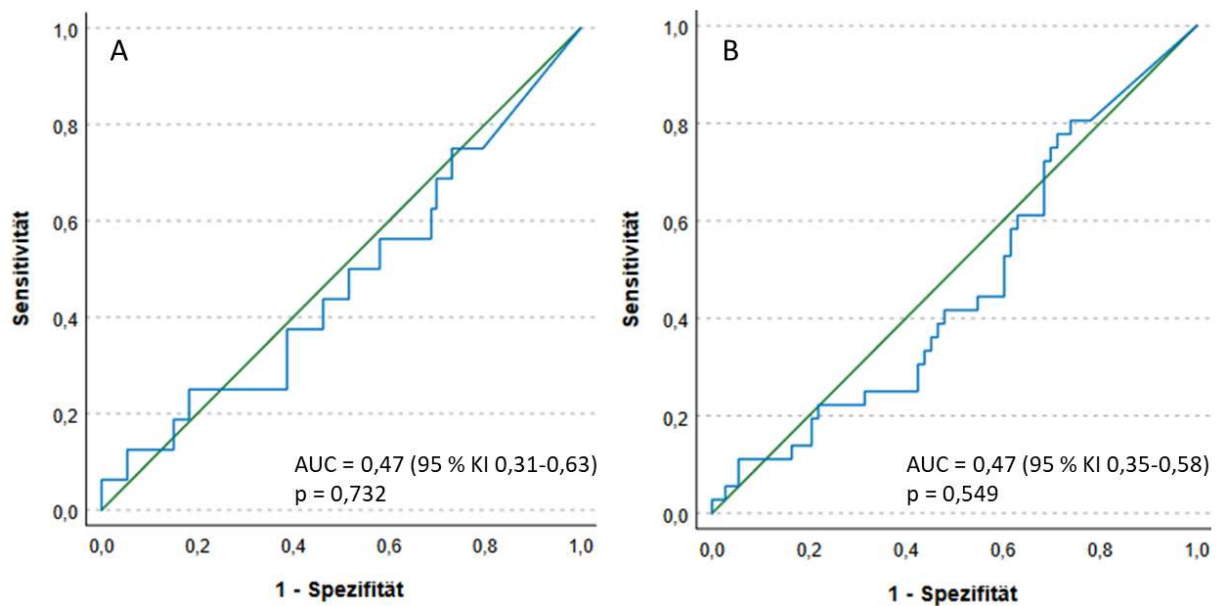


Abbildung 24: ROC-Analyse für Stratifin im Zervikovaginalsekret für die Prädiktion der FG <34 SSW (A) und FG <37 SSW (B)

Abkürzungen: AUC Area under the curve; FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; p Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche

Tabelle 20: Testcharakteristika von Stratifin im Zervikovaginalsekret für die Prädiktion einer Frühgeburt

	ROC-AUC	Opt. Cut-off [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	PPV [%]	NPV [%]	Gesamtgenauigkeit	LR+	LR-	OR	95 % KI	p-Wert
FG <34 SSW	0,473	126,1	56	42	14	85	0,44	0,97	1,04	1,065	0,43-2,65	0,89
FG <37 SSW	0,465	178,4	42	52	3	64	0,48	0,87	1,12	1,186	0,69-2,05	0,54

Abkürzungen: FG Frühgeburt; KI Konfidenzintervall; NPV negativer Vorhersagewert; OR Odds Ratio; PPV positiver Vorhersagewert; LR Likelihood Ratio, ROC-AUC receiver operating characteristic- Area under the curve

3.4.3.3 Thrombospondin-1

Die mediane Konzentration von THBS-1 im ZVS war bei Frauen mit FG signifikant erhöht (Abbildung 25 A). Bei FG <34 SSW betrug diese 4.904 pg/ml (IQB 2.617-9.236) vs. Entbindung >34 SSW 469 pg/ml (IQB 152-1.770), $p < 0,0001$. Ebenso waren die medianen Konzentrationen für Entbindungen <37 SSW vs. ≥ 37 SSW statistisch signifikant different mit 2.633 pg/ml (IQB 925-7.058) vs. 314 pg/ml (IQB 141-1.077), $p < 0,001$. Betrachtet man selektiv das GA zum Entbindungszeitpunkt von Einlings- und Mehrlingsschwangerschaften so zeigt sich, dass die THBS-1-Werte unabhängig von dieser Einflussgröße waren ($p=0,457$) (Abbildung 25 B, Abbildung 26).

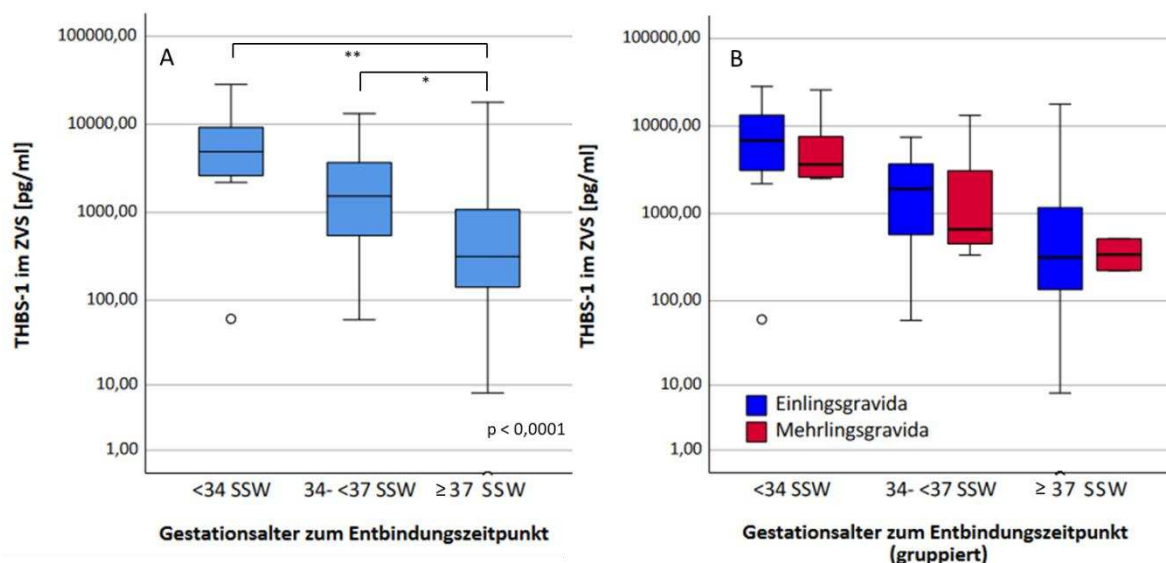


Abbildung 25: Boxplot der Thrombospondin-1-Konzentration [pg/ml] im ZVS, gemessen mittels ELISA, gruppiert nach Gestationsalter zum Entbindungszeitpunkt für das gesamte Studienkollektiv (n=109): Entbindung <34 SWS n=16, 34 - <37 SWS n=20 und ≥ 37 SWS n=73 (A) sowie gruppiert nach Einlings- (blau, n=95) und Mehrlingsgravidia (rot, n=14) (B). Die p-Wert Berechnung erfolgte nach Kruskal-Wallis-Test ($p < 0,0001$). Die Post-Hoc Analyse (Dunn-Bonferroni) zeigte signifikante Unterschiede zwischen <34 SSW und ≥ 37 SSW (adjustiert $p < 0,0001 = **$) und zwischen 34 bis <37 SSW und ≥ 37 SSW (adjustiert $p = 0,013 = *$)

Abkürzungen: ELISA Enzyme-linked Immunosorbent Assay; p Signifikanzwert; SSW Schwangerschaftswoche; THBS-1 Thrombospondin-1; ZVS Zervikovaginalsekret

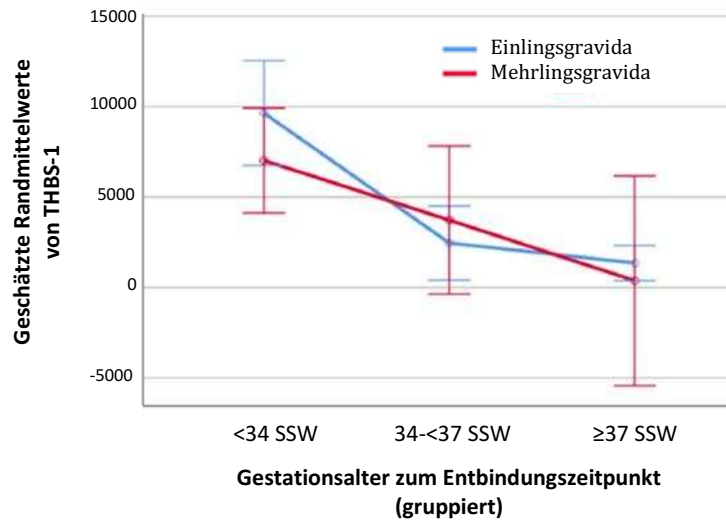


Abbildung 26: Profildiagramm der geschätzten Randmittelwerte für THBS-1 im ZVS, gemessen mittels ELISA, für Einlings- (blau, n=95) und Mehrlingsgravidia (rot, n=14). Die relativen Mittelwerte sind für alle Gruppen des jeweiligen Gestationsalters bei der Geburt gleich. Somit liegt keine Interaktion zwischen Einlings-/Mehrlingsgravidität und dem Gestationsalter bei Geburt vor.

Abkürzungen: ELISA Enzyme-linked Immunosorbent Assay; SSW Schwangerschaftswoche; THBS-1 Thrombospondin-1; ZVS Zervikovaginalsekret

Die ROC-AUCs von THBS-1 für die Prädiktion der FG <34 SSW, <37 SSW und innerhalb der nächsten sieben Tage betragen 0,86 (95 % KI 0,75-0,96, $p < 0,0001$), 0,80 (95 % KI 0,71-0,88, $p < 0,0001$) und 0,89 (95 % KI 0,80-0,98, $p = 0,001$) (Abbildung 27, Tabelle 21).

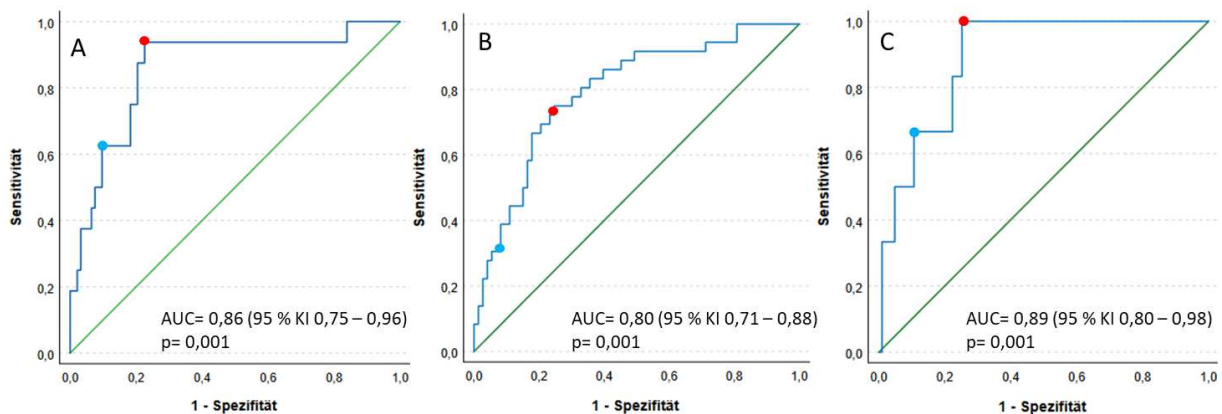


Abbildung 27: ROC-Kurven für die Prädiktion der spontanen Frühgeburt mittels THBS-1 im ZVS für Entbindung <34 SSW (A), <37 SSW (B) und innerhalb von sieben Tagen nach Studienaufnahme (C). Roter Punkt: optimaler Cut-off (minimale Distanz zwischen Sensitivität und Spezifität von 1); Blauer Punkt: diagnostischer Cut-off (fixe Spezifität von 0,9)

Abkürzungen: AUC Area under the curve; KI Konfidenzintervall; p Signifikanzwert

Tabelle 21: Cut-off Werte für THBS-1 für die Prädiktion der Frühgeburt

Endpunkt	Cut-off-Zweck	Cut-off Wert [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	LR +	LR -
Entbindung innerhalb von 7 d	optimal	2.519	100	75	4,0	0,0
Entbindung <34 SSW	optimal	2.163	94	77	4,2	0,1
Entbindung <37 SSW	optimal	1.103	75	75	3,0	0,3
Entbindung innerhalb von 7 d	diagnostisch	4.847	67	88	5,7	0,4
Entbindung <34 SSW	diagnostisch	4.420	63	90	6,5	0,4
Entbindung <37 SSW	diagnostisch	4.163	39	90	4,1	0,7

Abkürzungen: LR Likelihood-Ratio, SSW Schwangerschaftswochen

Die Berechnung der Cut-off-Werte für die Entbindung <34 SSW ergaben für den optimalen Cut-off 2.163 pg/ml und für den diagnostischen Cut-Off-Wert 4.420 pg/ml (Tabelle 21). Diese Cut-off-Werte wurden auch für die Endpunkte Entbindung <37 SSW und Entbindung innerhalb von sieben Tagen verwendet (Tabelle 22).

Tabelle 22: Testcharakteristik von Thrombospondin-1 zur Prädiktion der Frühgeburt mittels zwei verschiedener Cut-off-Werte

Endpunkt	Cut-off Wert [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	PPV [%]	NPV [%]	LR+	LR-	Odds Ratio (95 % KI)
Testcharakteristik bei optimalem Cut-off (minimale Distanz zwischen Sensitivität und 1-Spezifität)								
Entbindung <34 SSW	2.163	94	77	42	99	4,2	0,1	51,4 (6,4-412,4)
Entbindung <37 SSW	2.163	64	82	64	82	3,6	0,4	8,2 (3,3-20,2)
Entbindung innerhalb von 7 d	2.163	100	71	17	100	3,4	0,0	n.a.
Testcharakteristik bei diagnostischem Cut-off (Spezifität 0,9)								
Entbindung <34 SSW	4.420	63	90	53	93	6,5	0,4	15,6 (4,6-52,9)
Entbindung <37 SSW	4.420	36	92	68	74	4,4	0,7	6,3 (2,2-18,5)
Entbindung innerhalb von 7 d	4.420	67	85	21	98	4,6	0,4	11,7 (2,0-69,8)

Abkürzungen: KI Konfidenzintervall; NPV negativer Vorhersagewert; PPV positiver Vorhersagewert; LR Likelihood Ratio

Der optimale Cut-off-Wert war bei 33,0 % aller Frauen (n=36/109) positiv. Dabei hatten 41,7 % (n=15/36; KI 0,26-0,58) eine FG <34 SSW. Der diagnostische Cut-off war bei 17,4 % (n=19/109) positiv und 52,6 % (n=10/19; 95 % KI 0,30-0,75) hatten eine FG <34 SSW. Dies führt zu einem positiven Wahrscheinlichkeitsverhältnis von 6,5 (95 % KI 3,1-13,4) bei einem entsprechenden negativen Wahrscheinlichkeitsverhältnis von 0,4 (95 % KI 0,2-0,8). Ein negatives Testergebnis verringerte die Wahrscheinlichkeit einer FG <34 SSW von 14,7 % auf 7 % für den diagnostischen Cut-Off-Wert und auf 1,0 % für den optimalen Cut-Off-Wert.

Die entsprechenden nicht adjustierten ORs betragen 51,4 (95 % KI 6,4-412, p<0,001) für den optimalen und 15,6 (95 % KI 4,6-52,9, p<0,001) für den diagnostischen Cut-Off-Wert.

Mittels logistischer Regressionsanalyse wurde nachfolgend geprüft, ob THBS-1 ein unabhängiger Risikofaktor für die FG <34 SSW ist. In die Analyse wurden alle in Tabelle 13 aufgeführten Risikofaktoren und zusätzlich noch eine ZL <20 mm miteinbezogen. Die Analyse erfolgte getrennt für beide Cut-off-Werte.

Die Anwendung von reproduktionsmedizinischen Maßnahmen (ART) zeigte eine starke Multikollinearität mit Mehrlingsschwangerschaften und wurde daher aus der Analyse ausgeschlossen. Beide Regressionsmodelle wurden durch den Einschluss von Mehrlingsgravidität und vorgereiftem Muttermund verbessert (Abbildung 28). Der Risikofaktor FG in der Eigenanamnese verbesserte das Vorhersagemodell bei Betrachtung des optimalen Cut-off-Wertes von THBS-1, der Faktor Konisation das Vorhersagemodell bei Betrachtung des diagnostischen Cut-off-Wertes von THBS-1 (Abbildung 28). Die verbleibenden potenziellen konfundierenden Faktoren Übergewicht (BMI >30), Rauchen, Ureaplasmeninfektion, vag. Dysbiose, positives Tokogramm, subjektive Wehentätigkeit, maternales Alter >34 Jahre, Nachweis einer bakteriellen Vaginose und ZL <20 mm verbesserten das Regressionsmodell nicht und wurden daher aus der Analyse entfernt. Auch nach Adjustierung blieb THBS-1 ein signifikanter, unabhängiger Prädiktor für das Auftreten einer FG <34 SSW mit einer adjustierten Odds Ratio (aOR) von 36,3 (95 % KI 3,8-348, p=0,002) für den optimalen Cut-off und einen aOR von 16,2 (95 % KI 2,9-91,6, p=0,002) für den diagnostischen Cut-off-Wert.

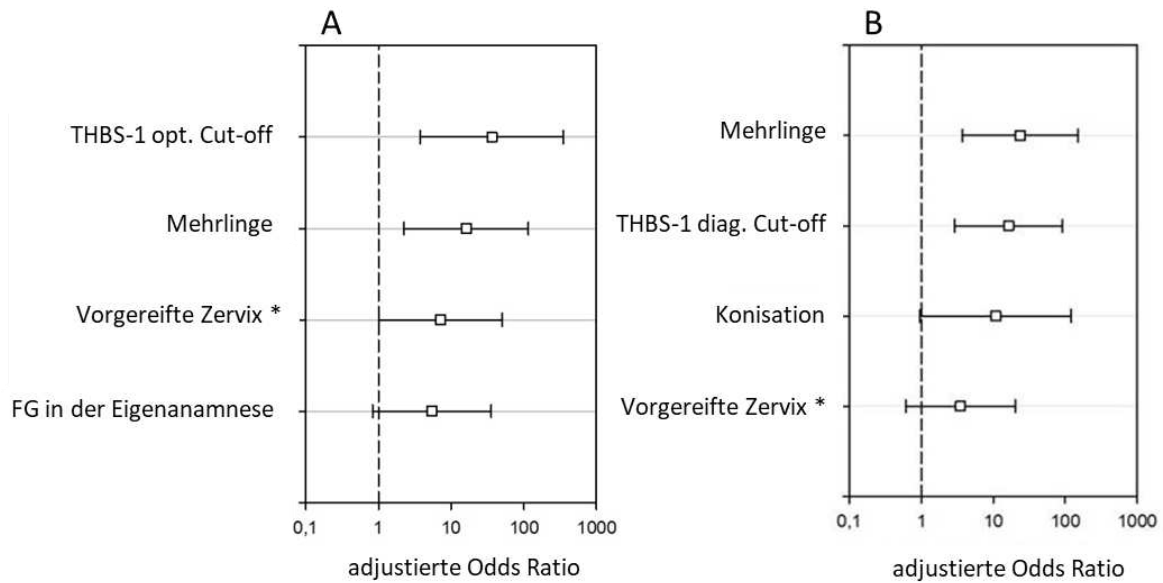
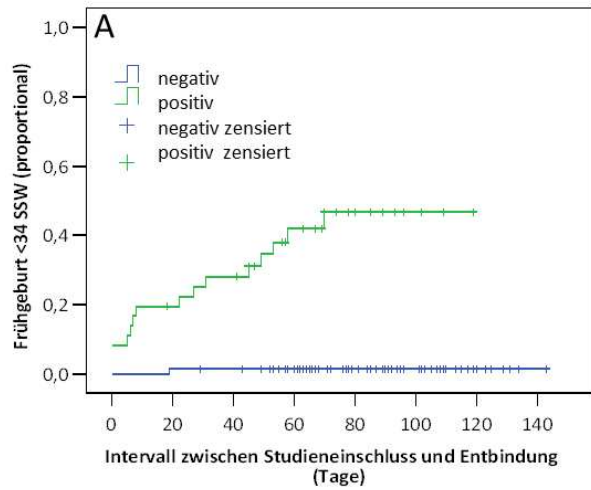


Abbildung 28: Ergebnisse der multiplen logistischen Regression: Ergebnisse bei Verwendung des optimalen Cut-off-Wertes von THBS-1 von 2.163 pg/ml (A) und Ergebnisse bei Verwendung des diagnostischen Cut-off-Wertes von 4.420 pg/ml (B). Faktoren, die das Modell nicht verbesserten wurden entfernt. Beschriftet sind die adjustierten Odds-Ratio (Box) mit 95 % Konfidenzintervall (Balken). *palpatorischer Befund unter Verwendung des Westin-Sores

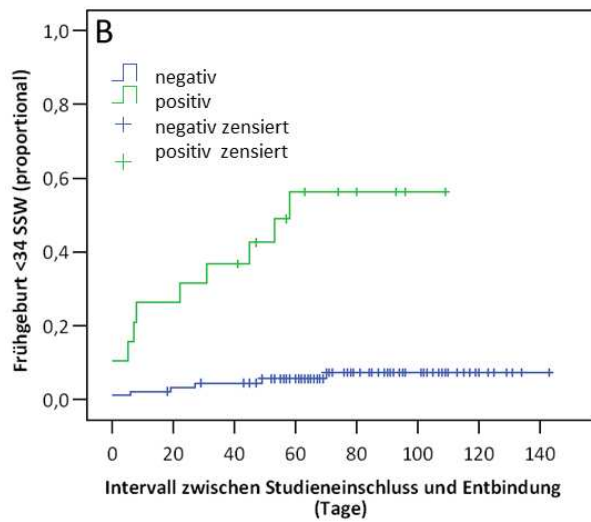
Abkürzungen: FG Frühgeburt; THBS-1 Thrombospondin-1

Nur sechs Frauen (5,5 %) wurden innerhalb von sieben Tagen nach Studieneinschluss entbunden. Die Überlebenszeitanalyse zeigte hierbei, dass THBS-1 über diesen Zeitraum hinaus, nämlich von mehr als acht Wochen, eine Prädiktion des Frühgeburtenrisikos ermöglichte (Abbildung 29). Das Intervall, in dem 50 % der testpositiven Frauen (diagnostischer Cut-off) unter 34 SSW entbunden wurden, lag bei 58 Tagen (8,3 Wochen).



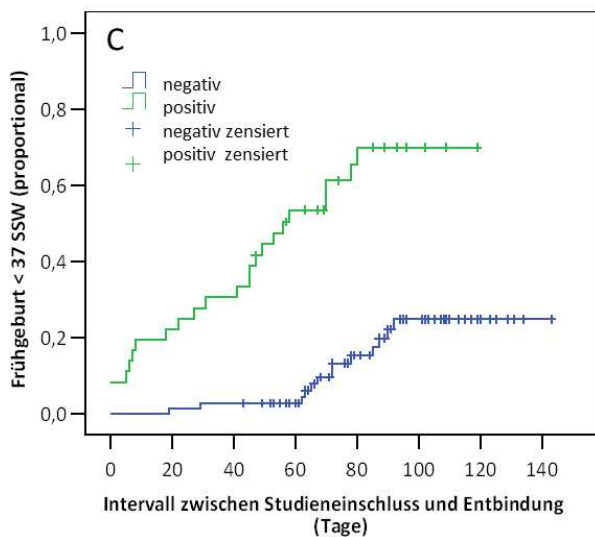
Optimaler Cut-off für THBS-1 bei FG <math><34\text{ SSW}</math>

Gruppen	Fälle (n)	FG (n)	Zensiert (n)	Mittl. SS-Dauer d (95 % KI)	p-Wert (log rank)
THBS-1 positiv	36	15	21 (58,3 %)	77 (61-93)	<math><0,001</math>
THBS-1 negativ	73	1	72 (98,6 %)	141 (138-145)	



Diagnostischer Cut-off für THBS-1 bei FG <math><34\text{ SSW}</math>

Gruppen	Fälle (n)	FG (n)	Zensiert (n)	Mittl. SS-Dauer d (95 % KI)*	p-Wert (log rank)
THBS-1 positiv	19	10	9 (47,4 %)	62 (41-82)	<math><0,001</math>
THBS-1 negativ	90	6	84 (93,3 %)	135 (129-141)	



Optimaler Cut-off für THBS-1 bei FG <math><37\text{ SSW}</math>

Gruppen	Fälle (n)	FG (n)	Zensiert (n)	Mittl. SS-Dauer d (95 % KI)*	p-Wert (log rank)
THBS-1 positiv	36	23	13 (36,1 %)	77 (61-93)	<math><0,001</math>
THBS-1 negativ	73	13	60 (82,2 %)	141 (138-145)	

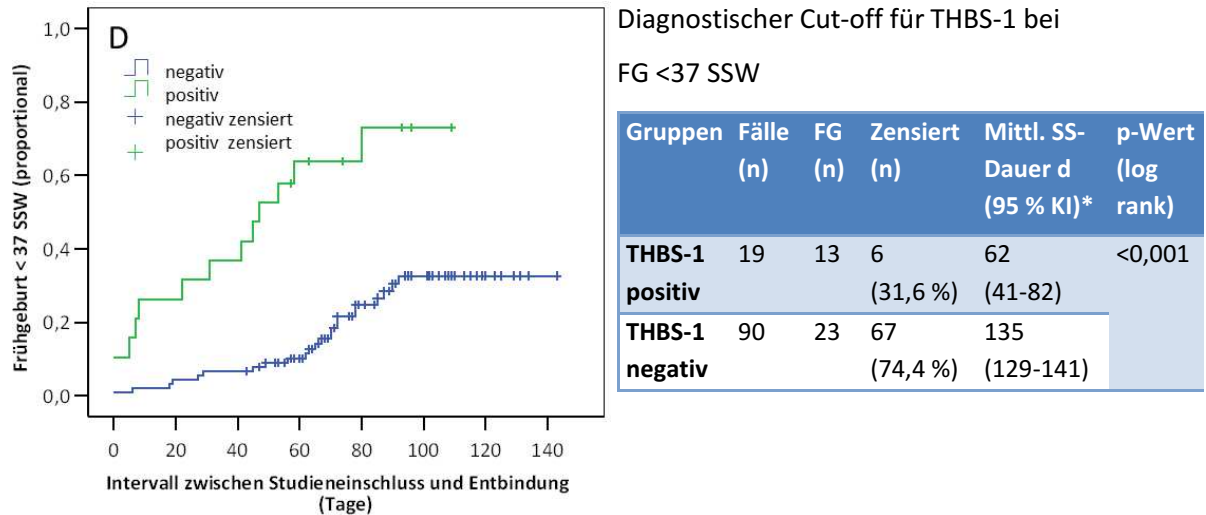


Abbildung 29: Kaplan-Meier Kurve mit Darstellung des Risikos für eine FG <34 SSW (A, B) und FG <37 SSW (C, D) bei Verwendung des optimalen THBS-1 Cut-off-Wertes von 2.163 pg/ml (A, C) und diagnostischen Cut-off-Wertes von 4.420 pg/ml (B, D). Patientinnen, welche ≥ 34 SSW (A, B) bzw. ≥ 37 SSW (C, D) entbanden, wurden zensiert (dargestellt mittels Balken). Die oberen Kurven zeigen testpositive Patientinnen, bei denen das Risiko für eine Entbindung <34 SSW fast linear über einen Zeitraum von mehr als 8 Wochen nach Studienaufnahme ansteigt (A, B).

Abkürzungen: FG Frühgeburt; p-Wert Signifikanzwert; SS-Dauer Schwangerschaftsdauer; SSW Schwangerschaftswoche; THBS-1 Thrombospondin-1

4 Diskussion

4.1 Maternale und mikrobiologische Risikofaktoren

Tabelle 1 zeigt bekannte maternale und mikrobiologische Risikofaktoren für eine FG. Im Ergebnisteil Kapitel 3.4.1 wurden einige dieser Risikofaktoren am vorliegenden Risikokollektiv analysiert. Die Berechnung der Odds-Ratio ergab, dass nicht alle aufgeführten Risikofaktoren an diesem Studienkollektiv mit einer Erhöhung der Frühgeburtlichkeit einhergingen (Odds-Ratio <1). Für die FG <34 SSW betrifft dies die bakterielle Vaginose, für die FG <37 SSW das maternale Alter >34 Jahre bzw. <22 Jahre und die vaginale Dysbiose. Hinsichtlich des Risikofaktors Alter ist in der Literatur ein U-förmiger Zusammenhang mit dem Frühgeburtsrisiko beschrieben [140–142]. Ein Alter >35 Jahre ist ein unabhängiger Risikofaktor v. a. für sehr frühe FG im Vgl. zu moderaten FG [140, 143]. Bei Vorliegen weiterer Risikofaktoren, wie vorausgegangener FG, Abort oder extrauteriner Schwangerschaft, steigt die Gefahr für eine FG weiter. Für die FG <34 SSW konnte dieser Zusammenhang ebenso gezeigt werden. Statistisch signifikante Risikofaktoren sind ART (OR FG <34 SSW 17,1; FG <37 SSW 11,7), Mehrlingsgravida (OR 14,5 vs. 17,8) sowie für die FG <34 SSW ein BMI ≥ 30 kg/m² (OR 4,3). Diese Faktoren sind als Risikofaktoren hinlänglich bekannt und konnten an der vorliegenden Studie bestätigt werden [1, 64, 144–146]. Bei Mehrlingsschwangerschaften ist die FG vordergründig durch die Überdehnung des Uterus und der konsekutiven vorzeitigen Cervixverkürzung bedingt [67]. Zudem ist zu bedenken, dass die Schwangerschaftsdauer bereits bei einer Geminigravidität im Vergleich zu einer Einlingsgravidität physiologisch verkürzt ist (37-39 SSW vs. 39-41 SSW) [147]. Hinsichtlich der IVF-Anwendung wird der Transfer von maximal zwei Embryonen empfohlen, um das Frühgeburtsrisiko iatrogen nicht weiter zu steigern [65]. ART und Mehrlingsgravida zeigen auch am vorliegenden Studienkollektiv in der multiplen Varianzanalyse einen starken Zusammenhang, da 57,1% (n=8/14) der Mehrlinge aus einer Kinderwunschtherapie resultierten.

4.2 Klinische Prädiktoren der Frühgeburt

Eine vorzeitige Wehentätigkeit ist der Hauptgrund für eine stationäre präpartale Krankenhausaufnahme [148]. Die prädiktive Vorhersagekraft dieses Parameters ist schlecht. Etwa 50 % der Schwangeren mit vorzeitigen Wehen entbinden in Terminnähe [149–151]. Bei weniger als 10 % dieser Schwangeren kommt es innerhalb von sieben Tagen zu einer Geburt [151]. Diese Erkenntnisse spiegeln sich auch am vorliegenden Studienkollektiv wieder. 68 von 109 Probandinnen (62,4 %) gaben das Gefühl von subjektiver Wehentätigkeit an. Die Vorhersagekraft ist für die FG <34 SSW mit 14,7 % (n=10/68), für die FG <37 SSW mit 27,9 % (n=19/68) und für die Entbindung

innerhalb von 7 Tagen mit 5,9 % (n=4/68) unzureichend. Auch bei Einschluss der Probanden mit zusätzlicher Angabe von Druck in Scheide und Rücken war die prädiktive Vorhersagekraft zu gering (FG <34 SSW 15,1 % (n=13/86), FG <37 SSW 32,6 % (n=28/86), Entbindung innerhalb von 7 Tagen 5,8 % (n=5/86)). Eine Begründung könnte darin bestehen, dass die beklagten Schmerzen, häufig in Form von Rückenschmerzen oder vaginalem Druck, sehr unspezifisch sind und auch in physiologischer Weise in der Schwangerschaft auftreten können [148]. Vorzeitige Wehen können auch sekundär, zum Beispiel durch eine symptomatische Nephrolithiasis oder Harnstauung ausgelöst werden, ohne dass diese zervixwirksam sind [152]. Auch eine tokographisch objektivierte Wehentätigkeit (>3/30 min) liefert keine Informationen über die potentiell einsetzenden Veränderungen an der Zervix. Ein palpatorisch vorgereifter Muttermund war der sonographisch detektierten Zervixlängenmessung, in der Multivarianzanalyse als Prädiktor für eine FG <34 SSW, überlegen. Trotz dessen wird für diese einfache und kostengünstige Untersuchungsmethode in der deutschen Leitlinie keine klare Empfehlung zur Durchführung ausgesprochen [1]. Es wird lediglich darauf verwiesen, dass die beginnende Öffnung am inneren Muttermund während der Geburtsaktivierung palpatorisch nicht beurteilbar ist. Zur Abklärung potentieller Veränderungen an der Zervix werden daher die SpekulumEinstellung und die TVS-Messung empfohlen. Allerdings ist die bildgebende Darstellung der Zervix an die Verfügbarkeit von Sonographiegeräten und entsprechende Kenntnisse der korrekten Messanwendung gebunden. Die Palpation des Muttermundes ist im Vergleich zur sonographischen Darstellung der Zervix weniger standardisiert. Des Weiteren ist sie invasiver und weist eine geringere Reliabilität auf [153–155]. Zusätzlich ist mikrobiologisch bewiesen worden, dass durch die Palpation die vaginale Flora Richtung Zervixkanal befördert wird [156]. Dadurch besteht ein Risiko für eine iatrogene Keimverschleppung, die potentiell sekundär einen Blasensprung auslösen kann. Zwei prospektive Kohortenstudien von 1994 und 2017 mit insgesamt 454 Teilnehmern belegen, dass die TVS-Messung der Palpation in der Prädiktion überlegen ist [157-158]. Die Beurteilung der Zervixreifung erfolgte dabei anhand des GA unabhängigen Bishop-Scores, der ursprünglich zur Einleitungsindikation am Termin entwickelt wurde [74]. Im Gegensatz dazu verwendete man am vorliegenden Studienkollektiv den Westin-Score, der bei der Beurteilung der Zervix das GA mit berücksichtigt. Dieser zeigte bereits in einer retrospektiven Analyse aus den Jahren 2014/2015 an der Universitätsfrauenklinik Rostock, mit Einschluss von 389 Schwangeren mit Zeichen einer drohenden FG <32 SSW, einen relativ hohen NPV (Sensitivität 55,9%, Spezifität 60,8%, PPV 34,9%, NPV 78,6%, p=0,022) [persönliche Mitteilung Prof. Stubert]. Am vorliegendem Studienkollektiv wird der Stellenwert der vaginalen Palpation für die Prädiktion der FG <34 SSW nochmals unterstrichen (Sensitivität 87 %, NPV 95% (OR 8,3 (95 % KI 1,8-38,6), p=0,007). Im Vergleich zur TVS ist durch diese Untersuchungsmethode eine Gewebeauflockerung festzustellen. Sie sollte allerdings immer in Kombination mit einer Zervixlängenmessung per TVS erfolgen, da zum

einen die ZL besser validiert werden kann und zum anderen zusätzliche Risikofaktoren, wie das Vorhandensein eines Zervixtrichters, detektiert werden können [81]. Die vaginale Flora wird durch die TVS-Messung statistisch nicht signifikant verändert [159].

4.3 Sonographische Prädiktoren

4.3.1 Zervixlänge als Prädiktor

Eine verkürzte Zervix gilt im klinischen Alltag vor der 34. SSW als Hauptrisikofaktor für eine drohende FG [1]. Das vorliegende Risikostudienkollektiv wies mit 64,2 % (n=70/109) einen hohen Anteil an Probanden mit einer ZL <25 mm auf. Sowohl der klinisch gebräuchliche Cut-off-Wert von 25 mm als auch 20 mm und 14 mm gingen mit einer Risikoerhöhung für eine FG (OR 2,4-4,6) einher. Allerdings zeigte sich bei Cut-off-Werten von 20 mm und 25 mm eine unzureichende Spezifität des Markers (max. von 53 %). Der Cut-off von 25 mm weist eine bessere Prädiktion einer FG <35 SSW als Screeningparameter im zweiten Trimenon bei Probandinnen ohne Zeichen einer drohenden FG auf. Eine große Multizenterstudie (n=2.915) konnte für dieses Studienkollektiv eine deutlich höhere Spezifität von 92,2 % (NPV 97,0 %) für die Prädiktion der FG <35 SSW nachweisen, sodass in dieser Situation bei Überschreitung des Cut-offs unnötige Therapien (RDS-Prophylaxe, Tokolyse, Hospitalisierung) unterbleiben, Schwangere beruhigt und Kosten eingespart werden können [160]. Bei Vorhandensein von klinischen Symptomen der drohenden FG ist die Spezifität der ZL von 25 mm geringer. In einer Metaanalyse mit Einschluss von 735 Probanden lag diese bei 68,4 % (FG <34 SSW n=84, 11,4%) [86]. Studien zu dieser Thematik verwenden daher zumeist den Cut-off-Wert von <15 mm, um die Spezifität zu erhöhen [71, 73, 86, 161, 162]. Am vorliegenden Studienkollektiv führte die Dezimierung des Cut-Off-Wertes von 20 mm auf 14 mm zu einer Erhöhung der Spezifität von 40 % auf 80 % für die Prädiktion der FG <34 SSW. Die Sensitivität sank hierdurch auf lediglich 50 %. Die Ergebnisse aus der Metaanalyse mit Einschluss von 429 Probandinnen (FG <34 SSW n=78, 18,2 %) aus 4 Studien mit Cut-Off von <15 mm ZL zeigen vergleichbare Ergebnisse (gepoolte Spezifität 93,7 % (95 % KI 90,7-96,0), gepoolte Sensitivität 46,2 % (95 % KI, 34,8–57,8)) [86].

Zusammenfassend unterstreichen die hier gezeigten Ergebnisse den bisherigen Kenntnisstand zur ZL. Trotz z. T. signifikanter Ergebnisse weist sie, als aktueller „Goldstandard“ für die Risikobeurteilung einer drohenden FG, nur eine mäßige prädiktive Testcharakteristik auf. Die Ergebnisse belegen zudem die gegenwärtige Leitlinienempfehlung, dass die ZL allein, vor allem zwischen 15-30 mm, unzureichend für die Detektion einer drohenden FG ist [1]. Die klinische Anwendung des sonographischen Parameters in diesem Kontext ist allerdings essentiell, denn eine Metaanalyse

belegt, dass die Kenntnis der ZL im Vergleich zur Unkenntnis zu einer Reduktion der Frühgeburtsrate führt, da ein risikoadaptiertes Vorgehen gewählt werden kann (FG <37 SSW 22,1 % vs. 34,5 %; RR 0,64 (95 % KI 0,44–0,94)) [163].

4.3.2 Zervikouteriner Winkel als Prädiktor

Aktuelle Daten zum ZUW als Prädiktor für eine FG sind widersprüchlich. Daher empfehlen die aktuellen Leitlinien die Messung nur innerhalb von klinischen Studien durchzuführen bzw. haben noch keine Position zur Messung des ZUW bezogen [1, 164].

Durch mehrere retrospektive Kohorten- bzw. Fall-Kontroll-Studien wurde demonstriert, dass ein vergrößerter ZUW als Prädiktor zur Frühgeburtsdiagnostik herangezogen werden kann [85, 165–168]. Aufgrund der Tatsache, dass sich der ZUW als neuer potentieller Prädiktor im Evaluierungsprozess befindet, existieren im Vergleich zur ZL keine klaren Cut-off-Werte. Die mittleren ZUW-Werte bei FG vs. Entbindung ≥ 37 SSW schwanken zwischen 93° bis 127° , wobei die ZUW-Werte bei einer FG einen stumpferen ZUW aufweisen (ZUW-Mittel 120° - 127°) [85, 165]. Die Messung des ZUWs wurde in diesen Studien während des ersten und zweiten Trimesters durchgeführt, meist zwischen 14 und 24 SSW bei asymptomatischen Frauen. Zusätzlich wird angenommen, dass der ZUW mit höherem GA ansteigt [165, 167, 168]. Eine Querschnittsstudie aus Thailand untersuchte den ZUW zwischen 16 und 24 SSW bei 249 gesunden Schwangeren mit termingerechter Entbindung. Bei wiederholter transvaginaler Messung fanden sie keinen Anstieg mit fortschreitender Schwangerschaft [169]. Der ZUW betrug $102,3 \pm 21,7^\circ$. Die vorliegende Studie bestätigt die Unabhängigkeit des ZUWs vom GA für Schwangere mit Entbindung am Termin.

Zwei Studien untersuchten den ZUW bei Frauen mit erhöhtem Frühgeburtsrisiko. Eine Kohortenstudie (n=211) umfasste nur Frauen mit Symptomen einer drohenden FG zwischen 16 und 29 SSW [170]. Darüber hinaus untersuchte eine Matched-Pair-Analyse (n=405) den ZUW in Abhängigkeit von der ZL (≤ 25 mm gegenüber >25 mm) zwischen 18 und 23 SSW [171]. Die Studien zeigten, dass der ZUW kein unabhängiger prädiktiver Marker für die FG bei symptomatischen Frauen war und verbesserte nicht die Vorhersagefähigkeit von der ZL.

Diese mehrfachen „negativen“ Ergebnisse wurden bisher noch nicht vollständig veröffentlicht, was darauf hindeutet, dass derzeit eine gewisse Publikationsverzerrung zu diesem Thema besteht. Es gibt jedoch zunehmend Hinweise darauf, dass die prädiktive Leistung des ZUWs durch frühere Studienergebnisse überschätzt wurde. Zusätzlich zu den vorliegenden Daten belegen zwei weitere Studien aus dem Jahr 2020 an Niedrig-Risiko-Kollektiven, dass die Prädiktionskraft des ZUWs

unzulänglich ist und somit keine Empfehlung zur Verwendung als Screeningparameter im zweiten Trimenon gegeben werden kann [172, 173]. In der prospektiven spanischen Studie mit in-vivo-Messung des ZUWs im Rahmen des Sonographiescreenings während des zweiten Trimenons bei Einlingsgravida zwischen 19+0 und 22+6 SSW zeigte sich, dass ein zunehmender ZUW mit einem erhöhten Frühgeburtsrisiko assoziiert war. Allerdings wurde eine AUC von 0,67 (95 % KI 0,54-0,79) für die FG <34 SSW und von 0,58 (95 % KI 0,50-0,67) für die FG <37 SSW zu Recht als unzureichend interpretiert. Damit war die Messung des ZUWs der Zervixlängenmessung nicht überlegen [172]. Zu der gleichen Schlussfolgerung kamen auch Sawaddisan et al. in ihrer Studie. Sie sahen ebenso einen vergrößerten ZUW bei FG, allerdings waren die Testgütekriterien bei einem Cut-off von $>110^\circ$ (Sensitivität 83,3 %, Spezifität 61,2 %, PPV 16,7 %, NPV 97,5 %) unzulänglich [173].

Das vorliegende Studienergebnis stützt die Hypothese, dass der ZUW keine ausreichende Unterscheidung zwischen Frauen mit und ohne nachfolgender FG ermöglicht.

Für die Interpretation müssen jedoch die unterschiedlichen Studienmerkmale berücksichtigt werden. In der vorliegenden Studie wurden nur Frauen mit erhöhtem Risiko für eine spontane FG eingeschlossen, einschließlich symptomatischer Patienten mit verkürzter Zervix (64,2 % mit ZL <25 mm) oder vorzeitigen Kontraktionen. Darüber hinaus erfolgten die Messungen im Vergleich zu den anderen zitierten Studien zu einem relativ späten Zeitpunkt der Schwangerschaft (Median 26,1 SSW, IQB 21-31 SSW), was einen direkten Vergleich der Studien erschwert. Das prospektive Studiendesign ist eine Stärke der vorliegenden Studie und die eingeschlossene Studienpopulation spiegelt die klinische Situation gut wieder. Auch wenn die Arbeit eine eher kleine Kohorte umfasst, so muss doch festgestellt werden, dass in der Gruppe der Frühgeburten kein Trend in Richtung eines zunehmenden ZUW zu beobachten war. Somit scheint es unwahrscheinlich, dass durch eine größere Kohorte ein klinisch relevanter Unterschied gefunden werden könnte. Kritisch zu sehen ist die Einbeziehung von Mehrlingsschwangerschaften, wenngleich auch dies die klinische Situation praxisnah reflektiert. Drei frühere retrospektive Studien analysierten den ZUW bei Zwillingsschwangerschaften, die alle eine prädiktive Vorhersagefähigkeit des ZUWs bei Mehrlingen zeigten [93, 174, 175]. Knight et al. berechneten in ihrer Kohortenanalyse für Zwillingsschwangerschaften (n=259) einen optimalen Grenzwert für die Vorhersage der FG <32 SSW von 110° und für FG <28 SSW von 114° [93]. Die Messungen wurden zwischen 18 und 23 SSW durchgeführt. In einer zweiten bisher nur als Abstract publizierten Studie wurde bei 137 Frauen zwischen 14 und 24 SSW ein mittlerer ZUW von 124° gemessen [174]. Das Risiko einer FG <37 SSW war signifikant mit dem ZUW assoziiert, indem die Grenzwerte von $95^\circ/105^\circ$ bei Einlingen aus der Studie von Dziadosz et al. herangezogen wurden [85]. Vielba et al. definierte den Grenzwert bei einem ZUW $>117^\circ$, welcher sowohl für die FG <28 SSW, FG <32 SSW und FG <34 SSW jeweils

statistisch signifikant war ($p < 0,05$) und eine bessere Vorhersage im Vergleich zur ZL ergab [175]. Im vorliegenden Studienkollektiv konnte bei getrennter Analyse kein Unterschied zwischen den mittleren ZUW-Werten in Bezug auf das Vorliegen einer Mehrlings- oder Einlingsschwangerschaft gefunden werden.

4.4 Biochemische Prädiktoren der Frühgeburt

In der Proteomforschung am humanen ZVS zeigte sich THBS-1, Stratifin und Desmoplakin bei drohender FG signifikant erhöht [100]. Die vorliegende Studie validierte diese Erkenntnisse erstmalig im klinischen, prospektiven Studiendesign. Zum Nachweis der Biomarker wurde im Vergleich zur Flüssigkeitschromatographie bzw. Massenspektroskopie eine vereinfachte, kostengünstigere Nachweismethode mittels enzymatischen Immunadsorptionsverfahren verwendet, die im Kliniklabor durchführbar ist. Die Stratifin- und Desmoplakinkonzentrationen im ZVS waren dabei nicht abhängig vom GA zum Geburtszeitpunkt und somit nicht prädiktiv in der Vorhersage einer FG. Dahingegen zeigte sich als eines der Hauptergebnisse dieser prospektiven Studie eine signifikante Erhöhung von THBS-1 im ZVS sowohl für die FG <34 SSW als auch für die FG <37 SSW. Die Konzentrationen von THBS-1 im ZVS zwischen Ein- und Mehrlingschwangerschaften wiesen keine signifikanten Differenzen auf. Eine Gesamtanalyse des Studienkollektivs war somit möglich. Die Ergebnisse sind daher sowohl für Einlings- als auch Mehrlingsgravida gültig.

Die prädiktive Kraft von THBS-1 muss im Vergleich zu den in der Klinik etablierten Biomarkern fFN, plGFBP-1 und PAMG-1 verglichen werden.

In der aktuellen Metaanalyse von 2018, mit Einschluss von 65 Studien (PAMG-1 $n=14$; fFN $n=40$; plIGFBP-1 $n=22$), haben alle Biomarker in Bezug auf die Vorhersage einer FG innerhalb der nächsten sieben Tage einen vergleichbar hohen negativen prädiktiven Wert (96,6 %, 93,3 %, 95 % PAMG-1, fFN, plIGFBP-1) [102]. THBS-1 weist einen ebenso hohen Wert auf (98 % für den diagnostischen Cut-off, 100 % für den optimalen Cut-off), obwohl einschränkend gesagt werden muss, dass nur 5,5 % der Probandinnen ($n=6/109$) innerhalb von sieben Tagen nach Studienaufnahme entbanden. Auf Grundlage dieser Metaanalyse wird die Anwendung von PAMG-1 im klinischen Setting empfohlen, da PAMG-1 den anderen beiden Biomarkern fFN und plIGFBP-1 in Hinblick auf den positiven Vorhersagewert überlegen scheint (76,3 % ($p < 0,05$) vs. 34,1 % vs. 35,2 %). Die europäische Gemeinschaft für Perinatalmedizin schließt sich dieser Empfehlung an [176]. Von den eingeschlossenen Studien an symptomatischen Frauen weisen allerdings zwei Studien auch deutlich geringere PPV von 0,23 bis 0,35 auf, der allerdings weiterhin dem des THBS-1 überlegen ist (PPV THBS-1 0,21) [109, 177].

Ein positives Testergebnis aller drei etablierter klinischer Biomarker spiegelt die erhöhte Gefahr der vorzeitigen Geburtsaktivierung innerhalb einer Woche wieder und bedingt die Durchführung einer Tokolyse und antenatalen Steroidprophylaxe vor der 34. SSW, ohne die FG zu verhindern. Dem klinisch tätigen Arzt fehlen daher gegenwärtig Biomarker, die eine längerfristige, z. T. über mehrere Wochen erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer FG <34 SSW bzw. FG <37 SSW bei Symptomatik aufzeigen. Ein positives Ergebnis würde zu einer intensivierten Überwachung mit dem Ziel führen, eine Schwangerschaftsprolongation zu erlangen. Die neonatale Morbidität und Mortalität könnte so reduziert werden. Bei negativem Testergebnis könnten hingegen unnötige Behandlungen bzw. längerfristige Krankenhausaufenthalte vermieden werden, die auch ökonomisch zu einer Entlastung des Gesundheitssystems führen würden. Aufgrund des hohen NPV von 99 % scheint THBS-1 eine FG <34 SSW über einen Zeitraum von etwa 8 Wochen ausschließen zu können. Dawes et al. verglich den prädiktiven Wert von qualitativen fFN, quantitativen fFN und PAMG-1 bei 128 Frauen mit Symptomen der drohenden FG zwischen 20 und 34 SSW. Die Rate von FG unter 34 SSW betrug 5,5 % und war damit geringer als in dieser Studie (14,7 %). Der PPV betrug 17,9 % für qualitatives fFN, 20,0 % für quantitatives fFN und 12,5 % für PAMG-1 in der Prädiktion der FG <34 SSW. Auch wenn sich ein Direktvergleich der Studien verbietet, weisen diese Testergebnisse darauf hin, dass THBS-1 eine bessere prädiktive Kraft in der Prädiktion der FG <34 SSW bei klinischer Symptomatik besitzen könnte.

Im Mai 2020 wurde eine multizentrische Folgestudie zur o. g. Proteomstudie von Shah et al. publiziert [129]. In dieser Fall-Kontroll-Studie, mit Einschluss von Probandinnen mit mindestens einer zurückliegenden FG zwischen 20 und 36 SSW, wurde das ZVS im Schwangerschaftsverlauf zu drei festgelegten Zeitpunkten (10+0–18+6 SSW; 19+0–23+6 SSW; 28+0–31+6 SSW) gesammelt und aufwendig mittels Massenspektrometrie analysiert. Je nach Entbindungszeitpunkt wurden die Gruppen nach spontaner FG <34 SSW (n=33) vs. Entbindung zwischen 39–41 SSW (n=32) gegenübergestellt. Sowohl Stratifin als auch THBS-1 waren bei FG <34 SSW nicht erhöht. Desmoplakin zeigte sich hingegen bei FG sogar statistisch signifikant verringert (p=0,03). Im Vergleich zum vorliegenden Studiendesign erfolgte dabei die Abnahme des ZVS nicht zum Zeitpunkt einer klinisch drohenden FG, sondern nach festgelegten o. g. Zeiträumen ohne klinische Symptomatik.

4.5 Methodenkritik

Diese Studie weist Stärken und Schwächen auf. Das prospektive Studiendesign mit klar definierten Ein- und Ausschlusskriterien ist eine Stärke der Studie. Der Einschluss von Mehrlingsgravida war erlaubt und hatte wie erwartet einen beachtlichen Anteil an den Frühgeburten (50 % von allen FG <34 SSW (n=8/16), 33,3 % aller FG <37 SSW (n=12/36)). Sowohl die Analyse zum ZUW als auch zum THBS-1 zeigen, dass die Differenzen zwischen Ein- und Mehrlingsgravida statistisch nicht signifikant beziehungsweise die Ergebnisse unabhängig hiervon sind. Demnach erfolgte eine Gesamtanalyse des Studienkollektivs.

Die geplante Anzahl an Studienteilnehmern von 139 Probandinnen konnte während des 27-monatigen Rekrutierungszeitraums nicht erreicht werden. Dies ist nicht zuletzt auf die strengen Ausschlusskriterien zurückzuführen. In der post hoc durchgeführten Power-Analyse zeigte sich allerdings, dass die vorliegende Pilotstudie mit 109 eingeschlossenen Probandinnen eine suffiziente statistische Power aufweist und somit eine gute Grundlage für eine weiterführende Validierungsstudie darstellt.

Hinsichtlich der laborchemischen Analyse des ZVS konnte innerhalb einer klinischen Studie im prospektiven Studiendesign erstmalig eine Konzentrationserhöhung von THBS-1 bei FG mittels kosteneffektiver immunbasierter Antigen-Antikörper-Methode nachgewiesen werden. Frühere Studien analysierten THBS-1 auf mRNA- bzw. Proteinbasis mittels komplexer Analysemethoden [100]. Durch ELISA-Testung steht eine schnellere, im Kliniklabor anwendbare Nachweismethode zur Verfügung. THBS-1-Erhöpfung im ZVS blieb nach Adjustierung von Störfaktoren ein unabhängiger Risikofaktor, wobei einschränkend ein großes 95 % Konfidenzintervall besteht. Sollten sich in einer weiterführenden prospektiv angelegten multizentrischen Studie mit größerem Studienkollektiv die prädiktiven Eigenschaften von THBS-1 bestätigen, könnte in Zukunft die Entwicklung eines POCT-Assays sinnvoll sein. Insbesondere das große Vorhersagefenster von mehr als acht Wochen, im Vergleich zu den kommerziell verfügbaren Schnelltests, würde neue Optionen zum gezielten Einsatz präventiver Maßnahmen (z.B. Zerklage, Zervixpessar) eröffnen, die zukünftig in einer signifikanten Verlängerung der Schwangerschaftsdauer resultieren könnten.

5 Zusammenfassung

2010 lag die Frühgeburtsrate global bei 11,1 % (14,9 Millionen Frühgeborene) [2]. In Industriestaaten ist die Inzidenzrate durch eine bessere Verfügbarkeit von medizinischen Ressourcen niedriger. Allerdings lag diese 2017, beispielsweise in Deutschland, weiterhin bei 8,6 % (n=66.730) [19]. Die Frühgeburtsrate stellt somit weltweit eine enorme Herausforderung für den Gesundheitssektor dar. Die Auswirkungen von Frühgeburten belasten nicht nur unmittelbar peripartal das Gesundheitssystem. Sie führen darüber hinaus oft zu einer jahrelang weiterführenden intensivierten medizinischen und sozialen Betreuung der Frühgeborenen sowie deren Familien. Dies wiederum bedingt bei den Betroffenen eine soziale, psychische und z. T. auch ökonomische Belastung.

Die Prävention der FG hat daher einen hohen Stellenwert. Ziel ist die Reduktion der Frühgeburtlichkeit mittels verbesserter Diagnostik und Therapie. Dies schließt vor allem die Risikoevaluation von Schwangeren mit klinischen Zeichen einer drohenden FG ein. Diese Studie fokussierte sich auf entsprechende Schwangere zwischen 20+0 SSW und 31+6 SSW zum Aufnahmezeitpunkt mit Einschluss sowohl von Einlings- als auch Mehrlingsschwangerschaften. Das primäre Studienziel galt der Prädiktion der FG <34 SSW, sekundär der FG <37 SSW.

109 Probandinnen (95 Einlingsgravida, 14 Mehrlingsgravida) konnten während des 24-monatigen Studienzeitraums von Januar 2017 bis April 2019 rekrutiert werden. Die Frühgeburtsrate lag bei 14,7 % für die FG <34 SSW (n=16) und 33,0 % für die FG <37 SSW (n=36).

Die Risikoanalyse am Studienkollektiv ergab, dass die Anwendung reproduktiver Maßnahmen, Mehrlingsgravida und ein vorgereifter Muttermund sowohl für die FG <34 SSW als auch FG <37 SSW statistisch signifikante Risikofaktoren waren. Im Studienkollektiv lag ein hoher Anteil an Schwangeren mit einer ZL von <25 mm vor (64,2 % (n=70) im Gesamtkollektiv, 58,9 % (n=56/95) bei Einlingen, 100 % (n=14/14) bei Mehrlingen). Eine Zervixlängenverkürzung gilt im klinischen Kontext als Hauptrisikofaktor für eine drohende FG [1]. Cut-Off-Werte für die ZL von 25 mm, 20 mm und 14 mm gingen mit einer Risikoerhöhung für eine FG einher (OR 2,4-4,6), allerdings ergab sich eine statistische Signifikanz für die Prädiktion der FG <34 SSW erst bei einem Cut-Off von 14 mm (OR 3,9 (95 % KI 1,3-11,7) p=0,016). Diese ging mit einer Spezifität von 80 % bei einer Sensitivität von lediglich 50 % einher. Die prädiktive Vorhersagekraft der ZL, vor allem für das primäre Studienziel FG <34 SSW, ist daher in der Studie als unzureichend einzustufen. Die Ergebnisse zum ZUW widerlegen ebenso dessen Potential, als Prädiktor der FG <34 SSW bzw. FG <37 SSW zu fungieren. Im Gruppenvergleich zeigten sich sowohl im Gesamtkollektiv als auch in der Einzelbetrachtung zwischen

Ein- und Mehrlingen (FG <34 SSW, FG 34-≤37 SSW, Entbindung ≥37 SSW) keine statistisch signifikant veränderten Mittelwerte.

Hauptschwerpunkt dieser wissenschaftlichen Arbeit galt der Risikoevaluierung neuer prädiktiver Biomarker im ZVS. Erstmals wurden im Rahmen einer klinischen Pilotstudie die Biomarker Desmoplakin, THBS-1 und Stratifin im ZVS, bekannte potentielle Biomarker aus der Proteomanalytik, mittels ELISA-Verfahren am vorliegenden Risikokollektiv reevaluiert [100]. Stratifin und Desmoplakin waren weder für die FG <34 SSW noch für die FG <37 SSW prädiktiv. Die THBS-1 Konzentrationen im ZVS waren bei Frühgeburten sowohl bei Ein- als auch Mehrlingen deutlich erhöht ($p < 0,001$). Aufgrund dieser Tatsache konnte eine Gesamtanalyse des Studienkollektivs erfolgen. Die ROC-AUCs von THBS-1 für die Prädiktion der FG <34 SSW, FG <37 SSW und innerhalb der nächsten sieben Tage waren 0,86 (95 % KI 0,75-0,96, $p < 0,0001$), 0,80 (95 % KI 0,71-0,88, $p < 0,0001$) und 0,89 (95 % KI 0,80-0,98, $p = 0,001$). Zwei Cut-off-Werte für THBS-1 wurden bestimmt. Der optimale Cut-off (minimale Distanz zwischen Sensitivität und 1-Spezifität) zeigte für die FG <34 SSW einen hohen NPV von 0,99 bei einer Spezifität von 77 % sowie einer Sensitivität von 94 % (OR 51,4, 95 % KI 6,4 -412, $p < 0,001$). Der diagnostische Cut-off-Wert (Spezifität annähernd bei 0,9) wies für die FG <34 SSW eine Spezifität von 90 % bei einer Sensitivität von 63 % auf (OR 15,6, 95 % KI 4,6-52,9, $p < 0,001$). Nach Adjustierung potenzieller konfundierender Faktoren blieb THBS-1 ein unabhängiger Risikofaktor (FG <34 SSW: $aOR_{\text{optimaler Cut-off}}$ 36,3 (95 % KI 3,8-348, $p = 0,002$); $aOR_{\text{diagnostischer Cut-off}}$ 16,2 (95 % KI 2,9-91,9, $p = 0,002$)). Mittels Überlebensanalyse konnte dargelegt werden, dass ein positives Testergebnis von THBS-1 im ZVS eine Vorhersage einer FG <34 SSW über etwa 58 Tage erlaubt. Ein negatives Testergebnis hingegen ging mit einer Frühgeburtswahrscheinlichkeit <34 SSW von 7 % für den diagnostischen Cut-Off-Wert und von 1,0 % für den optimalen Cut-Off-Wert einher.

Zusammenfassend weisen daher die Studienergebnisse zum THBS-1 darauf hin, dass mittels dieses Parameters im Vergleich zu den bisher etablierten Biomarkern PAMG-1, pHIFGBP-1 und fetales Fibronektin ein potentieller neuer Biomarker zur Verfügung steht. Dieser erlaubt die Vorhersage einer FG über ein längeres Zeitfenster von >14 Tagen. Damit könnten im klinischen Alltag eine bessere Beratung und eine intensiviertere Überwachung von Schwangeren mit THBS-1 positivem Ergebnis erfolgen. Bei negativem Ergebnis kann eine Übertherapie, z. B. durch eine langfristige Hospitalisierung, vermieden werden. Bis zur klinischen Anwendung dieses Parameters sind allerdings weiterführende prospektive, multizentrische Studien an einem größeren Studienkollektiv notwendig.

6 Thesen

1. Risikofaktoren für das Auftreten einer Frühgeburt <34 SSW waren die Anwendung reproduktiver Maßnahmen, Mehrlingsgravida, ein palpatorisch vorgereifter Muttermund sowie ein Body-Mass-Index ≥ 30 kg/m². Die prädiktive Vorhersagekraft von vorzeitigen Wehen war hingegen unzureichend (OR 1,0 (95 % KI 0,3-3); p=0,992).
2. Ein palpatorisch vorgereifter Muttermund war der sonographisch detektierten Zervixlänge <25 mm als Prädiktor für eine Frühgeburt <34 SSW überlegen (p=0,007, OR 8,3 (95 % KI 1,8-38,6) vs. p=0,051, OR 4,6 (95 % KI 1,0-21,5)). Eine statistische Signifikanz bei der Zervixlängenmessung konnte erst bei Verringerung des Cut-offs auf 14 mm, mit nur moderater Gültigkeit, erzielt werden (Sensitivität 50 %, Spezifität 80 %, PPV 30 %, NPV 90 %; OR 3,9 (95 % KI 1,3-11,7), p=0,016).
3. Sowohl der zervikouterine Winkel als auch die Biomarker Stratifin und Desmoplakin im Zervikovaginalsekret waren weder für die Vorhersage einer Frühgeburt <34 SSW noch für die Frühgeburt <37 SSW prädiktiv.
4. Die Konzentration von Thrombospondin-1 im Zervikovaginalsekret war bei Frühgeburt sowohl bei Einlingen als auch bei Mehrlingen erhöht, sodass eine Gesamtanalyse erfolgen konnte:
 - a. Thrombospondin-1 wies eine gute prädiktive Vorhersagekraft für die Frühgeburt <34 SSW auf: Sensitivität 94 %; Spezifität 77 %, PPV 42 %, NPV 99 %, OR 51,4 (95 % KI 6,4-412, p <0,001), ROC-AUC 0,86 (95 % KI 0,75-0,96, p <0,0001).
 - b. Nach Adjustierung potenzieller konfundierender Faktoren blieb Thrombospondin-1 ein unabhängiger Risikofaktor für die Frühgeburt <34 SSW (OR_{adjustiert} 36,3 (95 % KI 3,8-348, p=0,002)).
 - c. Ein negatives Thrombospondin-1-Testergebnis ging mit einer Wahrscheinlichkeit von lediglich 1,0 % für die Frühgeburt <34 SSW einher.
 - d. Ein positives Testergebnis erlaubte eine Vorhersage einer Frühgeburt <34 SSW über etwa 58 Tage. Es ist demnach den bisher etablierten Point-of-care-Tests von plazentares Alpha-Mikroglobulin-1, phosphorylierter insulinähnlicher Wachstumsfaktor-1 und fetales Fibronectin im Vorsagezeitraum überlegen, da die prädiktive Vorhersagekraft dieser Biomarker auf einen Zeitraum von 14 Tagen begrenzt ist.

7 Literatur

1. Prevention and therapy of preterm labor. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k-Level, AWMF Registry No. 015/025. February 2019). [Stand: 09.08.2021]. Verfügbar unter: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/015-025.html>.
2. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller A-B, Narwal R et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *The Lancet* 2012; 379(9832):2162–72.
3. Frühgeborene an der Grenze der Lebensfähigkeit. Leitlinie von GNPI, DGGG, DGKJ, DGPM und AEM (S2k-Leitlinie, AWMF-Leitlinien-Register Nr. 024/019, Juni 2020). [Stand: 09.09.2021]. Verfügbar unter: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/024-019.html>.
4. Walsh MC, Bell EF, Kandefer S, Saha S, Carlo WA, D'angio CT et al. Neonatal outcomes of moderately preterm infants compared to extremely preterm infants. *Pediatr Res* 2017; 82(2):297–304.
5. Born too soon. The global action report on preterm birth. World Health Organization; March of Dimes; The Partnership for Maternal, Newborn & Child Health, Save the Children; 2012 [Stand: 17.11.2021]. Verfügbar unter: https://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal_perinatal_health/9789241503433/en/.
6. Chawanpaiboon S, Vogel JP, Moller A-B, Lumbiganon P, Petzold M, Hogan D et al. Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: a systematic review and modelling analysis. *The Lancet Global Health* 2019; 7(1):e37-e46.
7. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller A-B, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2018; 52:3–12.
8. Platt MJ. Outcomes in preterm infants. *Public Health* 2014; 128(5):399–403.
9. Frey HA, Klebanoff MA. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med* 2016; 21(2):68–73.
10. Marlow N, Wolke D, Bracewell MA, Samara M. Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. *N Engl J Med* 2005; 352(1):9–19.
11. Institute of Medicine. Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention: Washington, DC: The National Academies Press. Washington (DC); 2007 [Stand: 06.05.2021]. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.17226/11622>.

12. Petrou S, Abangma G, Johnson S, Wolke D, Marlow N. Costs and Health Utilities Associated with Extremely Preterm Birth: Evidence from the EPICure Study. *Value in Health* 2009; 12(8):1124–34.
13. Singer LT. Maternal Psychological Distress and Parenting Stress After the Birth of a Very Low-Birth-Weight Infant. *JAMA* 1999; 281(9):799.
14. Murray CJL, Vos T, Lozano R, Naghavi M, Flaxman AD, Michaud C et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 2012; 380(9859):2197–223.
15. Villar J, Papageorgiou AT, Knight HE, Gravett MG, Iams J, Waller SA et al. The preterm birth syndrome: a prototype phenotypic classification. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012; 206(2):119–23.
16. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ* 2010; 88(1):31–8.
17. European Perinatal Health Report 2010 - Euro-Peristat [Stand: 08.09.2021]. Verfügbar unter: https://europeristat.com/index.php?option=com_content&view=article&id=19&Itemid=140.
18. Core indicators of the health and care of pregnant women and babies in Europe in 2015. European Perinatal Health Report. Euro-Peristat. November 2018 [Stand: 17.11.2021]. Verfügbar unter: <https://www.europeristat.com/index.php/reports/european-perinatal-health-report-2015.html>.
19. Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2019 Geburtshilfe. Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen [Stand: 17.11.2021]. Verfügbar unter: www.iqtiq.org/qs-verfahren/peri/.
20. Di Renzo GC, Tosto V, Giardina I. The biological basis and prevention of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018; 52:13–22.
21. Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O et al. The preterm parturition syndrome. *BJOG* 2006; 113 Suppl 3(Suppl 3):17–42.
22. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science* 2014; 345(6198):760–5.
23. Barata H, Thompson M, Zielinska W, Han YS, Mantilla CB, Prakash YS et al. The role of cyclic-ADP-ribose-signaling pathway in oxytocin-induced Ca²⁺ transients in human myometrium cells. *Endocrinology* 2004; 145(2):881–9.

24. Tribe RM, Moriarty P, Dalrymple A, Hassoni AA, Poston L. Interleukin-1beta induces calcium transients and enhances basal and store operated calcium entry in human myometrial smooth muscle. *Biol Reprod* 2003; 68(5):1842–9.
25. Larsen B, Hwang J. Progesterone interactions with the cervix: translational implications for term and preterm birth. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2011; 2011:353297.
26. Dubicke A, Akerud A, Sennstrom M, Hamad RR, Bystrom B, Malmstrom A et al. Different secretion patterns of matrix metalloproteinases and IL-8 and effect of corticotropin-releasing hormone in preterm and term cervical fibroblasts. *Molecular Human Reproduction* 2008; 14(11):641–7.
27. Couceiro J, Matos I, Mendes JJ, Baptista PV, Fernandes AR, Quintas A. Inflammatory factors, genetic variants, and predisposition for preterm birth. *Clin Genet* 2021:1–11.
28. Vrachnis N, Malamas FM, Sifakis S, Tsikouras P, Iliodromiti Z. Immune aspects and myometrial actions of progesterone and CRH in labor. *Clin Dev Immunol* 2012:1–10.
29. Garfield RE, Saade G, Buhimschi C, Buhimschi I, Shi L, Shi SQ et al. Control and assessment of the uterus and cervix during pregnancy and labour. *Hum Reprod Update* 1998; 4(5):673–95.
30. Gonçalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R. Intrauterine infection and prematurity. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2002; 8(1):3–13.
31. Andrews WW, Goldenberg RL, Mercer B, Iams J, Meis P, Moawad A et al. The Preterm Prediction Study: association of second-trimester genitourinary chlamydia infection with subsequent spontaneous preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 183(3):662–8.
32. Kayem G, Doloy A, Schmitz T, Chitrit Y, Bouhanna P, Carbonne B et al. Antibiotics for amniotic-fluid colonization by *Ureaplasma* and/or *Mycoplasma* spp. to prevent preterm birth: A randomized trial. *PLoS ONE* 2018; 13(11):e0206290.
33. Mendling W. Gynäkologische Infektionen. *Frauenheilkunde up2date* 2019; 13(02):123–41.
34. Adams Waldorf KM, Singh N, Mohan AR, Young RC, Ngo L, Das A et al. Uterine overdistention induces preterm labor mediated by inflammation: observations in pregnant women and nonhuman primates. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 213(6):830.e1-830.e19.
35. Allen WM, Corner GW. Physiology of Corpus Luteum VII. Maintenance of Pregnancy in Rabbit After Very Early Castration, by Corpus Luteum Extracts. *Experimental Biology and Medicine* 1930; 27(5):403–5.

36. Wildt L, Grubinger E. Endokrinologie der Schwangerschaft, Geburt und Stillzeit. *Gynäkologische Endokrinologie* 2012; 10(3):155–60.
37. Meaidi A, Friedrich S, Gerds TA, Lidegaard O. Risk factors for surgical intervention of early medical abortion. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2019; 220(5):478.e1-478.e15.
38. Luo G, Abrahams VM, Tadesse S, Funai EF, Hodgson EJ, Gao J et al. Progesterone inhibits basal and TNF-alpha-induced apoptosis in fetal membranes: a novel mechanism to explain progesterone-mediated prevention of preterm birth. *Reprod Sci* 2010; 17(6):532–9.
39. Wang Y, Abrahams VM, Luo G, Norwitz NG, Snegovskikh VV, Ng S-W et al. Progesterone Inhibits Apoptosis in Fetal Membranes by Altering Expression of Both Pro- and Antiapoptotic Proteins. *Reprod Sci* 2018; 25(8):1161–7.
40. Kumar D, Springel E, Moore RM, Mercer BM, Philipson E, Mansour JM et al. Progesterone inhibits in vitro fetal membrane weakening. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 213(4):520.e1-9.
41. Talati AN, Hackney DN, Mesiano S. Pathophysiology of preterm labor with intact membranes. *Semin Perinatol* 2017; 41(7):420–6.
42. Irani RA, Foster S. Overview of the mechanisms of induction of labor. *Semin Perinatol* 2015; 39(6):426–9.
43. Mesiano S, Wang Y, Norwitz ER. Progesterone receptors in the human pregnancy uterus: do they hold the key to birth timing? *Reprod Sci* 2011; 18(1):6–19.
44. Kim CJ, Romero R, Kusanovic JP, Yoo W, Dong Z, Topping V et al. The frequency, clinical significance, and pathological features of chronic chorioamnionitis: a lesion associated with spontaneous preterm birth. *Mod Pathol* 2010; 23(7):1000–11.
45. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R, Lowry P, Smith R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med* 1995; 1(5):460–3.
46. Grammatopoulos DK. Placental corticotrophin-releasing hormone and its receptors in human pregnancy and labour: still a scientific enigma. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(4):432–8.
47. McLean M, Smith R. Corticotrophin-releasing hormone and human parturition. *Reproduction* 2001; 121(4):493–501.
48. Mendelson CR. Minireview: fetal-maternal hormonal signaling in pregnancy and labor. *Molecular Endocrinology* 2009; 23(7):947–54.

-
49. Condon JC, Jeyasuria P, Faust JM, Mendelson CR. Surfactant protein secreted by the maturing mouse fetal lung acts as a hormone that signals the initiation of parturition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(14):4978–83.
 50. Sirianni R, Mayhew BA, Carr BR, Parker CR, Rainey WE. Corticotropin-releasing hormone (CRH) and urocortin act through type 1 CRH receptors to stimulate dehydroepiandrosterone sulfate production in human fetal adrenal cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90(9):5393–400.
 51. Wu X, Shen H, Yu L, Peng M, Lai W-S, Ding Y-L. Corticotropin-releasing hormone activates connexin 43 via activator protein-1 transcription factor in human myometrial smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; 293(6):E1789-94.
 52. Hillhouse EW, Grammatopoulos DK. The molecular mechanisms underlying the regulation of the biological activity of corticotropin-releasing hormone receptors: implications for physiology and pathophysiology. *Endocrine Reviews* 2006; 27(3):260–86.
 53. Cong B, Zhang L, Gao L, Ni X. Reduced expression of CRH receptor type 1 in upper segment human myometrium during labour. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7(1):43.
 54. Elovitz MA, Baron J, Phillippe M. The role of thrombin in preterm parturition. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2001; 185(5):1059–63.
 55. Nishimura F, Mogami H, Moriuchi K, Chigusa Y, Mandai M, Kondoh E. Mechanisms of thrombin-Induced myometrial contractions: Potential targets of progesterone. *PLoS ONE* 2020; 15(5):e0231944.
 56. Cha JM, Aronoff DM. A role for cellular senescence in birth timing. *Cell Cycle* 2017; 16(21):2023–31.
 57. Menon R, Behnia F, Poletini J, Saade GR, Campisi J, Velarde M. Placental membrane aging and HMGB1 signaling associated with human parturition. *Aging (Albany NY)* 2016; 8(2):216–30.
 58. Menon R, Mesiano S, Taylor RN. Programmed Fetal Membrane Senescence and Exosome-Mediated Signaling: A Mechanism Associated With Timing of Human Parturition. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; 8:196.
 59. Sultana Z, Maiti K, Dedman L, Smith R. Is there a role for placental senescence in the genesis of obstetric complications and fetal growth restriction? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018; 218(2S):S762-S773.
 60. Koullali B, Oudijk MA, Nijman TAJ, Mol BWJ, Pajkrt E. Risk assessment and management to prevent preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med* 2016; 21(2):80–8.

61. Oskovi Kaplan ZA, Ozgu-Erdinc AS. Prediction of Preterm Birth: Maternal Characteristics, Ultrasound Markers, and Biomarkers: An Updated Overview. *J Pregnancy* 2018; 2018:8367571.
62. Adams MM, Elam-Evans LD, Wilson HG, Gilbertz DA. Rates of and factors associated with recurrence of preterm delivery. *JAMA* 2000; 283(12):1591–6.
63. Kazemier BM, Buijs PE, Mignini L, Limpens J, Groot CJM de, Mol BWJ. Impact of obstetric history on the risk of spontaneous preterm birth in singleton and multiple pregnancies: a systematic review. *BJOG* 2014; 121(10):1197-208.
64. Qin J-B, Sheng X-Q, Wang H, Chen G-C, Yang J, Yu H et al. Worldwide prevalence of adverse pregnancy outcomes associated with in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection among multiple births: a systematic review and meta-analysis based on cohort studies. *Arch Gynecol Obstet* 2017; 295(3):577–97.
65. Grady R, Alavi N, Vale R, Khandwala M, McDonald SD. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* 2012; 97(2):324–31.
66. Cavoretto P, Candiani M, Giorgione V, Inversetti A, Abu-Saba MM, Tiberio F et al. Risk of spontaneous preterm birth in singleton pregnancies conceived after IVF/ICSI treatment: meta-analysis of cohort studies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018; 51(1):43–53.
67. Hirsch L, Rosen H, Okby R, Freeman H, Barrett J, Melamed N. The greater risk of preterm birth in triplets is mirrored by a more rapid cervical shortening along gestation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 215(3):357.e1-6.
68. Valet A, Steller J, Goerke K, Hrsg. *Klinikleitfaden Gynäkologie Geburtshilfe*. 10. Auflage. Germany: Elsevier; 2018:160.
69. Sinin-Blair J, Palacio M, Delgado F, Figueras F. Impact of Ultrasound Cervical Length Assessment on Duration of Hospital Stay in the Clinical Management of Threatened Preterm Labor. *Yearbook of Obstetrics, Gynecology and Women's Health* 2006; 2006:117–9.
70. Hirsch L, Yogev Y, Domniz N, Meizner I, Bardin R, Melamed N. The role of cervical length in women with threatened preterm labor: is it a valid predictor at any gestational age? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2014; 211(5):532.e1-9.
71. Alfirevic Z, Allen-Coward H, Molina F, Vinuesa CP, Nicolaides K. Targeted therapy for threatened preterm labor based on sonographic measurement of the cervical length: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 29(1):47–50.
72. Gomez R, Romero R, Medina L, Nien JK, Chaiworapongsa T, Carstens M et al. Cervicovaginal fibronectin improves the prediction of preterm delivery based on sonographic cervical length in

- patients with preterm uterine contractions and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2005; 192(2):350–9.
73. Palacio M, Sanin-Blair J, Sánchez M, Crispi F, Gómez O, Carreras E et al. The use of a variable cut-off value of cervical length in women admitted for preterm labor before and after 32 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007; 29(4):421–6.
74. Bishop E. Pelvic scoring for elective induction. *Obstet. Gynecol.* 1964; 24:266–8.
75. Helmer H, Schneider H. Frühgeburt: Pränatale und intrapartale Aspekte. In: Schneider H, Husslein P, Schneider K-TM, Hrsg. *Die Geburtshilfe*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. S. 257–306.
76. Hernandez-Andrade E, Romero R, Ahn H, Hussein Y, Yeo L, Korzeniewski SJ et al. Transabdominal evaluation of uterine cervical length during pregnancy fails to identify a substantial number of women with a short cervix. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25(9):1682–9.
77. Khalifeh A, Berghella V. Universal cervical length screening in singleton gestations without a previous preterm birth: ten reasons why it should be implemented. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 214(5):603.e1-5.
78. Kagan KO, Sonek J. How to measure cervical length. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45(3):358–62.
79. Stein W, Hellmeyer L, Schmidt S, Tekesin I. Intraobserver and interobserver reliability of transvaginal cervical length measurements and quantitative ultrasound tissue characterization of the cervix in the second and third trimester of pregnancy. *Ultraschall in Med* 2011; 32 Suppl 2(S 02):E169-74.
80. Salomon LJ, Diaz-Garcia C, Bernard JP, Ville Y. Reference range for cervical length throughout pregnancy: non-parametric LMS-based model applied to a large sample. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 33(4):459–64.
81. Grimes-Dennis J, Berghella V. Cervical length and prediction of preterm delivery. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* 2007; 19(2):191–5.
82. Berghella V, Saccone G. Cervical assessment by ultrasound for preventing preterm delivery. *The Cochrane database of systematic reviews* 2019; 9:Issue 9. Art. No.: CD007235.
83. Iams Jay D., Goldenberg Robert L., Meis Paul J., Mercer Brian M., Moawad Atef, Das Anita et al. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. *N. Engl. J. Med.* 1996; (334):567–72.

-
84. Owen J, Szychowski JM, Hankins G, Iams JD, Sheffield JS, Perez-Delboy A et al. Does midtrimester cervical length ≥ 25 mm predict preterm birth in high-risk women? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010; 203(4):393.e1-5.
 85. Dziadosz M, Bennett T-A, Dolin C, West Honart A, Pham A, Lee SS et al. Uterocervical angle: a novel ultrasound screening tool to predict spontaneous preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 215(3):376.e1-7.
 86. Sotiriadis A, Papatheodorou S, Kavvadias A, Makrydimas G. Transvaginal cervical length measurement for prediction of preterm birth in women with threatened preterm labor: a meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; 35(1):54–64.
 87. Fuchs IB, Henrich W, Osthues K, Dudenhausen JW. Sonographic cervical length in singleton pregnancies with intact membranes presenting with threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 24(5):554–7.
 88. Iams JD, Romero R, Culhane JF, Goldenberg RL. Primary, secondary, and tertiary interventions to reduce the morbidity and mortality of preterm birth. *The Lancet* 2008; (9607):164–75.
 89. Crowther CA, Hiller JE, Doyle LW, Haslam RR. Effect of magnesium sulfate given for neuroprotection before preterm birth: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290(20):2669–76.
 90. Jameson RA, Bernstein HB. Magnesium Sulfate and Novel Therapies to Promote Neuroprotection. *Clin Perinatol* 2019; 46(2):187–201.
 91. Arabin B, Alfirevic Z. Cervical pessaries for prevention of spontaneous preterm birth: past, present and future. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42(4):390–9.
 92. Cannie MM, Dobrescu O, Gucciardo L, Strizek B, Ziane S, Sakkas E et al. Arabin cervical pessary in women at high risk of preterm birth: a magnetic resonance imaging observational follow-up study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42(4):426–33.
 93. Knight J, TenBrink E, Onslow M, Patil AS. 130: Uterocervical angle measurement improves prediction of preterm birth in twin gestation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2017; 216(1):S91.
 94. Biomarker – Wikipedia; 2021 [Stand: 08.11.2021]. Verfügbar unter: <https://de.wikipedia.org/wiki/Biomarker>.
 95. Polettini J, Cobo T, Kacerovsky M, Vinturache AE, Laudanski P, Peelen MJCS et al. Biomarkers of spontaneous preterm birth: a systematic review of studies using multiplex analysis. *J Perinat Med* 2017; 45(1):71–84.

-
96. Kacerovsky M, Lenco J, Musilova I, Tambor V, Lamont R, Torloni MR et al. Proteomic biomarkers for spontaneous preterm birth: a systematic review of the literature. *Reprod Sci* 2014; 21(3):283–95.
 97. Pereira L, Reddy AP, Jacob T, Thomas A, Schneider KA, Dasari S et al. Identification of novel protein biomarkers of preterm birth in human cervical-vaginal fluid. *J Proteome Res* 2007; 6(4):1269–76.
 98. Gravett MG, Thomas A, Schneider KA, Reddy AP, Dasari S, Jacob T et al. Proteomic analysis of cervical-vaginal fluid: identification of novel biomarkers for detection of intra-amniotic infection. *J Proteome Res* 2007; 6(1):89–96.
 99. Kim YE, Kim K, Oh HB, Lee SK, Kang D. Quantitative proteomic profiling of Cervicovaginal fluid from pregnant women with term and preterm birth. *Proteome Sci* 2021; 19(1):3.
 100. Shah SJ, Yu KH, Sangar V, Parry SI, Blair IA. Identification and quantification of preterm birth biomarkers in human cervicovaginal fluid by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Proteome Res* 2009; 8(5):2407–17.
 101. Heng YJ, Liong S, Permezel M, Rice GE, Di Quinzio MKW, Georgiou HM. Human cervicovaginal fluid biomarkers to predict term and preterm labor. *Front Physiol* 2015; 6:151.
 102. Melchor JC, Khalil A, Wing D, Schleussner E, Surbek D. Prediction of preterm delivery in symptomatic women using PAMG-1, fetal fibronectin and pHIGFBP-1 tests: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018; 52(4):442–51.
 103. Alere. Actim Partus Test.; 2020 [Stand: 20.05.2020]. Verfügbar unter:
<https://www.alere.com/de/home/product-details/actim-partus.html>.
 104. Qiagen. PartoSure Test; 2020 [Stand: 20.05.2020]. Verfügbar unter:
https://www.qiagen.com/de/products/diagnostics-and-clinical-research/sexual-reproductive-health/maternal-fetal-testing/partosure-row/_approval_partosure?sc_lang=de-DE.
 105. Hologic. QuikCheck fFN™ Testkit; 2020 [Stand: 20.05.2020]. Verfügbar unter:
https://www.hologic.com/sites/default/files/2018-05/AW-05842-802_004_02.pdf.
 106. Hologic. Rapid fFN® 10Q Kassettenkit; 2020 [Stand: 20.05.2020]. Verfügbar unter:
https://www.hologic.com/sites/default/files/package-insert/AW-09189-802_004_02.pdf.
 107. Toth B. Fehlgeburten Totgeburten Frühgeburten: Ursachen, Prävention und Therapie. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 2017: 260-3.

-
108. Conde-Agudelo A, Romero R. Cervical phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 test for the prediction of preterm birth: a systematic review and metaanalysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 214(1):57–73.
109. Wing DA, Haeri S, Silber AC, Roth CK, Weiner CP, Echebiri NC et al. Placental Alpha Microglobulin-1 Compared With Fetal Fibronectin to Predict Preterm Delivery in Symptomatic Women. *Obstetrics and gynecology* 2017; 130(6):1183–91.
110. Ehsanipoor RM, Swank ML, Jwa SC, Wing DA, Tarabulsi G, Blakemore KJ. Placental α -Microglobulin-1 in Vaginal Secretions of Women with Evidence of Preterm Labor. *Am J Perinatol* 2016; 33(2):208–13.
111. Nikolova T, Bayev O, Nikolova N, Di Renzo GC. Comparison of a novel test for placental alpha microglobulin-1 with fetal fibronectin and cervical length measurement for the prediction of imminent spontaneous preterm delivery in patients with threatened preterm labor. *J Perinat Med* 2015; 43(4):395–402.
112. Nikolova T, Uotila J, Nikolova N, Bolotskikh VM, Borisova VY, Di Renzo GC. Prediction of spontaneous preterm delivery in women presenting with premature labor: a comparison of placenta alpha microglobulin-1, phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1, and cervical length. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018; 219(6):610.e1-610.e9.
113. Lo JO, Reddy AP, Wilmarth PA, Roberts VHJ, Kinhnarath A, Snyder J et al. Proteomic analysis of cervical vaginal fluid proteins among women in recurrent preterm labor. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014; 27(12):1183–8.
114. Zhao C, Isenberg JS, Popel AS. Human expression patterns: qualitative and quantitative analysis of thrombospondin-1 under physiological and pathological conditions. *J Cell Mol Med* 2018; 22(4):2086–97.
115. Hassan SS, Romero R, Haddad R, Hendler I, Khalek N, Tromp G et al. The transcriptome of the uterine cervix before and after spontaneous term parturition. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2006; 195(3):778–86.
116. Hassan SS, Romero R, Tarca AL, Nhan-Chang C-L, Vaisbuch E, Erez O et al. The transcriptome of cervical ripening in human pregnancy before the onset of labor at term: identification of novel molecular functions involved in this process. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2009; 22(12):1183–93.

-
117. Peng H-H, Kao C-C, Chang S-D, Chao A-S, Chang Y-L, Wang C-N et al. The effects of labor on differential gene expression in parturient women, placentas, and fetuses at term pregnancy. *Kaohsiung J Med Sci* 2011; 27(11):494–502.
118. Cindrova-Davies T, Yung H-W, Johns J, Spasic-Boskovic O, Korolchuk S, Jauniaux E et al. Oxidative stress, gene expression, and protein changes induced in the human placenta during labor. *Am J Pathol* 2007; 171(4):1168–79.
119. Chim SSC, Lee WS, Ting YH, Chan OK, Lee SWY, Leung TY. Systematic identification of spontaneous preterm birth-associated RNA transcripts in maternal plasma. *PLoS ONE* 2012; 7(4):e34328.
120. Morimoto T, Head JR, MacDonald PC, Casey ML. Thrombospondin-1 expression in human myometrium before and during pregnancy, before and during labor, and in human myometrial cells in culture. *Biol Reprod* 1998; 59(4):862–70.
121. Havelock JC, Keller P, Muleba N, Mayhew BA, Casey BM, Rainey WE et al. Human myometrial gene expression before and during parturition. *Biol Reprod* 2005; 72(3):707–19.
122. Wu WX, Zhang Q, Ma XH, Unno N, Nathanielsz PW. Suppression subtractive hybridization identified a marked increase in thrombospondin-1 associated with parturition in pregnant sheep myometrium. *Endocrinology* 1999; 140(5):2364–71.
123. Haddad R, Romero R, Gould BR, Tromp G, Gotsch F, Edwin SS et al. Angiogenesis gene expression in mouse uterus during the common pathway of parturition. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2008; 198(5):539.e1-8.
124. Deng J, Gao G, Wang L, Wang T, Yu J, Zhao Z. Stratifin expression is a novel prognostic factor in human gliomas. *Pathol Res Pract* 2011; 207(11):674–9.
125. Database GHG. SFN Gene - GeneCards | 1433S Protein | 1433S Antibody; 2020 [Stand: 24.09.2020]. Verfügbar unter: https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SFN#aliases_descriptions.
126. Kim Y, Shiba-Ishii A, Nakagawa T, Iemura S-I, Natsume T, Nakano N et al. Stratifin regulates stabilization of receptor tyrosine kinases via interaction with ubiquitin-specific protease 8 in lung adenocarcinoma. *Oncogene* 2018; 37(40):5387–402.
127. Ferguson AT, Evron E, Umbricht CB, Pandita TK, Chan TA, Hermeking H et al. High frequency of hypermethylation at the 14-3-3 sigma locus leads to gene silencing in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(11):6049–54.

-
128. Urano T, Takahashi S, Suzuki T, Fujimura T, Fujita M, Kumagai J et al. 14-3-3sigma is down-regulated in human prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 319(3):795–800.
129. Parry S, Leite R, Esplin MS, Bukowski R, Zhang H, Varner M et al. Cervicovaginal fluid proteomic analysis to identify potential biomarkers for preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020; 222(5):493.e1-493.e13.
130. Desmosom; 2019 [Stand: 24.09.2020]. Verfügbar unter:
<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Desmosom&oldid=191858233>.
131. Desmoplakin - an overview | ScienceDirect Topics; 2020 [Stand: 24.09.2020]. Verfügbar unter:
<https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/desmoplakin>.
132. Ockleford C, Malak T, Hubbard A, Bracken K, Burton SA, Bright N et al. Confocal and conventional immunofluorescence and ultrastructural localisation of intracellular strength-giving components of human amniochorion. *J Anat* 1993; 183 (Pt 3)(Pt 3):483–505.
133. Roberts BJ, Johnson KE, McGuinn KP, Saowapa J, Svoboda RA, Mahoney MG et al. Palmitoylation of plakophilin is required for desmosome assembly. *J. Cell. Sci* 2014; 127(Pt 17):3782–93.
134. MacRae CA, Birchmeier W, Thierfelder L. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: moving toward mechanism. *J. Clin. Investig* 2006; 116(7):1825–8.
135. Hobbs RP, Han SY, van der Zwaag PA, Bolling MC, Jongbloed JDH, Jonkman MF et al. Insights from a desmoplakin mutation identified in lethal acantholytic epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 2010; 130(11):2680–3.
136. Pirjani R, Moini A, Almasi-Hashiani A, Farid Mojtahedi M, Vesali S, Hosseini L et al. Placental alpha microglobulin-1 (PartoSure) test for the prediction of preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2019:1–13.
137. Langnickel D, Westin B. Intensive Überwachung der Schwangerschaft mittels Vorsorgekarte. *Dtsch Arztebl* 77(9): A-511 1980; (9):511–6.
138. Töpfer G. Enzyme-linked Immunosorbent Assay. In: Gressner AM, Arndt T, Hrsg. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 3. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. S. 789–90 [Springer Reference Medizin].
139. ELISA Kit for Thrombospondin 1 (THBS1) | SEA611Mu | Mus musculus (Mouse) CLOUD-CLONE CORP.(CCC); 2021 [Stand: 11.11.2021]. Verfügbar unter: <http://www.cloud-clone.com/products/SEA611Mu.html>.

-
140. Voigt M, Briese V, Carstensen M, Wolterdorf F, Hallier E, Straube S. Age-specific preterm birth rates after exclusion of risk factors--an analysis of the German perinatal survey. *Z Geburtshilfe Neonatol* 2010; 214(4):161–6.
141. Fuchs F, Monet B, Ducruet T, Chaillet N, Audibert F. Effect of maternal age on the risk of preterm birth: A large cohort study. *PLoS ONE* 2018; 13(1):e0191002.
142. Schempf AH, Branum AM, Lukacs SL, Schoendorf KC. Maternal age and parity-associated risks of preterm birth: differences by race/ethnicity. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.* 2007; 21(1):34–43.
143. Waldenström U, Cnattingius S, Vixner L, Norman M. Advanced maternal age increases the risk of very preterm birth, irrespective of parity: a population-based register study. *BJOG* 2017; 124(8):1235–44.
144. Cnattingius S, Villamor E, Johansson S, Edstedt Bonamy A-K, Persson M, Wikström A-K et al. Maternal obesity and risk of preterm delivery. *JAMA* 2013; 309(22):2362–70.
145. Khatibi A, Brantsaeter A-L, Sengpiel V, Kacerovsky M, Magnus P, Morken N-H et al. Prepregnancy maternal body mass index and preterm delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012; 207(3):212.e1-7.
146. Liu B, Xu G, Sun Y, Du Y, Gao R, Snetselaar LG et al. Association between maternal pre-pregnancy obesity and preterm birth according to maternal age and race or ethnicity: a population-based study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2019; 7(9):707–14.
147. Geburtseinleitung. Guideline of the DGGG, OEGGG und SGGG: (S2k-Level, AWMF Registry No. 015-088, Version 1.0. Dezember 2020) [Stand: 02.10.2021]. Verfügbar unter: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/015-088l_S2k_Geburtseinleitung_2020-12.pdf.
148. Schneider H, Husslein P, Schneider K-TM, Hrsg. *Die Geburtshilfe*. 5. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer; 2016. (Springer Reference Medizin).
149. Jeyabalan A, Caritis SN. Pharmacologic inhibition of preterm labor. *Clin Obstet Gynecol* 2002; 45(1):99–113.
150. McPheeters ML, Miller WC, Hartmann KE, Savitz DA, Kaufman JS, Garrett JM et al. The epidemiology of threatened preterm labor: A prospective cohort study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2005; 192(4):1325–9.
151. Practice Bulletin No. 171: Management of Preterm Labor: American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. *Obstetrics & Gynecology* 2016; 128(4):e155-e164.

-
152. Moldenhauer J. Vorzeitige Wehentätigkeit - Gynäkologie und Geburtshilfe - MSD Manual Profi-Ausgabe; 2020 [Stand: 16.09.2020]. Verfügbar unter: <https://www.msmanuals.com/de-de/profi/gyn%C3%A4kologie-und-geburtshilfe/anomalien-und-komplikationen-unter-der-geburt/vorzeitige-wehent%C3%A4tigkeit>.
153. BUEKENS P. Randomised controlled trial of routine cervical examinations in pregnancy. *The Lancet* 1994; 344(8926):841–4.
154. Goldberg J, Newman RB, Rust PF. Interobserver reliability of digital and endovaginal ultrasonographic cervical length measurements. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997; 177(4):853–8.
155. Matijevic R, Grgic O, Vasilj O. Is sonographic assessment of cervical length better than digital examination in screening for preterm delivery in a low-risk population? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; 85(11):1342–7.
156. Imseis HM, Trout WC, Gabbe SG. The microbiologic effect of digital cervical examination. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999; 180(3):578–80.
157. Gomez R, Galasso M, Romero R, Mazor M, Sorokin Y, Gonçalves L et al. Ultrasonographic examination of the uterine cervix is better than cervical digital examination as a predictor of the likelihood of premature delivery in patients with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994; 171(4):956–64.
158. Pinton A, Severac F, Meyer N, Akladios CY, Gaudineau A, Favre R et al. A comparison of vaginal ultrasound and digital examination in predicting preterm delivery in women with threatened preterm labor: a cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017; 96(4):447–53.
159. Krebs-Jimenez J, Neubert AG. The microbiological effects of endovaginal sonographic assessment of cervical length. *J Ultrasound Med* 2002; 21(7):727–9.
160. Iams JD, Goldenberg RL, Meis PJ, Mercer BM, Moawad A, Das A et al. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. National Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. *N Engl J Med* 1996; 334(9):567–72.
161. Gramellini D, Fieni S, Kaihura C, Modena AB. Cervical length as a predictor of preterm delivery: gestational age-related percentiles vs fixed cut-offs. *Acta Biomed.* 2007; 78(3):220–4.
162. Holst R-M, Jacobsson B, Hagberg H, Wennerholm U-B. Cervical length in women in preterm labor with intact membranes: relationship to intra-amniotic inflammation/microbial invasion, cervical inflammation and preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 28(6):768–74.
163. Berghella V, Palacio M, Ness A, Alfrevic Z, Nicolaides KH, Saccone G. Cervical length screening for prevention of preterm birth in singleton pregnancy with threatened preterm labor:

- systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials using individual patient-level data. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49(3):322–9.
164. Preterm labour and birth: Guideline of NICE (NG25, published November 2015, Last updated August 2019) [Stand: 09.11.2021]. Verfügbar unter: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng25>.
165. Sur B, Misra S, Dash S. Evaluation of the anterior cervical angle of the uterus to predict spontaneous preterm birth. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol* 2017; 6(6):2323.
166. Sepúlveda-Martínez A, Díaz F, Muñoz H, Valdés E, Parra-Cordero M. Second-Trimester Anterior Cervical Angle in a Low-Risk Population as a Marker for Spontaneous Preterm Delivery. *Fetal Diagn Ther* 2017; 41(3):220–5.
167. Sochacki-Wójcicka N, Wojcicki J, Bomba-Opon D, Wielgos M. Anterior cervical angle as a new biophysical ultrasound marker for prediction of spontaneous preterm birth. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 46(3):377–8.
168. Farràs Llobet A, Regincós Martí L, Higuera T, Calero Fernández IZ, Gascón Portalés A, Goya Canino MM et al. The uterocervical angle and its relationship with preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2018; 31(14):1881–4.
169. Chaiwongsa MD, Rujiwetpongstorn MD. The Association between Anterior Uterocervical Angle and Pregnancy between 16-24 Weeks of Gestation. *Thai Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2020; (28):44–51.
170. J.M. Crane, K. Manning, D. O'Brien. Uterocervical angle measurement in the prediction of preterm birth in women presenting with threatened preterm labour. *Ultrasound Obstet Gynecol*; 2018:182.
171. Son M, Butler SK, Fay KE, Grobman WA, Miller ES. 350: Preterm birth prediction with transvaginal cervical length and uterocervical angle measurements. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2017; 216(1):S212.
172. Farràs Llobet A, Higuera T, Calero IZ, Regincós Martí L, Maiz N, Goya MM et al. Prospective evaluation of the uterocervical angle as a predictor of spontaneous preterm birth. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2020; 99(11):1511–8.
173. Sawaddisan R, Kor-Anantakul O, Pruksanusak N, Geater A. Uterocervical angle measurement for preterm birth prediction in singleton pregnant women with no history of preterm birth and normal cervical length: A prospective cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2020; 252:30–5.

-
174. Lynch TA, Szlachetka K, Seligman NS. Second trimester uterocervical angle and spontaneous preterm birth in twins. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2019:1–7.
175. Benito Vielba M, Bonrostro Torralba C de, Espiau Romera A, Roca Arquillue M, Campillos Maza JM, Castán Mateo S. Uterocervical angle as a predictor of spontaneous preterm birth in twin pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2020:1–8.
176. Di Renzo GC, Cabero Roura L, Facchinetti F, Helmer H, Hubinont C, Jacobsson B et al. Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of Perinatal Medicine. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2017; 30(17):2011–30.
177. Melchor JC, Navas H, Marcos M, Iza A, Diego M de, Rando D et al. Predictive performance of PAMG-1 vs fFN test for risk of spontaneous preterm birth in symptomatic women attending an emergency obstetric unit: retrospective cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018; 51(5):644–9.

8 Veröffentlichungen und Präsentationen

Abstract/ Postervorstellung/ Vorträge

- Gründler, K; Richter, D.-U.; Stubert, J. Zervixlänge und zervikouteriner Winkel in der Prädiktion einer Frühgeburt: eine prospektive Kohortenanalyse. Postervorstellung zur 29. Tagung der Deutschen Gesellschaft für perinatale Medizin (DGPM). Berlin November 2019. Z Geburtshilfe Neonatol 2019; 223(S 01): E64. DOI: 10.1055/s-0039-3401213
- Stubert, J.; Gründler, K; Richter D.-U. Thrombospondin-1, Stratifin und Desmoplakin im Zervikovaginalsekret als Prädiktor einer Frühgeburt: eine prospektive Kohortenanalyse. Postervorstellung zur 29. Tagung der Deutschen Gesellschaft für perinatale Medizin (DGPM). Berlin November 2019. Z Geburtshilfe Neonatol 2019; 223(S 01): E63-E64. DOI: 10.1055/s-0039-3401212
- Stubert, J; Gründler, K; Gerber, B; Richter, D.-U. Thrombospondin-1 im Zervikovaginalsekret als Prädiktor einer Frühgeburt: eine prospektive Kohortenanalyse. Vortrag zur 63. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG). München Oktober 2020. Geburtshilfe Frauenheilkd 2020; 80(10): e81. DOI: 10.1055/s-0040-1717181.
- Stubert, J; Gründler, K; Gerber, B; Richter, DU. Der zervikouterine Winkel in der Prädiktion einer Frühgeburt: eine prospektive Kohortenanalyse. Vortrag zur 63. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG). München Oktober 2020. Geburtshilfe Frauenheilkd 2020; 80(10): e85. DOI: 10.1055/s-0040-1717192.

Publikationen:

- Gründler, K; Gerber, B; Stubert, J. Uterocervical angle as a predictor of preterm birth on a high-risk collective between 20 and 31 weeks of gestation: A cohort analysis. Acta Obstet Gynecol Scand. 2020 Nov; 99(11):1527-33.
- Stubert, J; Gründler, K; Gerber, B; Richter, D-U; Dieterich, M. Prediction of spontaneous preterm birth in women at risk by Thrombospondin-1 from cervicovaginal fluid: a prospective observational study. Geburtshilfe Frauenheilkd 2021; 81(9):1055–64.

9 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich herzlich bei Prof. Dr. med. J. Stubert für die Vergabe dieses klinisch wichtigen Themas bedanken. Danke für ihre fachliche Unterstützung und Begleitung während der Erhebung und Bearbeitung der Daten. Ihre vielen inhaltlichen und formalen Anregungen sowie kritischen Kommentare während des Verfassens der Dissertationsschrift haben zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Zudem habe ich die schnelle und unkomplizierte Kommunikation mit ihnen geschätzt.

Weiteren Dank gilt Frau PD Dr. rer. nat. habil. Dagmar-Ulrike Richter und ihrem Laborteam, die mich während des experimentellen Teils der Promotionsarbeit, beim Erlernen und Durchführen der verwendeten Labortechniken, stets unterstützten. Ich schätzte ihre Hilfsbereitschaft bei Fragen und Problemen.

Mein besonderer Dank gilt meinem Ehemann Mirko Gründler für die fortwährende Motivierung und liebevollen Betreuung unserer Kinder während der gesamten Promotionsphase.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Kathleen Gründler
E-Mail: gruendler.kathleen@gmx.de

Geboren: 23. August 1988 in Schwedt (Oder)
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: verheiratet, zwei Kinder

Schulbildung

09/1995 - 06/2001 Grundschule Tantow
09/2001 - 06/2005 Gesamtschule Gartz (Oder)
08/2005 - 06/2008 Einstein-Gymnasium Angermünde
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium

10/2008 - 12/2014 Humanmedizin an der Universität Rostock
Abschluss und Approbation: Humanmedizinerin

Beruflicher Werdegang

seit 03/2016 Assistenzärztin für Gynäkologie und Geburtshilfe,
Helios Kliniken Schwerin
09/2017 - 02/2018 Rotation in die Palliativmedizin

Wissenschaftliche Tätigkeit

seit 01/2017 Promotion Universitätsfrauenklinik Rostock zum Thema
„Untersuchungen zur diagnostischen Präzision prädiktiver Biomarker
in der Risikoevaluation der drohenden Frühgeburt“

11 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit zum Thema „Untersuchungen zur diagnostischen Präzision prädiktiver Biomarker in der Risikoevaluation der drohenden Frühgeburt“ selbständig verfasst und keine anderen, als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel, verwendet habe.

Ich habe bisher weder diese noch eine andere Arbeit als Dissertation an einer in- oder ausländischen Fakultät vorgelegt.

Schwerin, den 17. August 2022

Kathleen Gründler