



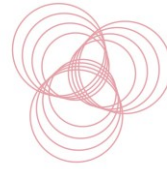
Aus der Universitätsfrauenklinik Rostock
Direktor Prof. Dr. med. habil. Bernd Gerber

Maternale Serumkonzentrationen von CCL2 und CXCL10 als Biomarker in der Prädiktion der Frühgeburt

**Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock**

Vorgelegt von
Jessica Alana Brandt, geb. Hoffmann
geboren am 04.01.1998 in Schwerin

Rostock, 2025



Gutachter

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Johannes Stubert, Klinikum Südstadt Rostock, Universitätsfrauenklinik und Poliklinik
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Christoph Bühner, Charité Berlin, Klinik für Neonatologie
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Michael Walter, Universität Rostock, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Jahr der Einreichung: 2024

Jahr der Verteidigung: 2025

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Definition und Folgen einer Frühgeburt.....	1
1.2 Ätiologie und Pathophysiologie der Frühgeburt	4
1.3 Klinische und sonographische Prädiktoren einer Frühgeburt.....	7
1.4 Biomarker zur Prädiktion einer Frühgeburt.....	8
1.5 Therapeutische Optionen und Problematik.....	10
1.6 Potentielle Biomarker im Serum.....	11
1.6.1 Serpin B7	11
1.6.2 CCL2 und CXCL10.....	11
2 Zielstellung.....	17
3 Material und Methoden.....	18
3.1 Materialien	18
3.1.1 Laborgeräte.....	18
3.1.2 Gebrauchs- und Verbrauchsmaterialien	18
3.1.3 Chemikalien / ELISA-Kits.....	18
3.2 Registrierung und Genehmigung der Studie	19
3.3 Probengewinnung, Lagerung und Vorbereitung	19
3.4 Allgemeine Funktionsweise eines Sandwich-ELISA-Tests.....	21
3.5 Durchführung der Biomarker - Immunoabsorbent-Assays.....	22
3.7 Standardkurve und Berechnung der Proteinkonzentration.....	24
3.8 Auswertung und statistische Berechnungen	25
4 Ergebnisse	27
4.1 Patientencharakteristika.....	27
4.2 Therapeutisches Management.....	29
4.3 Neonatales Outcome	29
4.4 Analyse der klinischen Risikofaktoren bei Studienaufnahme.....	30
4.5 CCL2.....	31
4.6 CXCL10.....	35
4.7 Serpin B7	38
4.8 CXCL10 / CCL2 Quotient	40
4.8.1 Prädiktion Gestationsalter	40

4.8.2	Prädiktion Entbindungsintervall.....	44
4.9	Berücksichtigung der Mehrlingsschwangerschaften.....	46
4.10	Logistische Regression.....	47
4.11	Etablierte Entzündungsparameter (Leukozyten, CRP).....	49
4.12	Kombination CXCL10/CCL2 mit Zervixlänge in einem Modell	51
5	Diskussion.....	52
5.1	Relevanz des Themas	52
5.2	Prädiktion durch CCL2 (MCP-1).....	52
5.3	Prädiktion durch CXCL10 (IP-10).....	54
5.4	Prädiktion durch Serpin B7.....	55
5.6	Prädiktion durch Leukozyten und CRP	57
5.7	Stärken und Methodenkritik	58
6	Zusammenfassung.....	59
7	Thesen	60
8	Literaturverzeichnis	61
9	Veröffentlichungen und Präsentationen	79
10	Danksagung	80
11	Lebenslauf	81
12	Eigenständigkeitserklärung.....	82

Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
ART	Assistierte reproduktive Techniken
aOR	Adjustierte Odds Ratio
AUC	Fläche unter der Kurve (engl. area under the curve)
CCR	Oberflächenrezeptor (engl. cell surface receptor)
CRH	Corticotropin- Releasing Hormon
CRP	C- reaktives Protein
CTG	Cardiotokogramm
CVF	Cervicovaginalflüssigkeit
DIC	Disseminierte intravasale Gerinnung
DGGG	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe
dNK	Deziduale natürliche Killerzellen
ELISA-Test	Enzymgekoppeltes immunologisches Nachweisverfahren (engl. enzyme-linked immunosorbend assay)
ER- α	Estrogenrezeptor Alpha
fFN	Fetales Fibronectin
FG	Frühgeburt
GA	Gestationsalter (engl. gestational age)
GAG	Glykosaminoglykane
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IFN γ	Interferon Gamma
IgA	Immunglobulin A
IL	Interleukin
IP-10	Interferon- γ -inducible protein 10 (= CXCL10)
IVF	In-vitro-Fertilisation
IQR	Interquartilsabstand (engl. interquartile range)
KI	Konfidenzintervall
LR	Likelihood-Ratio
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein 1 (= CCL2)
MDSCs	Myeloid-abgeleitete Suppressorzellen
NPV	Negativer prädiktiver Vorhersagewert
OR	Odds Ratio
PAMG-1	Plazentares Alpha-Mikroglobulin
phIGFBP-1	Phosphorylierter insulinähnlicher Wachstumsfaktor
pNK	Periphere natürliche Killerzellen
POC-Test	Schnelltest (engl. point of care)

pPROM	früher vorzeitiger Blasensprung (engl. preterm premature rupture of membranes)
PPV	Positiver prädiktiver Wert
PTB	Frühgeburt (engl. preterm birth)
ROC	Receiver operator characteristic
SA	Standardabweichung
SSW	Schwangerschaftswoche
TNF α	Tumornekrosefaktor Alpha
T-reg	T- regulatorische Zellen
uOR	nicht adjustierte Odds Ratio (engl. unadjusted odds ratio)
V.a.	Verdacht auf
Z.n.	Zustand nach

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Testgütekriterien für die auf dem Markt verfügbaren Biomarker, Zusammenfassung einer Metastudie; Werte in Bezug auf das Entbindungsrisiko innerhalb von 7 Tagen	9
Tabelle 2: Verwendete Laborgeräte	18
Tabelle 3: Gebrauchs- und Verbrauchsmaterialien	18
Tabelle 4: Hersteller und Eigenschaften der verwendeten ELISA-Kits	19
Tabelle 5: Patientencharakteristika bei Studienaufnahme	28
Tabelle 6: Übersicht der Maßnahmen des therapeutischen Managements während der Studienphase	29
Tabelle 7: Neonatales Outcome der geborenen Kinder in den Kategorien Geburtsgewicht, Nabelschnur-pH und 5-Minuten-APGAR, in der Gesamtpopulation und gestaffelt nach Entbindungsgruppen	29
Tabelle 8: CCL2-Serumkonzentrationen (in pg/ml) in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen	31
Tabelle 9: Testgütekriterien für CCL2, berechnet jeweils für den optimalen sowie diagnostischen Trennwert für die Entbindungen <34 SSW und <37 SSW	34
Tabelle 10: Deskriptive Statistik für CXCL10 (in pg/ml) in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen	35
Tabelle 11: Testgütekriterien für CXCL10, jeweils für den optimalen sowie diagnostischen Trennwert für die Geburten <34 SSW und alle Frühgeburten <37 SSW	37
Tabelle 12: Deskriptive Statistik für Serpin B7 (in ng/ml) in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen	38
Tabelle 13: Deskriptive Statistik für den CXCL10/CCL2- Quotienten in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen.....	40
Tabelle 14: Testcharakteristika für CXCL10/CCL2-Ratio: Prädiktion des Gestationsalters bei Entbindung	43
Tabelle 15: Testgütekriterien für CXCL10/CCL2-Quotient, jeweils für den optimalen sowie diagnostischen Trennwert für die Entbindung innerhalb von 7 und 14 Tagen	45
Tabelle 16: Deskriptive Statistik für Leukozyten und CRP als sekundär erfasste (Standard-) Laborparameter.....	49
Tabelle 17: Testcharakteristika für CRP und Leukozyten für Entbindung <34 SSW und Prädiktionsintervall 7 Tage in Bezug auf die optimalen Trennwerte	50

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Analyse der Verteilung von Frühgeborenen in Deutschland, Daten der Bundesauswertung des IQTIG für das Erfassungsjahr 2019	1
Abbildung 2: Entwicklungsvergleich von sehr unreifen Frühgeborenen <28 SSW im Vergleich zu reif geborenen Kindern >37 SSW in den Kategorien Verhalten, Sprache und Kognition....	2
Abbildung 3: Differenzierung der Makrophagen in den proinflammatorischen M1-Typ und den antiinflammatorischen M2-Typ mit übersichtlicher Darstellung der relevantesten Mediatoren und Chemokine	6
Abbildung 4: Chemokinattraktion- und migration bei lokaler proinflammatorischer Reaktion	12
Abbildung 5: Schematische Übersicht CCL2, Darstellung der Aktivierung von CCL2 sowie die Wirkung seinen Rezeptoren.....	13
Abbildung 6: Schematische Übersicht CXCL10, Darstellung der Aktivierung von CXCL10 sowie die Wirkung an seinen Rezeptoren	15
Abbildung 7: Modell eines Sandwich-ELISA	21
Abbildung 8: ELISA-Platte A mit Standard- Verdünnungsreihe 1+2 mit Doppelbestimmung nebeneinander und Probenreihen 4, 6, 8, 10, 11, 12 mit Doppelbestimmung der Proben untereinander, B Nach Auswaschen und Hinzugabe der Antikörperlösung, C nach Inkubation mit Farblösung, D nach Abstoppen der Farbreaktion vor Bestimmung der Extinktionen im Mikroplatten-Photometer	23
Abbildung 9: Beispiel einer Standardkurve (hier für CXCL10), Extinktions-Mittelwerte der Standardreihe, angegeben mit polynomer Trendlinie und Bestimmtheitsmaß	24
Abbildung 10: Gestationsalter bei Entbindung in Abhängigkeit vom Entbindungsintervall ab Studieneinschluss.....	27
Abbildung 11: Nicht adjustierte Odds Ratio der Risikofaktoren bei Studienaufnahme, A Entbindung vor 34 SSW (Entbindungsgruppe 1), B Entbindung vor 37 SSW (Entbindungsgruppe 1+2).....	30
Abbildung 12: Serumkonzentrationen von CCL2 in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung, dargestellt im Boxplot-Diagramm.....	31
Abbildung 13: links: Serumkonzentrationen von CCL2 bei Entbindungen vor/nach 34 SSW, dargestellt im Boxplot-Diagramm, rechts: zugehörige ROC-Kurve für Entbindung <34 SSW, dargestellt mit Bezugslinie.....	32
Abbildung 14: links: CCL2-Konzentration bei Entbindung innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme; dargestellt im Boxplot-Diagramm, rechts: dazugehörige ROC-Kurve für das 7 d-Intervall, dargestellt mit Bezugslinie.....	33

Abbildung 15: Serumkonzentrationen von CXCL10 in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung; dargestellt im Boxplot-Diagramm.....	35
Abbildung 16: links: Serumkonzentrationen von CXCL10 in Abhängigkeit vom Gestationsalter <34 SSW, dargestellt im Boxplot-Diagramm, rechts: dazugehörige ROC-Kurve für die Entbindung <34 SSW, dargestellt mit Bezugslinie	36
Abbildung 17: Serumkonzentration von Serpin B7 in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung; dargestellt im Boxplot-Diagramm.....	38
Abbildung 18: Serumkonzentrationen des CXCL10 / CCL2- Quotienten (Ratio) in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung, dargestellt im Boxplot- Diagramm.....	40
Abbildung 19: Verteilung der CXCL10/CCL2-Ratio (n=107) in Bezug auf das Entbindungsintervall ab Studieneinschluss in Tagen, dargestellt als Streudiagramm mit Regressionslinie und 95% Konfidenzintervall	41
Abbildung 20: Serumkonzentrationen der CXCL10 / CCL2- Ratio in Abhängigkeit vom Gestationsalter <34 SSW und <37 SSW, dargestellt im Boxplot-Diagramm; dazugehörige ROC-Kurven für Entbindung <34 SSW und <37 SSW, mit Bezugslinie	42
Abbildung 21: 1-Überlebenskurve nach Kaplan-Meier für CCL2/CXCL10 Quotient: Risiko einer Geburt <34 SSW bei Testung mit einem optimalen Trennwert von 2,2.....	43
Abbildung 22: 1-Überlebenskurve nach Kaplan-Meier für CCL2/CXCL10-Quotient: Risiko einer Geburt <37 SSW bei Testung mit einem optimalen Trennwert von 2,2.....	44
Abbildung 23: CCL2/CXCL10-Quotient bei Entbindung innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme; dargestellt im Boxplot-Diagramm; dazugehörige ROC-Kurve; dargestellt mit Bezugslinie	45
Abbildung 24: Interaktion von Mehrlingsgravida mit der CXCL10/CCL2-Ratio; dargestellt im Boxplot in Abhängigkeit vom Gestationsalter (gruppiert)	46
Abbildung 25: Profildarstellung der marginalen Mittelwerte der CXCL10/CCL2-Ratio in Abhängigkeit einer Mehrlingsgravidität	47
Abbildung 26: Vergleich der nicht adjustierten Odds Ratio bei Studienaufnahme (A) und der adjustierten Odds Ratio für die CXCL10/CCL2-Ratio zusätzlich relevante verbleibende Faktoren waren Mehrlingsschwangerschaften sowie ein BMI >30 kg/m ² , dargestellt im 95% Konfidenzintervall (Whisker)	48
Abbildung 27: ROC-Kurven für die Prädiktion einer spontanen Frühgeburt <34 SSW mit den maternalen Serum-Laborparametern CRP in mg/l und Leukozyten in Gpt/l, dargestellt mit Bezugslinie	49
Abbildung 28: Interaktion von Mehrlingsgravida mit der Anzahl der Leukozyten im maternalen Serum bei Aufnahme mit dem Studienziel Entbindung vor der vollendeten 34. SSW und Entbindung innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme dargestellt im Boxplot (gruppiert)	51

1 Einleitung

1.1 Definition und Folgen einer Frühgeburt

Eine Frühgeburt ist als Geburt eines Kindes (mit einem Geburtsgewicht über 500 Gramm oder Vorhandensein von Lebenszeichen) vor Vollendung der 37. Schwangerschaftswoche (SSW) post menstruationem definiert. Dies betrifft jährlich zwischen 5 und 13 Prozent aller Schwangerschaften weltweit [75]. Im Jahr 2010 betrug die Frühgeborenen-Rate 11,1 Prozent (rund 14,9 Millionen Kinder), mit einer Spannweite von etwa 5 Prozent in einigen nordeuropäischen Ländern bis zu 18 Prozent in südafrikanischen und asiatischen Gebieten [20]. In Deutschland werden jährlich ungefähr 65.000 Kinder vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche geboren. Im Jahr 2016 betrug die Frühgeborenenrate 8,74 Prozent (66.851 Frühgeborene auf 773.338 geborene Kinder), im Jahr 2019 8,42 Prozent (64.437 Frühgeburten auf 765.636 Geburten) [79, 80] . Die prozentuale Verteilung der Frühgeburten für das Jahr 2019 zeigt Abbildung 1.

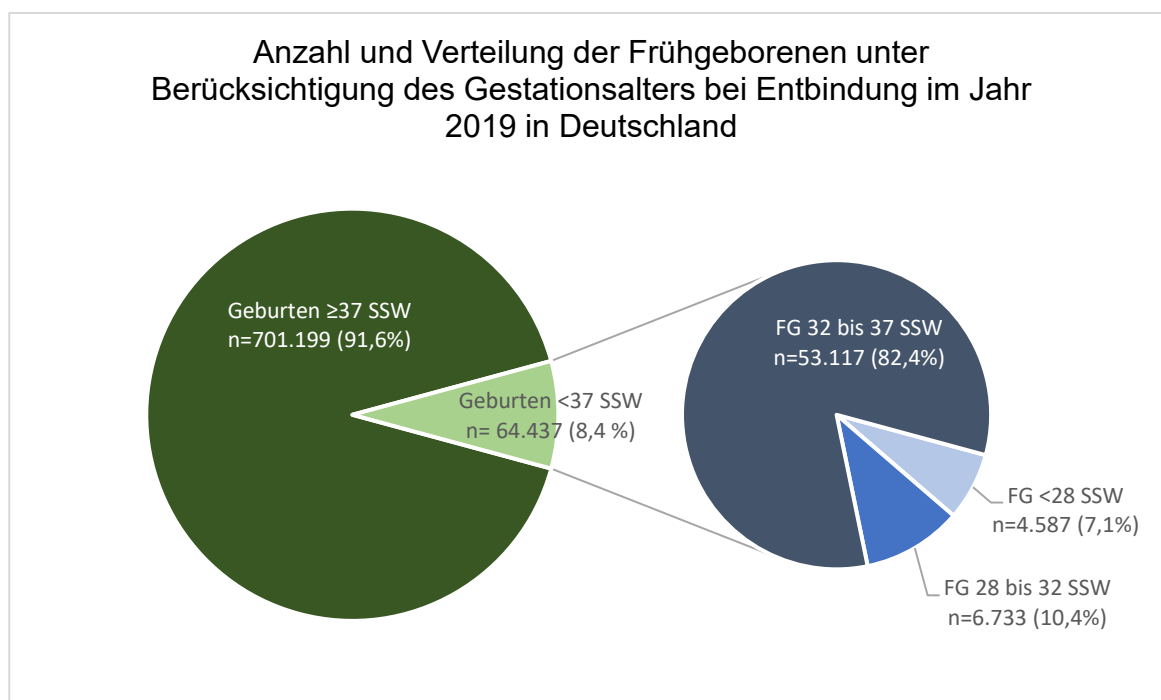


Abbildung 1: Analyse der Verteilung von Frühgeborenen in Deutschland, Daten der Bundesauswertung des IQTIG für das Erfassungsjahr 2019; Kreisdiagramm links: von insgesamt 765.636 Kindern sind 64.437 vor Vollendung der 37. Schwangerschaftswoche geboren (hellgrün), Angabe in absoluten Prozentwerten, Kreisdiagramm rechts: Verteilung der Frühgeburten in Abhängigkeit der Schwangerschaftswoche bei Entbindung, Angabe in relativen Prozentwerten, darunter 4.587 extreme Frühgeborene < 28 SSW (hellblau; 0,6 % absolut) und 6.733 frühe Frühgeborene welche zwischen 28 und 32 Schwangerschaftswochen entbunden worden sind (blau: 0,9 % absolut)

Die Grenze der Lebensfähigkeit ist nicht fest definiert und liegt derzeit im Bereich zwischen 22 und 24 SSW. Bei der Entscheidung für ein aktives, lebenserhaltendes Vorgehen müssen neben dem Gestationsalter auch das Fetalgewicht und der Wunsch der Eltern berücksichtigt werden. Alternativ kann in diesem Zeitfenster im Sinne einer gemeinsamen Entscheidungsfindung auch eine palliative Versorgung des Neugeborenen erfolgen. Ab einem Gestationsalter von 24+0 SSW erfolgt aufgrund deutlich zunehmender Überlebenschancen im Regelfall ein aktives Management [7].

Mehr als 84 Prozent der Frühgeborenen werden nach 32 SSW geboren, wobei die Überlebensraten stark vom medizinischen Versorgungslevel des Landes abhängig sind und von über 90 bis unter 10 Prozent reichen [20]. Trotz guter Versorgungsmöglichkeiten in den meisten Industriestaaten, stellt die Frühgeburt abhängig vom Gestationsalter bei Entbindung und dem Geburtsgewicht die häufigste neonatale Todesursache dar und determiniert eine hohe Rate an lebenslanger Morbidität als Spätfolge der Unreife in Form von zerebralen Paresen, Lernschwierigkeiten, Entwicklungsstörungen und sensorischen Defiziten (Abbildung 2) [7, 12].

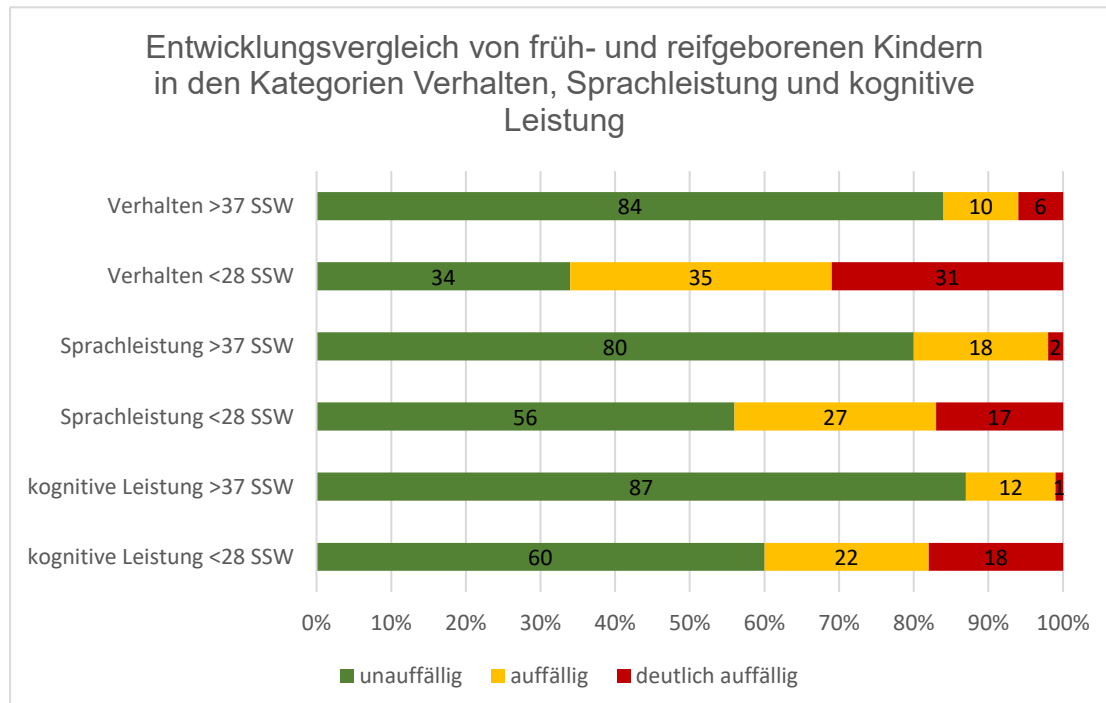


Abbildung 2: Entwicklungsvergleich von sehr unreifen Frühgeborenen <28 SSW im Vergleich zu reif geborenen Kindern >37 SSW in den Kategorien Verhalten, Sprache und Kognition; Daten der Nachuntersuchung der Kinder im Alter von 5 Jahren, Beurteilung der kognitiven Leistung anhand K-ABC ($p < 0,001$) und der Sprachleistung anhand SETK3-5 ($p < 0,001$), Beurteilung des Verhaltens (Unruhe, Impulsivität, Ängstlichkeit, Konzentrationsschwäche) durch den unabhängigen Untersucher ($p < 0,001$). In allen drei Kategorien sind extrem frühgeborene Kinder deutlich häufiger stark eingeschränkt. [41]

Weitere infolge der Unreife der Organe der Frühgeborenen gehäuft auftretende Krankheitsbilder sind das akute Atemnotsyndrom, die prämaturne Retinopathie, die nekrotisierende Enterokolitis und die neonatale Sepsis. Diese Erkrankungen können langfristig unter anderem zu Blindheit und chronischen Atemwegserkrankungen, wie Asthma bronchiale, führen [13, 100]. Das Gesamtbild der kindlichen Folgeschäden stellt nicht nur für das Kind eine lebenslange Beeinträchtigung dar, sondern fordert auch von den Familien und Angehörigen ein hohes Maß an lebenslanger Unterstützung und geht mit einer erhöhten emotionalen und psychischen Belastung einher. Dabei zeigen die Eltern häufiger mittelschwere bis schwere Symptome von Angst und Depression. Es ließen sich ebenfalls eine schlechtere Familienfunktion und erhöhter elterlicher Stress in Familien mit Frühgeborenen <30 SSW im Vergleich mit Familien mit reifgeborenen Kindern >37 SSW nachweisen [85]. Zusätzlich fallen häufig hohe Kosten für das Gesundheitssystem, insbesondere durch umfangreiche frühe Intensivtherapie (durchschnittlich 100.000 Euro pro extrem frühes Frühgeborenes) an. Auch nach Entlassung aus der Klinik werden bei vielen Kindern lebenslang weiterführende Maßnahmen zur Unterstützung der Entwicklung sowie gesundheitlicher Aspekte benötigt [43, 102].

1.2 Ätiologie und Pathophysiologie der Frühgeburt

Abhängig von der Ausgangssituation lassen sich Frühgeburten in zwei Kategorien einteilen [5]. Auf der einen Seite kann eine frühzeitig einsetzende Wehentätigkeit, ein vorzeitiger Blasensprung oder eine Kombination beider Ereignisse in einer *spontanen Frühgeburt* resultieren. Andererseits ist bei Frauen in bestimmten klinischen Situationen von *medizinischer Seite* eine vorzeitige Geburt indiziert, wobei die Entbindung vor 37 vollendeten Schwangerschaftswochen mithilfe einer medikamentöser Geburtseinleitung oder frühzeitigen Sectio caesarea forciert wird. Die medizinischen Gründe hierbei können sowohl bei der Mutter (beispielsweise bei Präeklampsie), beim Kind (beispielsweise bei intrauteriner Wachstumsretardierung) oder bei anderen Faktoren liegen [59]. Die medizinisch aktiv induzierte Frühgeburt wird im Folgenden aufgrund der Fragestellung und des Studienziels nicht weiter berücksichtigt, da das Forschungsziel die Detektion und Prädiktion der spontanen Frühgeburt war. Ätiologisch ist die spontane Frühgeburt ein multifaktorielles Geschehen.

Zwei Drittel aller spontanen Frühgeburten sind Folge einer vorzeitigen Wehentätigkeit [43]. Cervixwirksame Wehen unterscheiden sich von frustranen Kontraktionen durch das Verkürzen der Cervixlänge und/oder das Eröffnen des Muttermundes. Die Abschätzung des Frühgeburtsrisikos allein anhand der Wehentätigkeit ist jedoch unzureichend und als prädiktiver Parameter aufgrund hoher Falsch-Positiv-Raten ungeeignet [77]. In lediglich 30 Prozent liegen mütterliche oder fetale Risikofaktoren einer Frühgeburt vor [146]. Hierzu zählen eine vorausgegangene Konisation, Schwangerschaftsabbrüche oder eine Frühgeburt bzw. ein Spätabort in der Eigenanamnese. Weitere Faktoren sind ein mütterliches Alter über 35 Jahre, ein prägravid BMI größer 30 kg/m^2 , ein niedriger sozioökonomischer Status sowie Rauchen. Klinisch relevante Befunde während der Schwangerschaft sind neben der regelmäßigen Wehentätigkeit, eine vorzeitige Eröffnung und/oder Verkürzung der Cervix uteri, ein früher vorzeitiger Blasensprung sowie uterine Blutungen [146].

Des Weiteren gewinnt das Auftreten von Mehrlingsschwangerschaften infolge der zunehmenden Anwendung assistierter reproduktiver Techniken (ART) an Bedeutung. Die Frühgeborenenrate bei Zwillingen, welche durch In-vitro-Fertilisation (IVF) oder intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) entstanden sind, lag 2019 bei 57,6 Prozent [44]. Auch Einlingsschwangerschaften nach ART haben gegenüber spontan konzipierten Schwangerschaften ein um bis zu 80 Prozent erhöhtes Risiko für eine Frühgeburt (Daten von 2019 mit 10,9 vs. 5 bis 6 Prozent) [30].

Des Weiteren kann die mechanische Überdehnung des Myometriums, wie sie nicht nur bei Mehrlingsgraviditäten sondern auch bei einem Polyhydramnion auftritt, ein Auslöser für frühgeburtliche Prozesse sein. Infolge der Aufhebung der Progesteron-Blockade resultiert eine Aktivierung des Myometriums und die Auflockerung und Reifung der Cervix [43].

Insbesondere frühe Frühgeburten < 32 SSW sind häufig infektionsassoziiert [58, 101]. In Studien konnten dabei Inzidenzen einer histologischen Chorioamnionitis von 66 % bis zu 94 % bei Frühgeburten zwischen 21 bis 24 SSW nachgewiesen werden [91, 101]. Pathogenetisch kommen eine aszendierende Infektion über die Vagina und die Cervix uteri (häufigster Mechanismus), der Übergang von Bakterien aus dem maternalen Blut in die Plazenta oder auch iatrogen eine direkte Kontamination zum Beispiel nach Durchführung einer Amniozentese in Betracht [76]. Als Reaktion auf die bakterielle Besiedlung kann eine Inflammation und somit der Geburtsvorgang initiiert werden [32]. Eine besondere Risikogruppe für infektionsassoziierte Frühgeburten stellen Patientinnen mit einem frühen vorzeitigen Blasensprung dar (pPROM, ca. drei Prozent aller Schwangerschaften und ursächlich von rund einem Drittel aller spontanen Frühgeburten) [152]. Das Auftreten einer intrauterinen Inflammation und/oder Infektion („Triple I“) bei Frauen nach pPROM ist primär durch eine Keimaszension aus der Vagina bedingt. Im Rahmen der hierdurch ausgelösten Immunreaktion kommt es zur massiven Aktivierung von Leukozyten mit Freisetzung von Zyto- und Chemokinen und in der Folge zum Übergang in die aktive Geburtsphase.

Nach anderen Theorien ist der Ursprung einer Frühgeburt in einer fehlerhaften Implantation begründet, wobei eine schlechte Immunanpassung der Mutter die Grundlage für ein vorzeitiges Versagen der feto-maternalen Toleranz darstellt [24]. Theorien für die Ursachen einer gestörten Implantation reichen dabei von mütterlichem Stresserleben zum Zeitpunkt der Implantation bis hin zu endokrinen Dysfunktionen, einer falschen Ernährung oder einem veränderten vaginalen Mikrobiom [10, 47]. Interessanterweise ist die Befruchtung und Implantation ein proinflammatorischer Prozess, bei dem die in der Samenflüssigkeit enthaltenen Zytokine, Chemokine und Prostaglandine eine reaktive uterine Zytokinproduktion und Leukozytenrekrutierung initiieren [117]. Zum Zeitpunkt der Implantation sollte bei der Entwicklung einer physiologischen Schwangerschaft eine maternale Toleranz aufgebaut werden. Daran sind viele Mechanismen, unter anderem die Freisetzung von bestimmten antiinflammatorischen Molekülen und die Rekrutierung von antiinflammatorischen T-Zellen (T-regs) durch die Präsentation fetaler Antigene an die dezidualen Zellen durch tolerante dendritische Zellen, beteiligt [3, 108]. Während der Plazentation spielt die Trophoblastenmigration in die Dezidua und das innere Myometrium eine essenzielle Rolle bei der Vermittlung der Immuntoleranz [44]. Durch den Trophoblasten produziertes CSF-1 (Colonie-stimulierender Faktor 1) und IL-10 regt die dezidualen Makrophagen zur Differenzierung in den antiinflammatorischen M2-Typ an (Abbildung 3), welche durch die Produktion von weiteren antiinflammatorischen Zyto- und Chemokinen (CCL17, CCL18,

CCL22) und die Rekrutierung von Th2-Zellen, T-regs, Eosinophilen sowie Basophilen eine immunologische Abstoßungsreaktion unterdrücken [130, 177, 62, 121].

Ein großer Teil (etwa 20 - 30 %) der dezidualen Leukozyten sind Makrophagen vom M2-Typ [26, 134]. In Studien konnten Makrophagen bereits als „Hauptakteure“ bei der Initiierung von Früh- und Termingeburten identifiziert werden [56]. Eine verstärkte Differenzierung von Makrophagen in den proinflammatorischen M1-Typ unter dem Einfluss von $\text{IFN}\gamma$ und $\text{TNF}\alpha$ ist in Studien nachweislich mit einem gehäuftem Auftreten von pathologischen Schwangerschaftsereignissen assoziiert [138, 165, 175, 177]. Studien zeigten mit dem Einsetzen der Wehen einen massiven Übergang von Neutrophilen, Makrophagen und Leukozyten aus dem maternalen Blut in das Myometrium, die Cervix und die Eihäute, begleitet von einer Ausdifferenzierung in den M1-Typ [9, 67, 134, 159]. Der M1-Typ ist wiederum durch eine vermehrte Produktion von $\text{TNF}\alpha$, proinflammatorischen Zytokinen (IL-6, IL-1, IL-12, IL-27), einer Stimulation von speziellen Cofaktoren (CD40, CD80, CD86) sowie Th1-rekrutierenden Chemokinen (beispielsweise CXCL9, CXCL10, CXCL11) gekennzeichnet [133].

Die abnorm gesteigerte Expression von proinflammatorischen Chemokinen als Mediatoren steht damit in einem unmittelbaren Zusammenhang mit dem Auftreten einer Frühgeburt [44, 23].

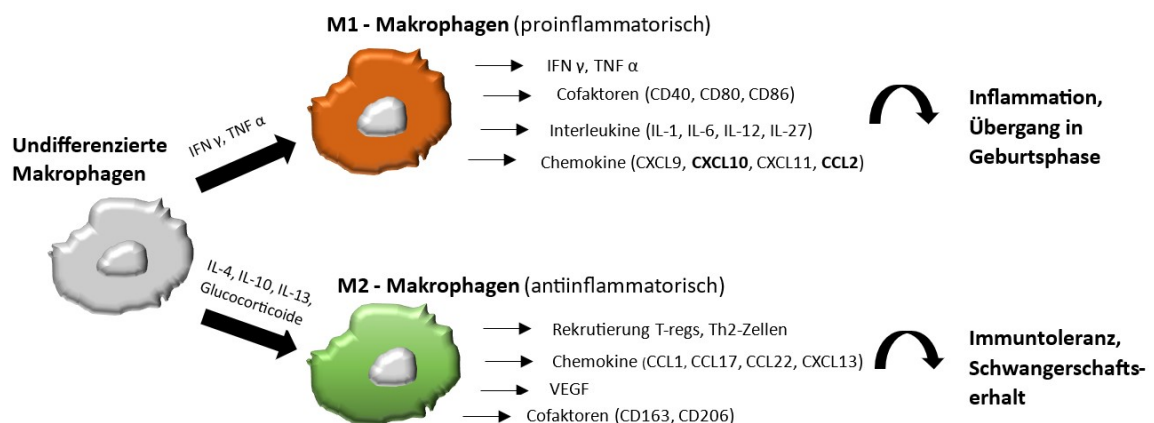


Abbildung 3: Differenzierung der Makrophagen in den proinflammatorischen M1-Typ und den antiinflammatorischen M2-Typ mit übersichtlicher Darstellung der relevantesten Mediatoren und Chemokine

Auch wenn die Ursachen und die Entwicklung der Transformation von einem antiinflammatorischen Milieu zu einem proinflammatorischen Stadium mit nachfolgender Frühgeburt bisher noch nicht vollständig erforscht sind, so scheint die zytokininduzierte proinflammatorische Reaktion jedoch Teil einer gemeinsamen Endstrecke („common pathway“) sowohl bei Termin- als auch Frühgeburten unabhängig von der Ätiologie zu sein [171].

1.3 Klinische und sonographische Prädiktoren einer Frühgeburt

Bei Auftreten von Symptomen eines vorzeitigen Geburtsbeginns, wie beispielsweise Wehen oder einem verstärkten Druck in das kleine Becken, wird das Frühgeburtsrisiko für eine vorzeitige Entbindung anhand von klinischen Faktoren abgeschätzt. Klassischer Weise dienen dazu die SpekulumEinstellung des Muttermundes und die palpatorische Beurteilung der Zervix.

Ergänzend wird mithilfe der transvaginalen Sonografie die Länge der Cervix, gemessen vom Ostium uteri externum bis zum Ostium uteri internum, ermittelt. Eine vorzeitige Verkürzung der Cervix uteri (< 25 mm) im zweiten Trimester ist mit einem erhöhten Frühgeburtsrisiko assoziiert und stellt einen wichtigen, objektiv zu evaluierenden Faktor dar [38, 64]. Wichtig ist eine standardisierte Durchführung der Untersuchung bei leerer Harnblase und unter Vermeidung von Druck durch den Schallkopf, um keine „falsche“ Verlängerung der Cervix zu bewirken [43]. Hilfreich ist, dass im Gegensatz zur Palpation auch eine Veränderung am inneren Muttermund in Form einer sogenannten „Trichterbildung“ beurteilt werden kann. Hierbei handelt es sich um eine Eröffnung des inneren Muttermundes mit Vorwölbung der Fruchtblase in den Cervikalkanal. Die Trichterbildung stellt keinen unabhängigen Risikofaktor für das Auftreten einer Frühgeburt bei normaler Cervixlänge dar [17].

Das Cardiotokogramm (CTG) kann ebenfalls zur Objektivierung der Wehentätigkeit herangezogen werden. Studien konnten jedoch zeigen, dass nur etwa 12 Prozent der Frauen mit subjektiver Wehentätigkeit innerhalb der nächsten sieben Tage entbunden worden sind [2]. Das Auftreten und die Häufigkeit subjektiver Wehentätigkeit sind als alleinige Faktoren nicht zur Prädiktion einer Frühgeburt geeignet [15]. Im Gesamtbild ist die Vorhersage einer Frühgeburt anhand klinischer Parameter bei symptomatischen Patientinnen aufgrund einer zu niedrigen Spezifität problematisch [38, 77].

1.4 Biomarker zur Prädiktion einer Frühgeburt

Bisher sind drei Biomarker als Point-of-care (POC-) Tests zur ergänzenden Abschätzung des Frühgeburtsrisikos verfügbar. Bei diesen Biomarkern handelt es sich um das Plazenta-Alpha-Mikroglobulin 1 (PAMG-1), das fetale Fibronektin (fFN) und das Insulin-ähnliche-Wachstumsfaktor-bindende Protein 1 (pHIGFBP-1, auch Plazentaprotein 12 genannt).

PAMG-1 ist ein Protein, welches reichlich im Fruchtwasser und in kleineren Mengen auch an der Cervix vorhanden ist. Der Schnelltest ist unter dem Handelsnamen „PartoSure“ erhältlich. PAMG-1 wurde initial ausschließlich zur Detektion eines vorzeitigen Blasensprunges eingesetzt, kann jedoch auch bei klinisch ausgeschlossenen Blasensprung einen Hinweis auf eine beginnende Frühgeburt anzeigen. Die Durchführung des Schnelltests ist insbesondere bei einem Cervixbefund von 15-33 mm bei symptomatischen Patientinnen sinnvoll [21, 45]. Der PartoSure kann ohne Spekulum- Untersuchung durchgeführt werden und bleibt von im Voraus stattgefundenen vaginalen Tast- oder Ultraschalluntersuchungen unbeeinflusst [4]. Die Prädiktion einer Frühgeburt innerhalb der nächsten Woche zeigte in Studien unterschiedliche positive Vorhersagewerte mit einer Spannbreite zwischen 23,1 bis 100 Prozent und negative Vorhersagewerte zwischen 93 Prozent und 100 Prozent [21, 31, 71, 174].

fFN ist ein Glykoprotein, welches in der Eihaut und dem Trophoblasten produziert wird und den Zusammenhalt zwischen fetalen Membranen und Plazenta mit der Dezidua gewährleistet. Die Detektion von fFN in der Cervicovaginalflüssigkeit ab 22 SSW kann auf eine gestörte Verbindung zwischen maternalen und fetalen Strukturen hinweisen und ist mit einem höheren Risiko für das Eintreten einer Frühgeburt assoziiert [4, 116]. Als Schnelltest ist das fetale Fibronektin unter dem Namen „Rapid fFN“ oder auch „QuickCheck fFN“ bekannt. In einigen Studien konnten falsch-positive Ergebnisse bei Testung nach vaginaler Tastuntersuchung der Cervix oder nach Geschlechtsverkehr innerhalb der vorherigen 24 Stunden nachgewiesen werden, sodass ein Test in diesen Fällen nicht empfohlen wird [51, 124, 125]. Keinen Einfluss auf das Testergebnis scheint hingegen ein stattgefundener transvaginaler Ultraschall zu haben [14, 111]. Nach Empfehlung der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) kann der fFN-Test bei symptomatischen Frauen mit einer Cervixlänge von 15-30 mm zur Einschätzung des Frühgeburtsrisikos innerhalb der nächsten sieben Tage angewendet werden, wobei der Test insbesondere eine hohe negativ-prädiktive Aussagekraft besitzt [45]. Abhängig vom Patientenkollektiv und Studiensetting schwankt der positive Vorhersagewert des Tests für die Prädiktion einer Geburt innerhalb der nächsten sieben Tage zwischen 4,3 bis 97,4 Prozent und der negative Vorhersagewert zwischen 63,2 bis 100 Prozent [55, 164, 174].

PhIGFBP-1 wird in seiner phosphorylierten Form von mütterlichen Dezidualzellen produziert. Bei beginnender Ablösung der Eihäute von der Dezidua zu Beginn der Wehen tritt phIGFBP-1 in die CVF über. Ein positiver Test vor der vollendeten 37. SSW ist mit einem erhöhten Frühgeburtenrisiko assoziiert [89]. Im Rahmen eines Point-of-care Tests ist der Biomarker IGFBP-1 als „Actim-Partus“ verfügbar. Im Gegensatz zum fetalen Fibronektin bleibt das Testergebnis vom Vorhandensein von vaginalen Urin- oder Spermaresten unbeeinflusst [150]. Die positiven und negativen Vorhersagewerte für eine Entbindung innerhalb der nächsten sieben Tage bewegen sich dabei in einem Rahmen von 2,2 bis 92,9 Prozent und 61,8 bis 99 Prozent [37, 164, 172].

Insgesamt betrachtet existiert im klinischen Setting jedoch bis heute kein Goldstandard für die Prädiktion einer Frühgeburt. Von den oben dargestellten etablierten Biomarkern ist laut Leitlinie keiner alleinstehend zur sicheren Vorhersage einer Frühgeburt, insbesondere nicht im Rahmen eines allgemeinen Screeningtests geeignet. Laut einer Metastudie ist PAMG-1 für die Vorhersage einer Geburt innerhalb der nächsten sieben Tage bei Risikopatientinnen, aufgrund seines vergleichsweise hohen positiv-prädiktiven Wertes (PPV), der vielversprechendste prädiktive Marker (Tab. 1) [4, 128]. In der Routine-Anwendung im klinischen Alltag konnten die Erwartungen jedoch nicht erfüllt werden [18, 24]. So zeigte PAMG-1 bei symptomatischen Frauen in der klinischen Anwendung einen PPV von nur 23 Prozent für die Prädiktion der Frühgeburt innerhalb der nächsten sieben Tage [174].

Tabelle 1: Testgütekriterien für die auf dem Markt verfügbaren Biomarker, Zusammenfassung einer Metastudie; Werte in Bezug auf das Entbindungsrisiko innerhalb von 7 Tagen nach Testung [128]

	Probandinnen (n)	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	LR+	LR-
PAMG-1	2278	0,76	0,97	0,76	0,97	22,51	0,24
fFN	7431	0,58	0,84	0,34	0,93	3,63	0,5
phIGFBP-1	3192	0,93	0,76	0,35	0,99	3,8	0,09

PPV= positiv prädiktiver Wert, NPV= negativ prädiktiver Wert, LR = Likelihood-Ratio

Die Kombination von Biomarker-Schnelltests mit der Messung der Cervixlänge zeigte in einigen Studien synergistische Effekte für die Prädiktion der Frühgeburt, insbesondere durch bessere positive Vorhersagewerte, und die Bestimmung wird aktuell auch bei asymptomatischen Patientinnen ohne akute klinische Risikofaktoren evaluiert [19, 142, 170]. Andere Studien konnten keinen Nutzen der simultanen Testung bei Risikopatientinnen feststellen [54].

1.5 Therapeutische Optionen und Problematik

Bei Frauen mit drohender Frühgeburt besteht die Möglichkeit, in Abhängigkeit ihres Gestationsalters therapeutische Maßnahmen zum Versuch einer Prolongation der bestehenden Schwangerschaft zu ergreifen. Im Rahmen einer vorzeitigen Verkürzung der Cervix uteri unter 20 mm vor 24 SSW kann nach individueller Reevaluation eine vaginale Progesterontherapie angewandt werden, welche zu einer reduzierten Empfindlichkeit des Myometriums auf Estrogene und damit zu einer Hemmung der uterinen Kontraktilität führen kann [40, 86]. Auch die Anwendung einer operativen Cerclage oder die Einlage einer Cervix-stabilisierenden Cerclage-Pessars ist bei vorzeitiger Cervixreifung oder -insuffizienz mit einer Restlänge <25mm und ohne begleitende Wehentätigkeit eine therapeutische Option [43]. Zur Verlängerung der Schwangerschaft um mindestens 48 Stunden kann eine medikamentöse Tokolyse bei symptomatischen Patientinnen vor 34 SSW angewendet werden. Diese ermöglicht die Gabe der antenatalen Steroidprophylaxe und den Transport in ein geeignetes Perinatalzentrum, in dem eine optimale postpartale medizinische Versorgung sichergestellt werden kann. Ziel der Intervention ist eine Reduktion der fetalen Morbidität und Mortalität.

Trotz klinischer Zeichen einer drohenden Frühgeburt kommt es jedoch bei dem Großteil der Frauen auch ohne medizinische Maßnahmen zu einer Entbindung am Termin. Nur durchschnittlich 7 Prozent der Frauen mit Anzeichen für einen frühzeitigem Geburtsbeginn werden innerhalb von zwei Tagen nach Klinikvorstellung entbunden, weitere drei Prozent innerhalb der ersten Woche nach der stationärer Aufnahme [154]. Das Risiko einer Übertherapie mit stationären Klinikaufenthalt und unnötigen, ggf. sogar schädlichen therapeutischen Maßnahmen ist entsprechend hoch [143].

Da die vorhandenen klinischen und laborchemischen Tests bisher keine zufriedenstellende Prädiktion des Frühgeburtsrisikos ermöglichen, sind weiterführende Untersuchungen zur Identifikation effektiver Biomarker mit besserem positivem Vorhersagewert zwingend erforderlich.

1.6 Potentielle Biomarker im Serum

1.6.1 Serpin B7

Serpin B7, auch als Megsin (mesangial cell-predominant gene with a homology to serpin) bezeichnet, gehört zur Serpin B-Gruppe und ist ein irreversibler Serin-Protease-Inhibitor [153]. Proteasen sind Enzyme, welche durch Hydrolyse Aminosäuren in der Polypeptidkette von Proteinen spalten. Serin-Proteasen im Speziellen spielen eine wichtige Rolle in der Blutgerinnung, der inflammatorischen Entzündungsreaktion sowie im Verdauungstrakt und bei der Zellmigration. Serin-Protease-Inhibitoren, auch als Serpine bezeichnet, regulieren die enzymale Aktivität durch Bindung und Konformationsänderung der Serinprotease, was zu einer irreversiblen Hemmung führt [3, 144].

Serpin B7 wird primär in der Niere produziert. Die Expression kann bei renalen Erkrankungen mit mesangialer Proliferation und/oder Dysregulation, wie zum Beispiel bei einer IgA-Nephropathie oder einer diabetischer Nephropathie, hochreguliert sein [78]. Serpin B7 wird jedoch auch in anderen Bereichen des Körpers, beispielsweise in der palmoplantaren Haut exprimiert. Auch in der Forschung zur Migration von Krebszellen gibt es Zusammenhänge mit erhöhten Serpin B7-Spiegeln [34].

Ein Zusammenhang zwischen erhöhten Serpin B7 Plasmaspiegeln und einer nachfolgenden Frühgeburt zwischen 28 und der 34 SSW sowie einem kürzeren Entbindungsintervall wurde erstmalig 2014 beobachtet [137]. Weiterführende Untersuchungen liegen bisher nicht vor.

1.6.2 CCL2 und CXCL10

CCL2 und CXCL10 sind den Chemokinen zuzuordnen.

Chemokine sind kleine Proteine (8-15 kD) und gehören zur Übergruppe der Zytokine. Sie bestehen aus 70-90 Aminosäuren und spielen eine Rolle bei der Rekrutierung und Migration von Immunzellen [98]. Es gibt mehr als 50 Chemokine, welche sich in vier Untergruppen aufteilen lassen, die CC-, CXC-, CX₃C- und C-Chemokine. Voraussetzung für die Wirkung der Chemokine im Körper ist die Expression von spezifischen G-Protein gekoppelten Chemokin-Rezeptoren, beispielsweise auf im Blut zirkulierenden Leukozyten. Leukozytäre Zellen wie Monozyten, Lymphozyten und Granulozyten können über ihre oberflächlichen Polysaccharidgruppen mit Selektinen und Integrinen des Endothels in Kontakt treten [63]. Anschließend führen Integrine zur festen Anheftung der Leukozyten an das Gewebe, gleichzeitig binden auf den Leukozyten befindliche Chemokin-Rezeptoren an Glykosaminoglykane und initiieren die lokale Anreicherung von Chemokinen. Durch die Immobilisierung der Chemokine und die daraus resultierende lokale Konzentrationserhöhung

kommt es zu einer Leukozytentransmigration durch das Endothel entlang des ansteigenden Chemokingradienten [161]. Chemokine führen so zu einer Aktivierung und Migration von Leukozyten. Dieser Vorgang wird Chemotaxis genannt (Abb. 4).

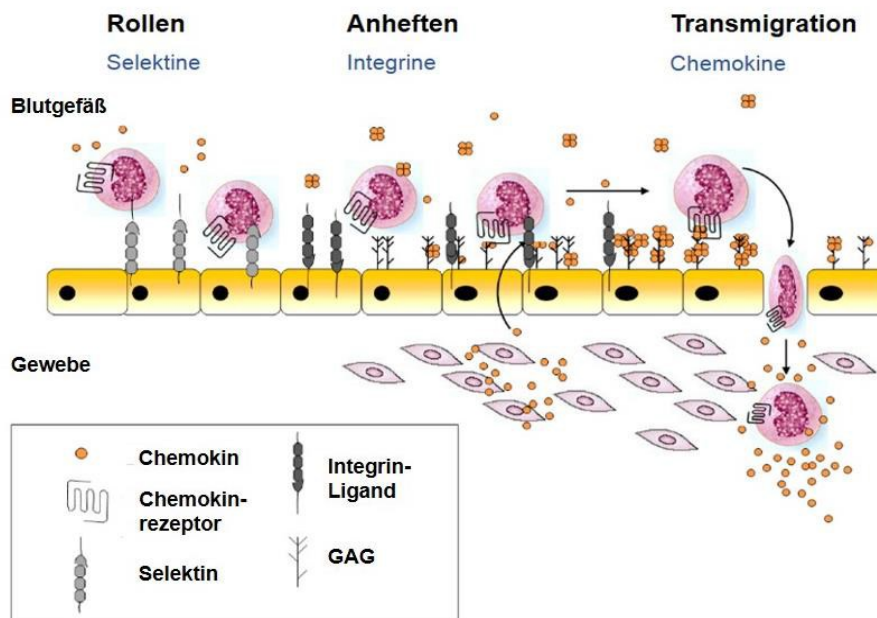


Abbildung 4: Chemokinattraktion und -migration bei lokaler proinflammatorischer Reaktion, modifiziert nach Proudfoot et al [142] [64]

Neben der Leukozytenmigration ins Gewebe spielen Chemokine eine wichtige Rolle bei zahlreichen physiologischen Prozessen, wie der zellulären Aktivierung und Differenzierung, der Umstrukturierung von extrazellulärer Matrix und der Angiogenese [155].

CCL2

CCL2, auch bekannt als MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein 1), ist eines der bisher am besten erforschten Chemokine und gehört zur Untergruppe der CC-Chemokine, deren Gene auf Chromosom 17 lokalisiert sind [81]. CCL2 besteht aus 76 Aminosäuren und wird von verschiedenen Zellarten, unter anderem Fibroblasten, Endothelzellen, Astrozyten, Gliazellen, myeloischen Zellen und glatten Muskelzellen, produziert (Abb. 5) [10, 39, 156]. Die Expression von CCL2 wird im Rahmen einer Entzündungsreaktion durch den Kontakt mit Interleukinen, insbesondere durch Interleukin 6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF α) induziert. CCL2 kann sowohl im Blutkreislauf als auch in verschiedenen Gewebearten nachgewiesen werden und lockt nicht nur Monozyten, sondern auch T-Zellen, B-Zellen, natürliche Killerzellen (NK-Zellen) und Makrophagen an. Durch Bindung von CCL2 an seinen Rezeptor CCR2 (Isoformen CCR2A und CCR2B) wird eine G-Protein-gekoppelte Reaktion, gefolgt von mehreren intrazellulären Signalkaskaden in den Zielzellen, ausgelöst [41, 65]. Des Weiteren

ist CCL2 in der Lage, auch an die atypischen Rezeptoren ACKR1 und ACKR2 zu binden und sich darüber an der Regulation und Formung des Chemokingradienten zu beteiligen [22].

Im Rahmen der Chemotaxis (gerichtete Zellbewegung entlang eines Konzentrationsgradienten) stellt an Endothel gebundenes CCL2 eine Leitsubstanz für die Anziehung von Monozyten und Aktivierung des Transmigrationsprozesses dar und ist in der Lage, über die Regulierung der Integrin-Expression und -Lokalisation die Zelladhäsion am Endothel zu beeinflussen [65]. Zusätzlich zeigt CCL2 pleiotrope Effekte auf myeloide Zellen und beteiligt sich unter anderem an der Makrophagenpolarisierung, Zytokinproduktion, Osteoklastogenese, Induktion eines Respiratory Burst, Endozytose/Phagozytose oder Immunsuppression über myeloide Suppressorzellen (MDSC).

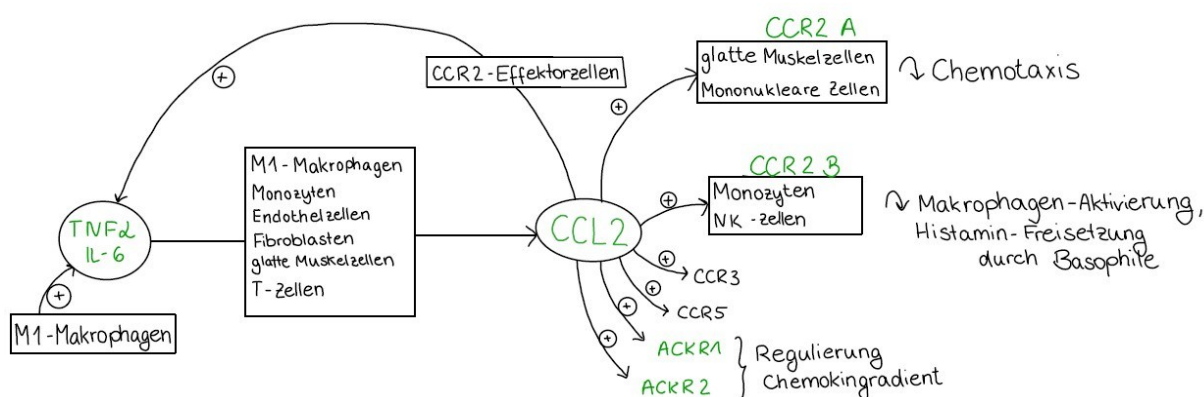


Abbildung 5: Schematische Übersicht CCL2, Darstellung der Aktivierung von CCL2 sowie die Wirkung seinen Rezeptoren

CCL2 wird mit mehreren chronisch-entzündlichen Erkrankungen in Verbindung gebracht und zeigt unter anderem bei Arteriosklerose, rheumatoider Arthritis, Diabetes mellitus, Multipler Sklerose und bei der Entstehung von Metastasen erhöhte Serumkonzentrationen im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden [112, 113, 136]. Auch als diagnostischer Marker für Prostata- und Brustkrebs wurde CCL2 untersucht, da CCL2 Immunzellen in die Mikroumgebung des Tumors zu rekrutieren scheint [36, 119, 140, 166].

Im Rahmen einer Schwangerschaft beteiligt sich CCL2 maßgeblich am Aufbau und der Aufrechterhaltung der Immuntoleranz an der feto-maternalen Grenze [114]. Die deziduale Immunzellen (DIC) an der feto-maternalen Grenze bestehen aus antigenpräsentierenden Zellen (insbesondere Makrophagen), T-Zellen und NK-Zellen [176]. Deziduale Makrophagen exprimieren dabei ähnliche Mengen an CCL2 wie periphere Serum-Makrophagen. Die Expression des CCL2-Rezeptors (CCR2) auf dezidualen CD4⁺ T-Zellen ist jedoch deutlich höher als im peripheren maternalen Blut [70]. Das Zusammenwirken einzelner T-Zell-

Subgruppen, unter anderem Th1-Helferzellen und T-regulatorische Zellen (T-regs), mit anderen Immunzellen, Interleukinen und Chemokinen ermöglicht die Aufrechterhaltung einer physiologischen Balance zwischen pro- und antiinflammatorischen Prozessen. CCL2 spielt dabei eine Schlüsselrolle und kann von mehreren endogenen Faktoren reguliert werden.

Als Chemo-Attraktor ist es in der Lage, große Mengen von Immunzellen aus dem peripheren Blut zur feto-maternalen Grenze zu locken und die Umwandlung in DICs zu fördern [53, 115]. Die vermehrte Freisetzung von CCL2 an der feto-maternalen Grenze führt durch die Rekrutierung peripherer Immunzellen aus dem maternalen Blut zu einer rasch einsetzenden lokalen Inflammation. Die steigende CCL2-Konzentration führt auch zur Ausdifferenzierung von Makrophagen in den proinflammatorischen M1-Typ, welche wiederum ein breites Spektrum an Entzündungsmediatoren im Rahmen einer positiven Rückkopplung freisetzen. CCL2 ist als essenziell beteiligtes Chemokin Gegenstand aktueller Forschung und wird mit pathologischen Veränderungen in der Schwangerschaft, wie dem Auftreten einer Frühgeburt, Chorioamnionitis, Präeklampsie oder pPROM, assoziiert [73, 74, 114, 148].

CXCL10

CXCL10, auch bekannt als IP-10 (Interferon- γ -inducible protein 10kD), gehört zur Untergruppe der CXC-Chemokine, dessen Gene auf Chromosom 4 lokalisiert sind [81]. CXCL10 besteht aus 98 Aminosäuren und wird unter dem Einfluss von Interferon γ (IFN- γ) von verschiedenen Zelltypen, beispielsweise von Neutrophilen, Monozyten, T-Zellen, Fibroblasten, Endothelzellen und Keratinozyten produziert (Abb. 6) [6, 139]. CXCL10 teilt sich den gemeinsamen Rezeptor mit den strukturell verwandten Chemokinen CXCL9 und CXCL11. Die G-Protein-gekoppelte Rezeptorhauptform, CXCR3A, kann durch alle drei Liganden aktiviert werden und führt unter anderem zu einem intrazellulären Calciumanstieg und der Aktivierung von peripheren Immunzellen wie Monozyten und natürlichen Killerzellen. Des Weiteren beteiligt sich das Chemokin über die Aktivierung des Rezeptors an der T-Zell-Migration ins Gewebe, der Regulierung des Zellwachstums und der Modulation von Adhäsionsmolekülen [169, 131]. CXCR3A ist auf T-Zellen, Pneumozyten sowie pulmonalen, hepatischen, renalen Fibroblasten und auch in der Placenta exprimiert [117]. Zusätzlich sind zwei weitere CXCR3-Isoformen (CXCR3B und CXCR3-alt) bekannt. Neben der regulären Bindung an den CXCR3A-Rezeptor, weist CXCL10 die höchste Affinität zur Rezeptor-Isoform CXCR3B auf, welcher unter anderem eine zusätzliche antiangiogene Wirkung zeigt [103]. Weitere Funktionen von CXCL10 in hohen Konzentrationen liegen in der vollständigen Antagonisierung von CCR3 und der Interaktion mit Glykosaminoglykanen (GAGs).

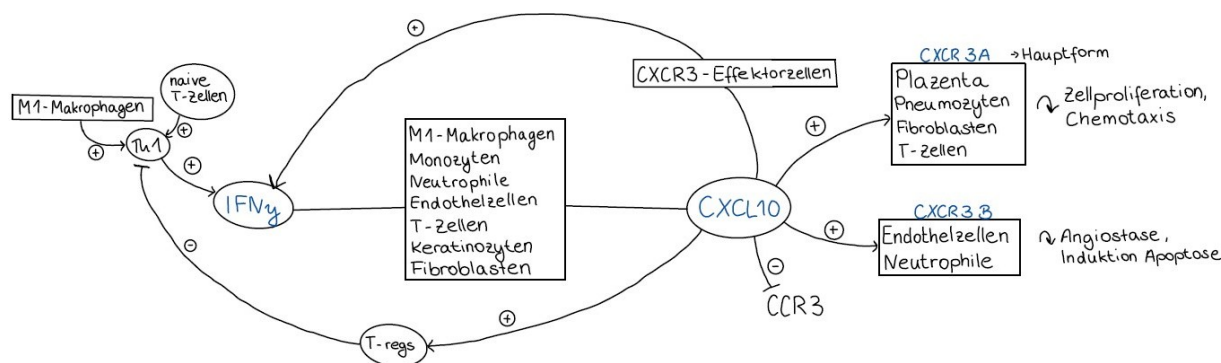


Abbildung 6: Schematische Übersicht CXCL10, Darstellung der Aktivierung von CXCL10 sowie die Wirkung an seinen Rezeptoren

Die Serum- und Gewebeexpression von CXCL10 ist vor allem bei Autoimmunerkrankungen wie systemischer Sklerose oder systemischem Lupus erythematodes (SLE), aber auch bei lokalen organspezifischen Autoimmunerkrankungen wie Typ-1-Diabetes oder Morbus Basedow oder bei chronisch entzündlichen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis erhöht [108, 109, 149]. Zudem zeigen sich multiple Zusammenhänge zu pulmonalen Erkrankungen wie Lungen-Tuberkulose oder bei COVID-19 [179, 180].

CXCL10 wird in der Plazenta von dezidualen Stroma- und Epithelzellen und von endometrialen Endothelzellen produziert und ist in der Frühschwangerschaft ebenfalls maßgeblich an der Trophoblastenmigration und dem Remodelling der Spiralarterien beteiligt [46, 97]. CXCL10 ist in der Lage, an den CXCR3-Rezeptor auf Trophoblastzellen zu binden und somit in der Frühschwangerschaft das Überleben des villösen Zytotrophoblasten und die Migration des extravillösen Trophoblasten (EVT) zu sichern [47, 135, 107]. Des Weiteren ist CXCL10 bei der Migration von peripheren NK-Zellen (pNK), insbesondere der Subgruppen CD56 und CD16- pNK-Zellen, durch Endothel- und Stromazellen in die Dezidua involviert [29, 126]. Deziduale NK-Zellen (dNK) fördern durch die Produktion von CXCL10 und IFN γ die Invasion des Trophoblasten in die Spiralarterien [69, 106].

Im weiteren Verlauf der Schwangerschaft stimuliert eine pathologisch erhöhte intraamniotische Konzentration und Interaktion von CXCR3 mit seinen über IFN γ induzierten Liganden (CXCL9, CXCL10, CXCL11) die Attraktion und Migration von maternalen peripheren zytotoxischen T-

Zellen in die Dezidua und in das Chorion, welche proinflammatorisches Th1 produzieren und die Synthese von antiinflammatorischen Th2-Zytokinen unterdrücken [62, 123].

Die Produktion von CXCL10 wird auch in essenziellem Maß von IL-27 und NF- κ B gesteigert. NF- κ B ist ein spezifischer Transkriptionsfaktor, der eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Immunantwort, Zellproliferation und auch Zellapoptose spielt. Die Aktivierung gilt als primärer Faktor für die pathophysiologische Entstehung von (Hypoxie-bedingter) Inflammation und Infektion durch die nachgeschaltete Freisetzung von Chemozytokinen, einer Aktivierung von Neutrophilen und einer gesteigerten Produktion von Prostaglandinen [62, 90]. Intrauterin gehen diese Reaktionen insbesondere von Plazenta und Eihaut aus und können in einer erhöhten Kontraktilität des Myometriums, der Verkürzung des Gebärmutterhalses, einem Blasensprung sowie einer spontanen Frühgeburt resultieren [88]. IL-10 wirkt dabei als starker antiinflammatorischer Gegenspieler von NF- κ B und hemmt die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen (CXCL10, CCL2) sowie von Prostaglandinen [50, 82]. In pathologischen Schwangerschaften (Frühgeburtlichkeit, Triple I) konnte eine verminderte plazentare IL-10 Expression und somit gesteigerte Wirkung von NF- κ B und CXCL10 detektiert werden [147]. IL-27 fördert die lokale Inflammation durch die Differenzierung und Funktion der Th1-Zellen und Freisetzung von CXCL10 ausgehend von der Eihaut [173]. Kürzlich wurde in Studien auch erhöhte maternale periphere IL-27 Konzentrationen mit dem Auftreten von Frühgeburten assoziiert [126, 178].

CXCL10 ist Gegenstand aktueller Forschung, wobei insbesondere Zusammenhänge zu infektionsassoziierten intrauterinen Komplikationen wie Chorioamnionitis im Zentrum der Aufmerksamkeit stehen [92, 93, 107, 123].

2 Zielstellung

Die bisher verfügbaren diagnostischen Mittel, darin inbegriffen die transvaginale sonographische Messung der Cervixlänge und die Testung der Biomarker in der Cervicovaginalflüssigkeit, haben einen hohen negativ prädiktiven Wert. Keiner der Tests weist jedoch eine zufriedenstellende Sensitivität und einen hinreichend positiv-prädiktiven Wert auf. Im Vergleich zu Biomarkern aus Cervicovaginalflüssigkeit sind prädiktive Biomarkern aus maternalem Blut nur wenig untersucht. Im Rahmen einer prospektiven Studie wurden die Serumkonzentrationen der potentiell prädiktiven Biomarker CXCL10, CCL2 und Serpin B7 bei Frauen mit klinischen Zeichen einer drohenden Frühgeburt bestimmt.

Primäres Studienziel war die Erforschung des Zusammenhanges zwischen der Serumkonzentration des Biomarkers und dem nachfolgenden Auftreten einer frühen Frühgeburt unter 34 SSW. Sekundäre Endpunkte waren das Auftreten einer Frühgeburt unter 37 SSW sowie innerhalb von 7 Tagen nach Studieneinschluss.

3 Material und Methoden

3.1 Materialien

Alle Untersuchungen erfolgten im Forschungslabor der Universitäts-Frauenklinik im Klinikum Südstadt Rostock mit den dort zur Verfügung gestellten Laborgeräten sowie Materialien.

3.1.1 Laborgeräte

Tabelle 2: Verwendete Laborgeräte

Instrument	Produktname	Hersteller / Hauptsitz
Vortexer	Mono Mixer	Sarstedt, Inc. / Nümbrecht, Deutschland
Kühltruhe		SANYO / Ōsaka, Japan
Kühlschrank	Profiline	Liebherr / Bulle, Schweiz
Inkubator		Memmert GmbH / Schwabach, Deutschland
Mikroplate Reader	Micoplate Reader Modell 680	Bio-Rad Laboratories, Inc. / Hercules, Kalifornien, USA
Schüttler	Amerlite Schüttler/Inkubator	GE Healthcare Buchler GmbH & Co.KG /München, Deutschland

3.1.2 Gebrauchs- und Verbrauchsmaterialien

Tabelle 3: Gebrauchs- und Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Hersteller / Hauptsitz
1,5 ml Eppendorf Röhrchen	Eppendorf AG / Hamburg, Deutschland
5 ml Eppendorf Röhrchen	
Pipette, Multikanalpipette	
Pipetten-Aufsätze	

3.1.3 Chemikalien / ELISA-Kits

Für die Immunoassays wurden mit humanspezifischen monoklonalen Antikörpern vorbeschichtete Kits (96-well Platten inklusive aller benötigten Chemikalien) genutzt. Insgesamt wurden drei Sets für CXCL10 und CCL2 und ein Set für Serpin B7 verwendet.

Tabelle 4: Hersteller und Eigenschaften der verwendeten ELISA-Kits

Serum-marker	Hersteller	Katalog-Nummer	Detektionsbreite	Intra-Assay-Variabilität	Inter-Assay-Variabilität	Minimales Detektionslimit (Sensitivität)
Serpin B7	MyBioSource, Inc. (San Diego, USA)	MBS 2610991	0,3112 – 20 ng/ml	<8 %	<12 %	0,06 ng/ml
CXCL10 (Human IP-10)	BOSTER BIOLOGICAL TECHNOLOGY (Pleasanton, Kalifornien)	EK0735	31,2 – 2000 pg/ml	<8 %	<10 %	<1 pg/ml
CCL2 (Human MCP-1)	BOSTER BIOLOGICAL TECHNOLOGY (Pleasanton, Kalifornien)	EK0441	15,6 – 1000 pg/ml	<8 %	<8 %	<1 pg/ml

3.2 Registrierung und Genehmigung der Studie

Die lokale Ethikkommission der Universität Rostock (IRB Nr. A2016-0162) hat das Protokoll der Studie genehmigt. Die Studie wurde auch im Deutschen Register für Klinische Studien registriert (DRKS-ID: DRKS00010763). Von allen Teilnehmern wurde eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt.

3.3 Probengewinnung, Lagerung und Vorbereitung

Die im Rahmen der vorliegenden Dissertation durchgeführten Untersuchungen sind Teil der prospektiven „Analysis of diagnostic accuracy of predictive biomarkers in risk assessment of threatening preterm birth“ (ADAPROB)-Studie. Hierbei wurden zwischen Januar 2017 und April 2019 prospektiv insgesamt 109 schwangere Frauen in die Studie eingeschlossen, welche mit Verdacht auf eine drohende Frühgeburt im Kreißsaal der Universitätsfrauenklinik Rostock vorstellig waren. Einschlusskriterien waren ein Gestationsalter zwischen 20+0 und 31+6 SSW, einem Probandinnenalter ≥ 18 Jahren und das Vorliegen von mindestens einem der nachfolgenden Zeichen einer drohenden Frühgeburt: regelmäßige ($>3/30$ min) oder schmerzhafte Kontraktionen, eine Cervixlänge <25 mm oder mindestens eine vorausgegangene Frühgeburt in der Eigenanamnese. Allerdings zeigten alle eingeschlossenen Frauen (auch die mit anamnestischer Frühgeburt) bei Aufnahme mindestens ein klinisches Zeichen einer spontanen Frühgeburt. Mehrlingsschwangerschaften

waren erlaubt. Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren eine Muttermundseröffnung über 3 cm, ein liegender Cerclage-Faden oder ein liegendes Cerclage-Pessar, eine maternale Körpertemperatur über 37,5 Grad Celsius, ein vorzeitiger Blasensprung sowie vaginale Blutungen, eine vorausgegangene vaginale Untersuchungen oder vaginaler Ultraschall innerhalb der letzten sechs Stunden, Geschlechtsverkehr innerhalb der letzten 24 Stunden oder ein vaginaler pH-Wert von $\geq 5,0$ (alle Parameter bei Erstvorstellung). Von der Studie ausgeschlossen wurden ebenfalls Patientinnen mit stattgehabter Tokolyse-Behandlung innerhalb der letzten sieben Tage, diagnostizierter hypertensiver Schwangerschaftserkrankung oder Frauen mit Notwendigkeit einer iatrogen indizierten Entbindung innerhalb der nächsten sieben Tage. Nach entsprechender Aufklärung und Unterzeichnung der Einverständniserklärung der Probandinnen erfolgte eine ausführliche Befragung zur gynäkologisch-anamnestisch relevanten Angaben und anschließend die Gewinnung von Blutproben im Rahmen der regulären klinisch indizierten Blutentnahme bei Aufnahme in die Klinik durch die zusätzliche Abnahme eines Serumröhrchens (ca. 7,5 ml Vollblut). Die Blutproben wurden anschließend bei 4000 Umdrehungen pro Minute für 15 Minuten zentrifugiert und das gewonnene Serum separiert und bis zur Weiterverarbeitung bei - 80 Grad Celsius gelagert.

Der Parameter CRP wurde im Rahmen der Routineuntersuchung der klinischen Diagnostik mithilfe eines Latex-verstärkten nephelometrischen Immunoassays (CardioPhase® hsCRR) an einem Siemens BN ProSpec System (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) bestimmt.

Weitere bei Studienaufnahme durchgeführte Untersuchungen waren unter anderem eine vaginale Sonografie zur Bestimmung der Länge des Muttermundes und die Entnahme einer cervicovaginalen Probe. Die Analyse der cervico-vaginalen Biomarker und die Reevaluation der Cervixlänge sowie des cervico-uterinen Winkels als mögliche prädiktive Marker erfolgten im Rahmen einer weiteren Promotionsarbeit durch Frau Kathleen Gründler [64, 157].

Im Verlauf der Studie wurden die Probandinnen nach klinischen Standards im Rahmen der national gültigen Richtlinien im Ermessen der Ärzte im Anbetracht des individuellen Risikoprofils behandelt und Daten zur Therapie und zum Outcome zusammengetragen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit habe ich die nach Abschluss der Patientenrekrutierung asservierten Serumproben weiterverarbeitet und analysiert. Die Ergebnisse wurden anschließend gemeinsam mit den vorliegenden Patientendaten ausgewertet.

3.4 Allgemeine Funktionsweise eines Sandwich-ELISA-Tests

Der Sandwich-ELISA (antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay) ist ein biochemisches immunologisches Verfahren, das verwendet wird, um die Konzentration eines bestimmten Antigens (AG) in einer Lösung zu bestimmen. Dazu wird eine Platte mit 96 sogenannten „wells“ (einzelnen Reaktionskammern) benutzt. Diese werden initial mit einem spezifischen Antikörper, dem sogenannten „Capture-Antikörper“ gegen das zu bestimmende Antigen beschichtet und die freien Bindungsstellen chemisch blockiert. Im zweiten Schritt wird die zu untersuchende Lösung in die Reaktionskammern der Mikrotiterplatten gegeben und die Platte wird inkubiert. Nun binden die Antigene der Lösung an ihren Antikörper, welcher an der Oberfläche der Reaktionskammern fixiert ist [8]. Durch das anschließende Auswaschen der Platte werden überschüssige Antigene entfernt. Anschließend wird ein zweiter spezifischer Antikörper hinzugegeben, der an das Antigen an einem anderem Epitop bindet. Nach der sich anschließenden Inkubation und dem Waschvorgang wird ein enzymmarkierter Sekundärantikörper hinzugefügt, welcher an den ersten Antikörper bindet [52]. Nach erneuerter Inkubation wird die Platte zum dritten Mal gewaschen. Zuletzt wird ein Farbreagenz hinzugefügt, welches mit dem Enzym reagiert. Die Reaktion wird von einer Stopplösung beendet (Abb. 7). Abhängig von der Menge des in der Lösung vorhandenen Antigens findet eine unterschiedlich intensive Farbreaktion statt. Zur Berechnung der Konzentration wird eine Standardreihe mit den gleichen Schritten erstellt, bei denen Lösungen mit bekannten Antigenkonzentrationen verwendet werden. Aus den Extinktionswerten der bekannten Konzentrationslösungen wird eine Standardkurve erstellt. Die Konzentration der Proben kann anschließend mithilfe einer Rückrechnung aus der Standardkurve ermittelt werden.

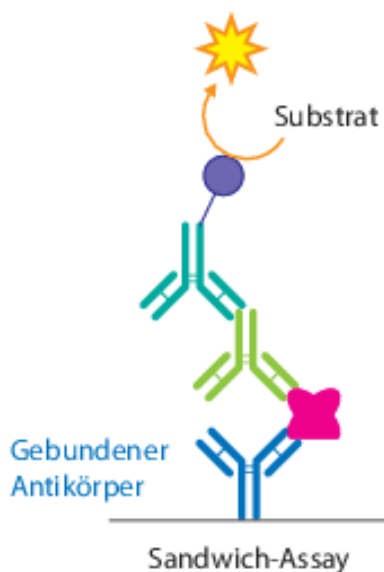


Abbildung 7: Modell eines Sandwich-ELISA: fixierter spezifischer Capture-AK (blau) mit gebundenem Antigen (rosa) und zweitem spezifischem AK (grün), an welchen der enzymgebundene AK bindet (türkis mit lila Enzym) [49]

3.5 Durchführung der Biomarker - Immunoabsorbent-Assays

Nach dem Auftauen der Serumproben erfolgte eine Aliquotierung auf je 4 x 300 µl pro Eppendorf-Röhrchen (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) für die zu bestimmenden drei Biomarker und ein Ersatz-Röhrchen. Die Aliquoute wurden bis kurz vor Verwendung im Kühlschrank (Profiline, Liebherr, Schweiz) bei 6 Grad Celsius gelagert.

Es wurden ELISA-Kits von MyBioSource, Inc. (San Diego, USA) und BOSTER biological technology (Pleasanton, Kalifornien; siehe Tab. 4) verwendet. Die Mikrotiterplatten für die spezifischen Serummarker waren bereits von den Firmen mit dem Capture-Antikörper vorbeschichtet. Die Durchführung der Tests erfolgte anhand der Arbeitsanweisung des Herstellers.

Die Arbeitsschritte werden nachfolgend aufgelistet (am Beispiel von CXCL10):

1. Passives Erwärmen des ELISA-Kits sowie der Proben auf Raumtemperatur
2. Herstellen der Standard-Stammlösung, indem der gefriergetrocknete Biomarker-Standard (10 ng CXCL10) mit der vorgegebenen Probenverdünnung (davon 1 ml) vermengt wird.
3. Herstellen der zugehörigen Verdünnungsreihe mit sieben Verdünnungslösungen nach Herstelleranleitung. Die Verdünnungsreihe hat anschließend die folgenden CXCL10-Konzentrationen: 2000 pg/ml; 1000 pg/ml; 500 pg/ml; 250 pg/ml; 125 pg/ml; 62,5 pg/ml; 31,25 pg/ml. Ein zusätzliches achtes Röhrchen ist das Kontroll-Röhrchen, es enthält ausschließlich Probenverdünnungs-Lösung und hat somit eine CXCL10-Konzentration von 0 pg/ml.
4. Befüllen der Reaktionskammern (jeweils 100 µl) mit der Verdünnungsreihe inklusive der Kontrolllösung und den unverdünnten Serumproben der Probandinnen, dabei werden jeweils Doppeltbestimmungen durchgeführt. (Abb. 8A)
5. Abdecken der Mikrotiterplatte und Inkubieren im Inkubator (Memmert GmbH, Deutschland) bei 37 Grad Celsius für 90 Minuten, währenddessen Herstellen der spezifischen AK-Lösung und der Waschpuffer-Lösung
6. Leeren der Mikrotiterplatte (zusätzlich bei Kit Serpin B: 2-facher Waschvorgang, siehe Schritt 8)
7. Hinzufügen von jeweils 100 µl der AK-Lösung in die Reaktionskammern (Abb. 8B)
8. Abdecken und Inkubieren der Mikrotiterplatte bei 37 Grad Celsius für 60 Minuten, währenddessen Herstellen der enzymkonjugierten AK-Lösung
9. Leeren der Mikrotiterplatte, 3-facher Waschvorgang: dazu jeweils 350 µl pro Reaktionskammer mit Waschpuffer füllen und nach 30 Sekunden gründlich leeren
10. Befüllen der Reaktionskammern mit jeweils 100 µl der enzymkonjugierten AK-Lösung
11. Abdecken und Inkubieren der Mikrotiterplatte bei 37 Grad Celsius für 30 Minuten (zusätzlich bei Kit Serpin B7: Herstellen der Farblösung aus Farbreagenz A+B)

12. Leeren der Mikrotiterplatte und 5-facher Waschvorgang (siehe 8)
 13. Befüllen der Reaktionskammern mit je 900 μ l des Farbreagenz, anschließend Inkubieren bei 37 Grad für 20 Minuten (Abb. 8C)
 14. Abstoppen der Farbreaktion durch Hinzufügen von jeweils 100 μ l Farbreagenz C / „Stopp-Lösung“ pro Reaktionskammer (Abb. 8D)
 15. Vermischen der Reagenzien im Schüttler (Amerlite, GE Healthcare Buchler GmbH & Co.KG, Deutschland) für 10 Sekunden
 16. Analyse und Auslesen der Werte im Mikroplatten-Photometer (Bio Rad, Microplate Reader Modell 680, Wellenlänge 450 nm)
- Es erfolgten jeweils Doppelbestimmungen.

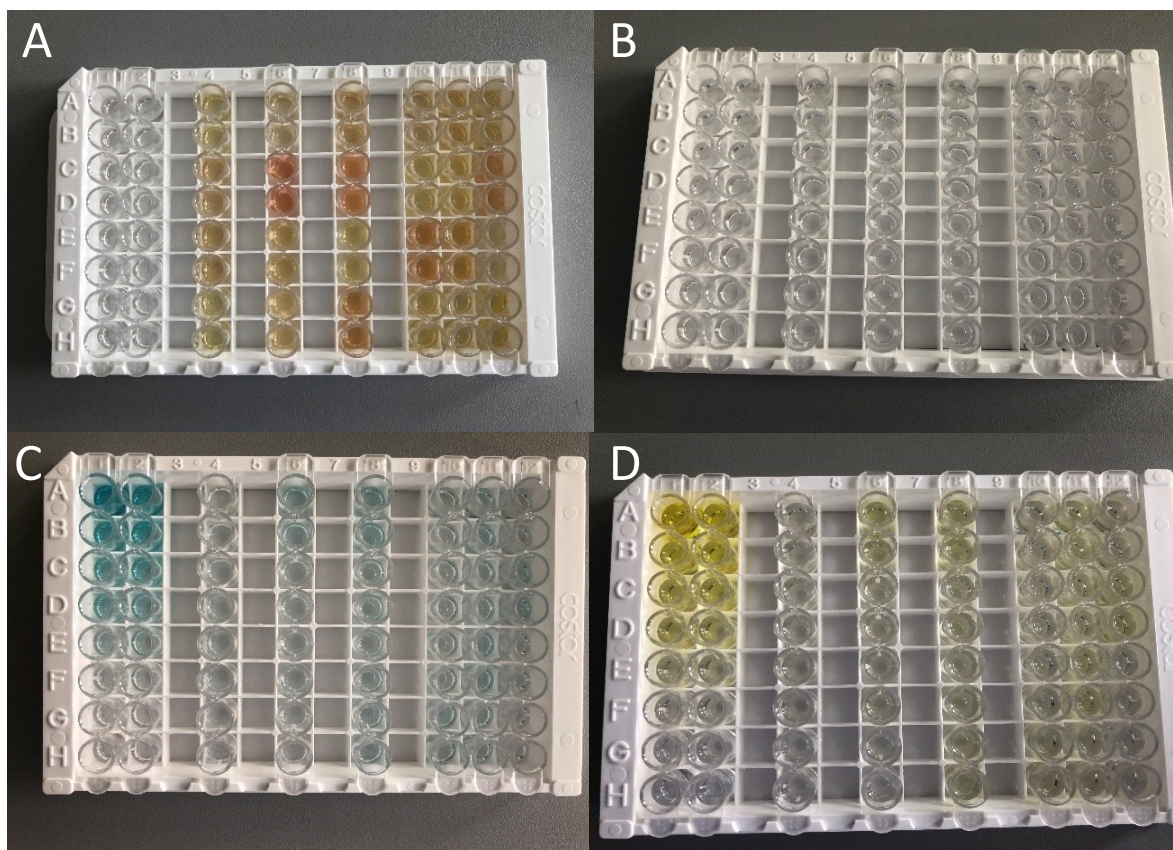


Abbildung 8: ELISA-Platte **A** mit Standard- Verdünnungsreihe 1+2 mit Doppelbestimmung nebeneinander und Probenreihen 4, 6, 8, 10, 11, 12 mit Doppelbestimmung der Proben untereinander, **B** Nach Auswaschen und Hinzugabe der Antikörperlösung, **C** nach Inkubation mit Farblösung, **D** nach Abstoppen der Farbreaktion vor Bestimmung der Extinktionen im Mikroplatten-Photometer

3.7 Standardkurve und Berechnung der Proteinkonzentration

Zur Konstruktion der Standardkurven wurde Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) verwendet. Zunächst wurde eine Tabelle für die Rekonstruktion der Standardkurve mit den bekannten Konzentrationswerten und den abgelesenen Extinktionen angelegt. Durch die Bestimmung von Doppeltwerten wurden die Extinktions-Mittelwerte der zusammengehörigen Paare berechnet. Im Rahmen jeder Mikroplatten-Testreihe wurde zudem ein Kontroll-Paar angelegt, in der sich Probenverdünnungs-Lösung ohne Zugabe von Serum oder verdünntem Biomarker befand. Dieses Paar wurde während der Durchführung des ELISA-Tests entsprechend der anderen Proben behandelt. Der berechnete Extinktions-Mittelwert des Kontrollpaares wird als „Nullwert“ bezeichnet und von den jeweiligen Extinktionswerten der Verdünnungsreihe sowie der Serumproben abgezogen.

Mittels der polynomen Funktion erfolgte die grafische Darstellung der Standardkurve (Abb. 9). Basierend auf den berechneten Mittelwerten der spezifischen Extinktionen (y) erlaubt die Formel anschließend die Berechnung der Antigenkonzentrationen der Biomarker im Probenserum (x) [56, 122]. Die Mittelwerte der Proben-Extinktionen wurden in die Formel eingesetzt.

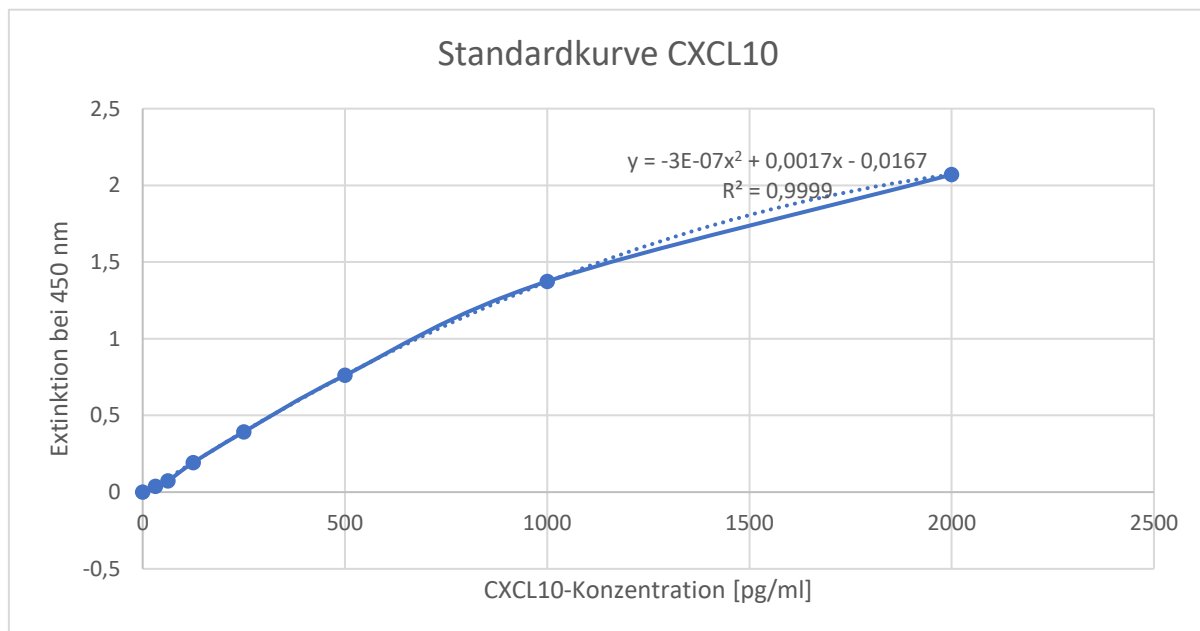


Abbildung 9: Beispiel einer Standardkurve (hier für CXCL10), Extinktions-Mittelwerte der Standardreihe, gemessen bei 450 nm, angegeben mit polynomer Trendlinie ($y = -3E-07x^2 + 0,0017x - 0,0167$) und Bestimmtheitsmaß ($R^2=0,9999$), welches die Anpassungsgüte der Regression wiedergibt. Nach Umstellung der Funktion ergibt sich die Formel

$$x = 2125 - 11,18 * \sqrt{35657 - 20000 * y}$$

zur Berechnung der Serumkonzentrationen der einzelnen Biomarker (x).

3.8 Auswertung und statistische Berechnungen

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mithilfe von IBM SPSS Statistics 27 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) und der Statistiksoftware R 4.2.2 mit R-studio (2022.12.0) und den Paketen ggplot2 Version 3.4.0 und plotRoc Version 2.3.0. Es erfolgte die Zuweisung der Probandinnen in drei Entbindungsgruppen. Entbindungsgruppe I umfasste alle Probandinnen mit einer Frühgeburt vor 34 vollendeten Schwangerschaftswochen und Entbindungsgruppe II alle Geburten zwischen 34+0 und 36+6 SSW. Der Gruppe III wurden alle Probandinnen mit Geburt nach 37 SSW zugeordnet. Die folgenden Untersuchungen wurden für jeden der drei Biomarker separat angefertigt. Die deskriptive Statistik schloss die Berechnung von Minima, Maxima, Mittelwerten, dem Median, der Standardabweichung und dem Interquartilsbereich für die jeweiligen Entbindungsgruppen ein. Die graphische Darstellung der Werteverteilung (Konzentration der einzelnen Biomarker in Bezug auf das Gestationsalter bei Entbindung oder das Entbindungsintervall) erfolgte mithilfe von Boxplot-Diagrammen.

Die Auswahl der Testverfahren beruhte auf dem Ergebnis des Kolmogorov-Smirnov-Tests. Die Prüfung von Unterschieden zwischen den Gruppen bei kontinuierlichen Variablen erfolgte bei nicht-normalverteilten Stichproben mithilfe von nichtparametrischen Tests. Abhängig von der Anzahl der Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test beim Vergleich zweier Gruppen oder der Kruskal-Wallis Test bei mehr als zwei Gruppen durchgeführt. Zum Vergleich von zwei kategorischen Variablen zwischen den normalverteilten Gruppen wurde der exakte Test nach Fisher, beziehungsweise der Chi-Quadrat-Test durchgeführt, im Ergebnis wurde sowohl die absolute als auch die relative Häufigkeit angegeben. Beim Vergleich aller drei Entbindungsgruppen wurde die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) verwendet. Die Beziehung zwischen den Biomarkern und der verbleibenden Schwangerschaftsdauer wurde mithilfe der Korrelationsanalyse nach Pearson und der Angabe des Korrelationskoeffizienten (r) analysiert.

Zur Testcharakterisierung der Biomarker wurden Receiver-Operating-Characteristics-Kurven (ROC-Kurven) verwendet. Der optimale Cut-off-Wert (minimaler Abstand zu Sensitivität und Spezifität von 1) wurde anhand der folgenden Gleichung berechnet: $(1 - \text{Sensitivität})^2 + (1 - \text{Spezifität})^2$. Zur Berechnung der diagnostischen Kriterien wurde ein zweiter diagnostischer Cut-off-Wert mit einer fixen Spezifität von 0,9 gewählt. Die dazugehörige Fläche unter der Kurve (AUC) sowie das Konfidenzintervall wurde berechnet. Zur Überlebenszeitanalyse (entsprechend der Zeit bis zur Entbindung) wurde die Kaplan-Meier-Methode in Kombination mit dem Log-Rank-Test angewendet.

Die Auswirkung von Mehrlingsgeburten auf CCL2, CXCL10 und das CXCL10/CCL2-Verhältnis in Abhängigkeit vom Gestationsalter bei der Geburt wurde in einem unabhängigen Modell mit

einer zweifaktoriellen ANOVA berechnet. Alle p-Werte wurden mit zweiseitigen statistischen Tests ermittelt, und Werte $< 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen.

Ein multiples logistisches Regressionsmodell wurde verwendet, um die Prädiktion des Modells zu verbessern. Eingeschlossen wurden die folgenden Risikofaktoren für eine Frühgeburt: Anwendung von Reproduktionsmedizin, Mehrlingsschwangerschaft, Zervixlänge < 25 mm, Zervixlänge < 20 mm, vorausgegangene Frühgeburt, maternales Alter > 35 Jahre, Adipositas (BMI > 30 kg/qm), subjektive Wehen, CXCL10/CCL2-Ratio $> 2,2$. Der Einschluss erfolgte sequenziell in der Reihenfolge der Größenordnung der nicht adjustierten Odds Ratios (OR), beginnend mit der größten Schätzung. Variablen, welche das Modell nicht verbesserten wurden entfernt.

Vor Studienbeginn wurde eine Berechnung des Stichprobenumfangs mit einem logistischen Regressionsmodell unter Verwendung der Statistiksoftware G*Power 3.1.9.2 durchgeführt. Die geschätzte a priori-Wahrscheinlichkeit für eine Entbindung < 34 vollendeten Gestationswochen wurde auf 15 Prozent festgelegt, was zu einer berechneten Stichprobengröße von 139 Patientinnen bei einer angenommenen Post-Test-Wahrscheinlichkeit von 30 Prozent, einem α -Fehler von 0,05 und einer Power von 90 Prozent führte. Die Rekrutierung für die Studie wurde a priori auf einen Zeitraum von zwei Jahren begrenzt. Zu diesem Zeitpunkt betrug die Stichprobengröße 109 Patienten, was in einer zweiseitigen Post-hoc-Power-Analyse einer statistischen Power von > 99 Prozent entspricht.

4 Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristika

Es konnten 109 schwangere Patientinnen, darunter 14 Frauen mit Mehrlingsgraviditäten, in die Studie eingeschlossen werden. Sechzehn Frauen wurden vor der vollendeten 34. Schwangerschaftswoche (14,67 %) und zwanzig Frauen zwischen 34+0 und 36+6 SSW (18,34 %) entbunden. Sechs Patientinnen (5,5 %) wurden innerhalb von sieben Tagen entbunden. 73 von 109 Frauen (66,97 %) hatten eine Geburt nach vollendeten 37 SSW (Abb. 11). Die Frühgeburtenrate betrug insgesamt 33 Prozent. Im Vergleich zwischen den Entbindungsgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Patientenalter, Größe oder Gewicht vor der Schwangerschaft. Das Gestationsalter bei Studieneinschluss lag im Median bei 26+2 SSW (IQR 24+1 – 29+1) und zum Entbindungszeitpunkt bei 38+4 SSW (IQR 35+6 – 39+4). Das mediale Entbindungsintervall für die gesamte Studienkohorte wurde mit 76 Tagen (IQR 57-101) berechnet. Das Entbindungsintervall in Studiengruppe I mit Entbindung <34 SSW lag im Median bei 21 Tagen (IQR 5-48).

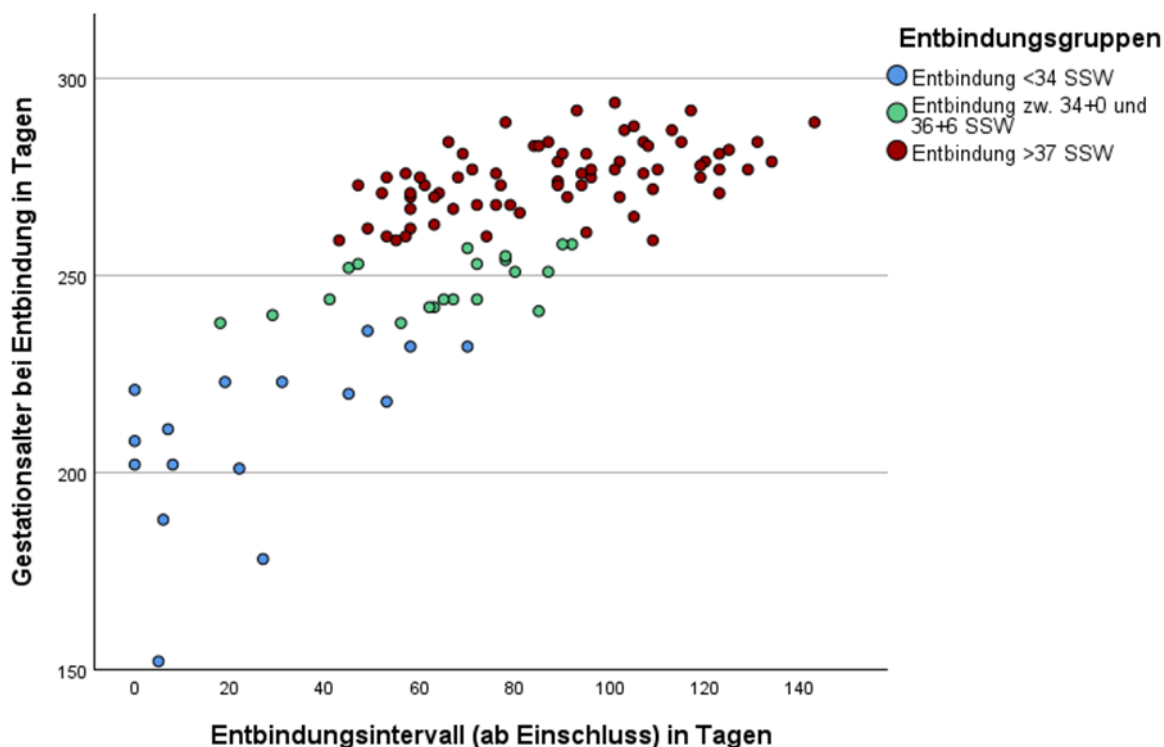


Abbildung 10: Gestationsalter bei Entbindung in Abhängigkeit vom Entbindungsintervall ab Studieneinschluss, Anzahl der Probandinnen insgesamt n=109, farbliche Einteilung in Entbindungsgruppen (siehe Legende)

Im Rahmen der Anamnese und der klinischen körperlichen und gynäkologischen Untersuchung bei Studienaufnahme wurden weitere allgemeine Patientendaten erfasst. Die gruppierten Patientencharakteristika sind in Tabelle 5 zusammengetragen.

Tabelle 5: Patientencharakteristika bei Studienaufnahme

	Alle Patienten n=109	Entbindung <34 SSW n= 16	Entbindung 34+0 – 36+6 SSW n=20	Entbindung ≥37 SSW n=73	p-Wert
Patientenalter, Jahre (MW ± SA)	30,4 ± 4,7	31,0 ± 4,4	29,4 ± 4,6	30,6 ± 4,8	0,54*
Prägravid BMI, kg/m ² (MW ± SA)	25,1 ± 6,1	29,4 ± 9,9	24,3 ± 5,4	24,4 ± 4,7	0,008*
Mehrlings- schwangerschaft, n	14 (12,8 %)	8 (50 %)	4 (20 %)	2 (2,7 %)	<0,001*
Gestationsdiabetes, n	16 (14,7 %)	6 (37,5 %)	0 (0 %)	10 (13,7 %)	0,007*
Zustand nach Konisation, n	7 (6,4 %)	2 (12,5 %)	1 (5 %)	4 (5 %)	0,57*
Frühgeburt/Spätabort in Anamnese, n	20 (18,3 %)	5 (31,3 %)	3 (15 %)	12 (16,4 %)	0,37*
Nikotinabusus, n	10 (9,2 %)	3 (18,8 %)	3 (15 %)	4 (5,5 %)	0,15*
Assistierte reproduktive Maßnahmen, n	11 (10,1 %)	7 (43,8 %)	2 (10 %)	2 (2,7 %)	<0,001*
Cervixlänge in mm bei Aufnahme (Median, IQR)	20,0 (14,5-32,5)	14,5 (6,0-21,2)	17,5 (11,3-23,8)	22 (16,0-35,0)	0,008**
Vorzeitige subjektive Wehen, n	68 (62,4 %)	10 (62,5 %)	9 (45 %)	49 (67,1 %)	0,2*
Vorzeitiger Blasensprung (nach Studienaufnahme), n	16 (6,8 %)	5 (31,3 %)	6 (30 %)	9 (12,5 %)	0,07*
Gestationsalter (SSW) bei Studieneinschluss, (Median, IQR)	26 (24-29)	26 (23-29)	26 (24-29)	26 (24-29)	0,813**
Gestationsalter in SSW bei Geburt, (Median, IQR)	37 (35-39)	29 (28-31)	35 (34-36)	39 (38-40)	<0,001**
Entbindungsintervall in Tagen, (Median, IQR)	75 (57-99)	21 (5-48)	69 (49-80)	89 (65-108)	<0,001**
Leukozyten (x10 ³ /L) bei Aufnahme, (Median, IQR)	12,0 (9,8-13,9)	13,8 (12,6-14,9)	11,6 (9,4-14,5)	11,4 (9,8-13,2)	0,01**
CRP (mg/l) bei Aufnahme (Median, IQR)	4,5 (2,0-8,0)	8,5 (2,8-13,8)	5,5 (2,3-7,8)	4 (2,0-7,0)	0,056**

SA= Standardabweichung, MW= Mittelwert pro Gruppe, IQR= Interquartilsbreite, * berechnet mittels einfaktorierter Varianzanalyse (ANOVA) ** berechnet mittels Kruskal-Wallis-Test

4.2 Therapeutisches Management

Patientinnen mit Entbindung vor 37 SSW erhielten in den meisten Fällen nach Studieneinschluss und Probenentnahme sowohl eine medikamentöse Tokolyse (83,33 %) als auch eine antenatale Steroidprophylaxe (88,89 %). Der stationäre Aufenthalt von Frauen mit einer Frühgeburt unter 37 SSW betrug durchschnittlich 19 Tage, während Frauen ohne Frühgeburt im Verlauf retrospektiv betrachtet durchschnittlich nach sechs Tagen entlassen wurden.

Tabelle 6: Übersicht der Maßnahmen des therapeutischen Managements während der Studienphase

	Alle Patienten n=109	Entbindung <34 SSW n=16	Entbindung 34+0 – 36+6 SSW n=20	Entbindung ≥37 SSW n=73	p-Wert*
Antibiotika erhalten, n	72 (66 %)	10 (62,5 %)	8 (40 %)	54 (74 %)	0,001
Tokolyse erhalten, n	55 (50,1 %)	14 (87,5 %)	16 (80 %)	25 (34 %)	<0,001
Cerclage-Pessar erhalten, n	10 (9,2 %)	2 (12,5 %)	4 (20 %)	6 (8,2 %)	0,35
Lungenreifeinduktion erhalten, n	60 (55 %)	14 (87,5 %)	18 (90 %)	28 (39 %)	<0,001
Progesteron (vaginal) erhalten, n	77 (70,6 %)	9 (56,3 %)	15 (75 %)	53 (72,6 %)	0,32

*berechnet mit einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA)

4.3 Neonatales Outcome

Im Rahmen der Studie wurden 124 Neugeborene zwischen 21 und 42 SSW geboren. Zu den Mehrlingsgraviditäten gehörten dreizehn Zwillings- und eine Drillingschwangerschaft. Eine Schwangerschaft endete in einem Spätabort in der 22. SSW mit einem Kindsgewicht von 390 g.

Tabelle 7: Neonatales Outcome der geborenen Kinder in den Kategorien Geburtsgewicht, Nabelschnur-pH und 5-Minuten-APGAR, in der Gesamtpopulation und gestaffelt nach Entbindungsgruppen, für den Nabelschnurarterien-pH wurden 118 von 124 Werte erfasst, für den 5-Minuten-APGAR wurden 122 von 124 Werten erfasst, die Werte für das Geburtsgewicht liegen vollständig vor

	Alle Patienten n=109	Entbindung <34 SSW n=16	Entbindung 34+0 – 36+6 SSW n=20	Entbindung ≥37 SSW n=73	p-Wert
Anzahl geborene Kinder, n	124	25	24	75	-
Geburtsgewicht, g (MW, SA)	2811,5 ± 888,8	1407,2 ± 497,5	2649,2 ± 438,7	3331,5 ± 473,3	<0,001
Nabelschnurarterien-pH (MW, SA)	7,30 ± 0,07	7,31 ± 0,1	7,3 ± 0,1	7,29 ± 0,1	0,44
5-Minuten-APGAR (Median)	10	8	10	10	0,001

MW= Mittelwert pro Gruppe, SA= Standardabweichung

4.4 Analyse der klinischen Risikofaktoren bei Studienaufnahme

Nachfolgend werden die nicht adjustierten klinischen Risikofaktoren bei Klinikvorstellung (Abb. 11) dargestellt. Deutlich zu erkennen ist ein Risikoanstieg bei Schwangerschaften, welche durch reproduktive Maßnahmen entstanden sind und bei Mehrlingsgraviditäten. Keine Unterschiede zeigten das maternale Alter sowie das Vorliegen von subjektiven Wehen.

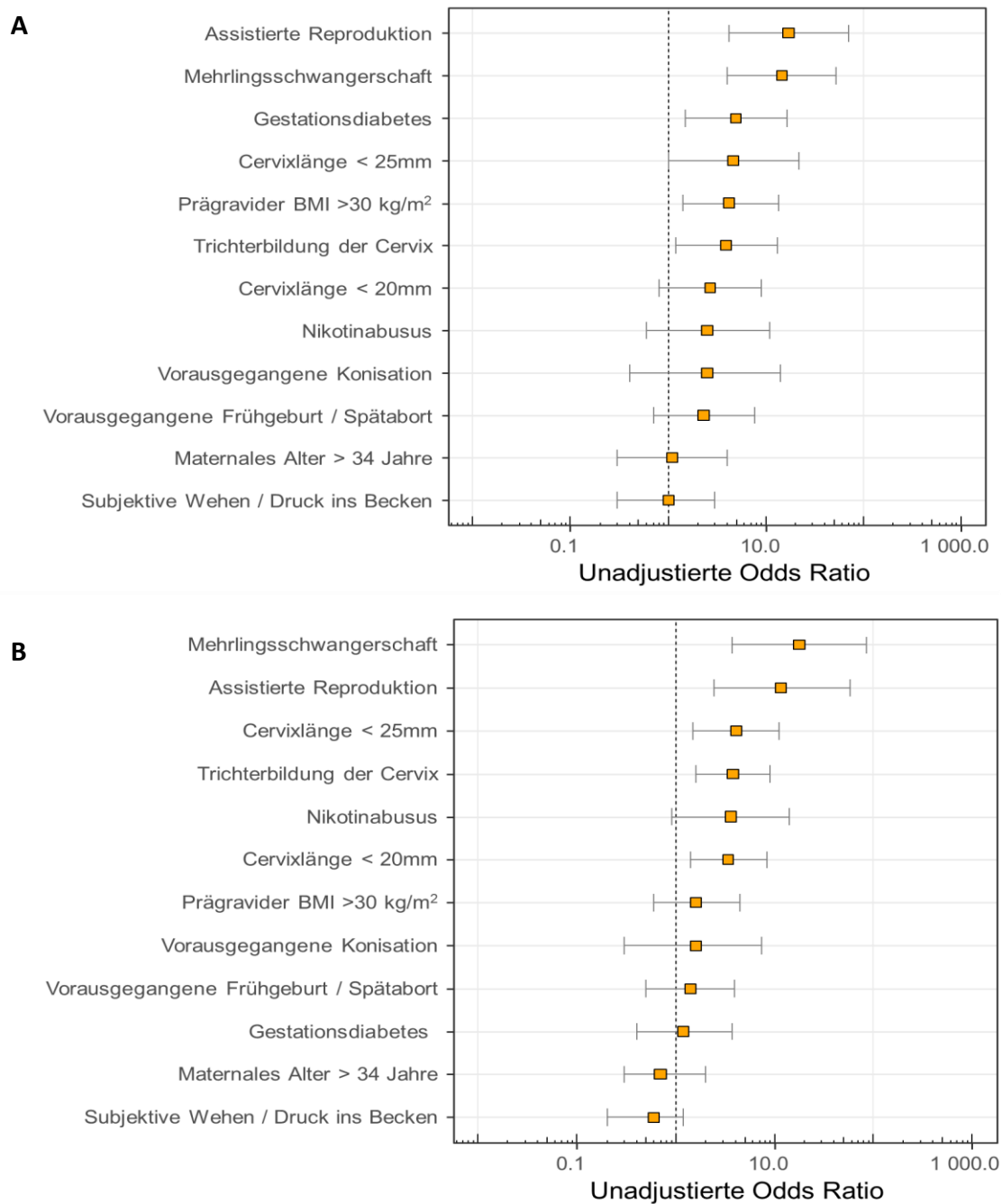


Abbildung 11: Nicht adjustierte Odds Ratio der Risikofaktoren bei Studienaufnahme, **A** Entbindung vor 34 SSW, **B** Entbindung vor 37 SSW

4.5 CCL2

Für CCL2 wurden die Serumkonzentrationen aller 109 Proben bestimmt. Mithilfe der Immunoabsorbent-Assays konnten Serumkonzentrationen im Bereich von 15,6 pg/ml bis 1000 pg/ml mit einer Sensitivität von < 1 pg/ml erfasst werden. Alle Proben mit einer Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze von 15,6 pg/ml wurden als nicht nachweisbar definiert und in den weiteren Kalkulationen mit einer Konzentration von 0 pg/ml bezeichnet. Keine der Probenkonzentrationen überstieg den maximalen Messbereich.

Tabelle 8: CCL2-Serumkonzentrationen (in pg/ml) in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen

		n	Median	Mittelwert	Standard- Abweichung	Minimum	Maximum
Entbindung SSW	<34	16	46,04	56,99	39,34	0,00	123,18
Entbindung SSW	34+0-36+6	20	54,95	72,56	51,48	9,54	201,07
Entbindung SSW	≥ 37	73	80,58	81,32	33,81	0,00	163,27
Gesamt		109	71,6	76,14	38,96	0,00	201,07

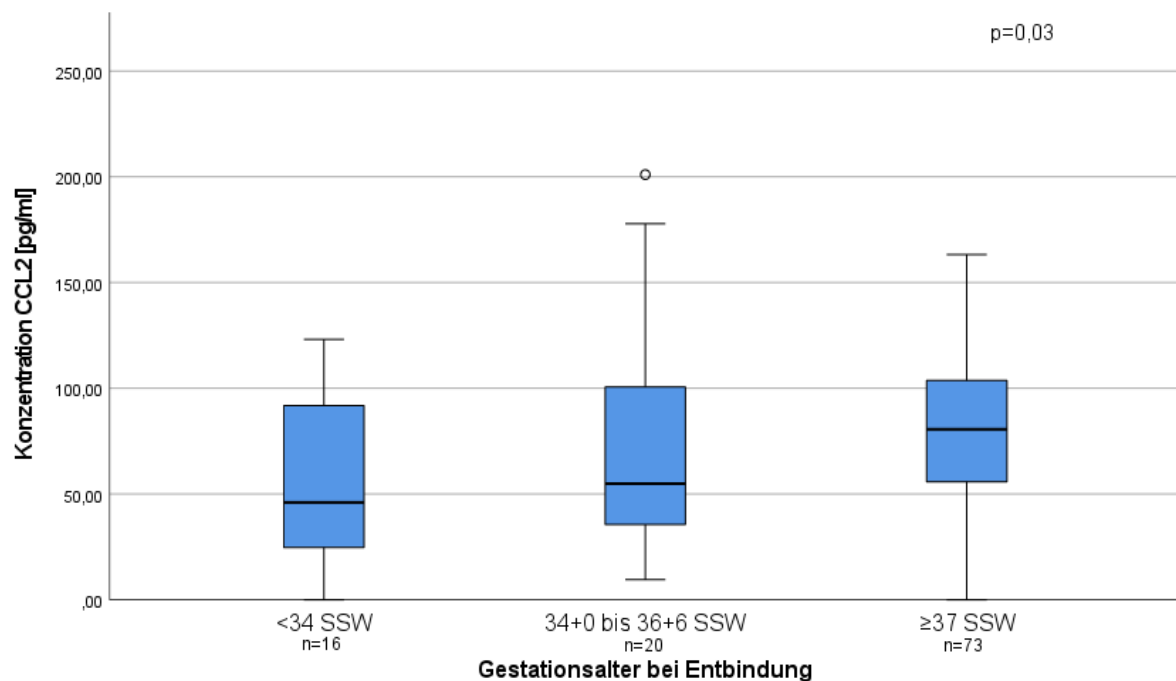


Abbildung 12: Serumkonzentrationen von CCL2 in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung, dargestellt im Boxplot-Diagramm; n= Anzahl Probandinnen pro Gruppe, SSW= Schwangerschaftswochen, p-Wert nach Kruskal-Wallis-Test

In Abbildung 12 wird die Verteilung der CCL2-Konzentrationen in den Entbindungsgruppen grafisch dargestellt. Der Kruskal-Wallis-Test ergab signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen ($p=0,03$). Der Vergleich untereinander zeigte niedrigere Serumkonzentrationen für Frauen mit Geburt vor 34 SSW (im Median 46 pg/ml [IQR 25 - 92 pg/ml]) im Vergleich zu den Geburten nach 34 SSW (73 pg/ml [IQR 51 - 103 pg/ml]; $p=0,032$) (Abbildung 13). Ähnliche Ergebnisse präsentierten sich im Vergleich aller Frühgeburten (51 pg/ml [IQR 32 - 96 pg/ml]) zu Frauen mit Entbindung nach der vollendeten 37 SSW (81 pg/ml [IQR 56 - 104 pg/ml]; $p=0,011$).

Die ROC-Kurve für die Prädiktion der spontanen Frühgeburten vor 34 SSW ergab eine AUC von 0,67 (95% KI 0,51-0,83; $p=0,04$) mit einem optimalen Trennwert von 42 pg/ml und einem diagnostischen Trennwert bei fixer FPR von 10% von 34 pg/ml (Abb. 13). Für die Prädiktion der Entbindung vor 37 SSW zeigte sich eine AUC von 0,65 (95% KI 0,53 – 0,77; $p=0,02$) und es wurde ein optimaler Trennwert von 52 pg/ml sowie ein diagnostischer Trennwert von 42 pg/ml berechnet.

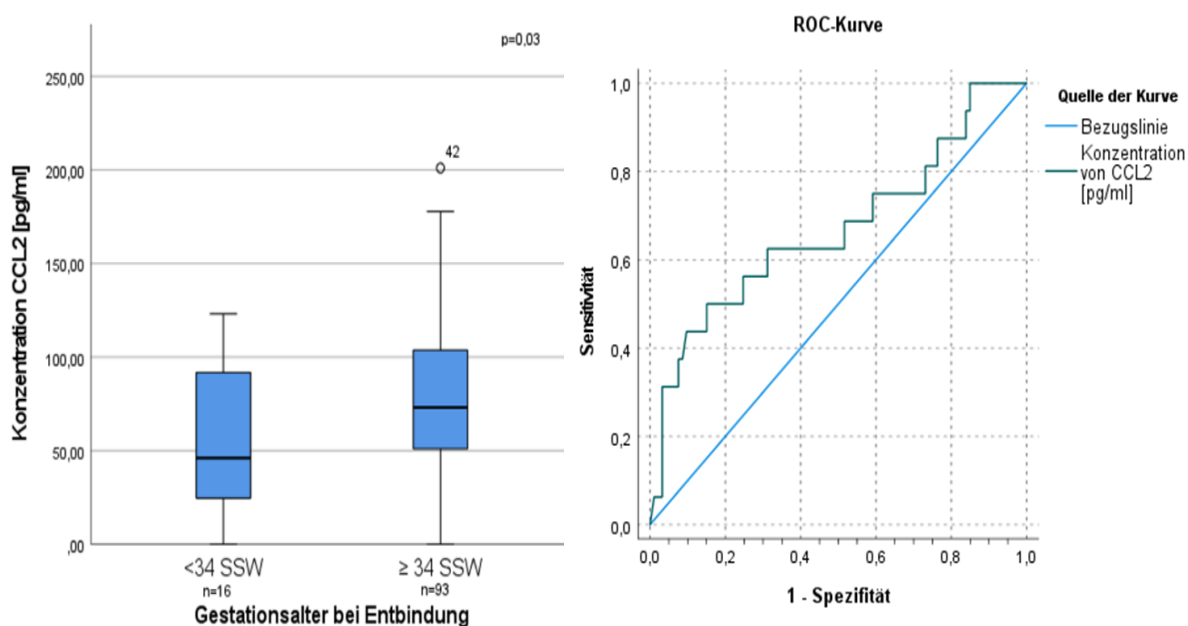


Abbildung 13: links: Serumkonzentrationen von CCL2 bei Entbindungen vor/nach 34 SSW, dargestellt im Boxplot-Diagramm, n = Anzahl Probandinnen pro Gruppe (insgesamt $n=109$), p -Wert berechnet nach Mann-Whitney-U-Test, rechts: zugehörige ROC-Kurve für Entbindung <34 SSW (AUC=0,67), dargestellt mit Bezugslinie

Alle Proben wurden retrospektiv anhand ihrer Serumkonzentrationen in Bezug auf den jeweiligen Trennwert in einem Testmodell eingeordnet. Bei allen Patientinnen mit einer Serumkonzentration unterhalb des errechneten Trennwerts wurden die Proben als positiv (erhöhte Wahrscheinlichkeit für eine Frühgeburt vor vollendeten 34 / 37

Schwangerschaftswochen) definiert. Die verbleibenden Proben wurden als negativ kategorisiert. Die berechneten Testgütekriterien werden nachfolgend in Tabelle 9 dargestellt.

CCL2 zeigte insgesamt eine schwache Korrelation zur verbleibenden Schwangerschaftsdauer ($r = 0,213$; $p = 0,025$). Die Konzentration von CCL2 war jedoch signifikant niedriger bei Frauen mit einer Geburt innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme (25 pg/ml [IQR 21 - 41 pg/ml] vs. 73 pg/ml [IQR 50 - 104]; $p = 0,008$) (Abb. 14).

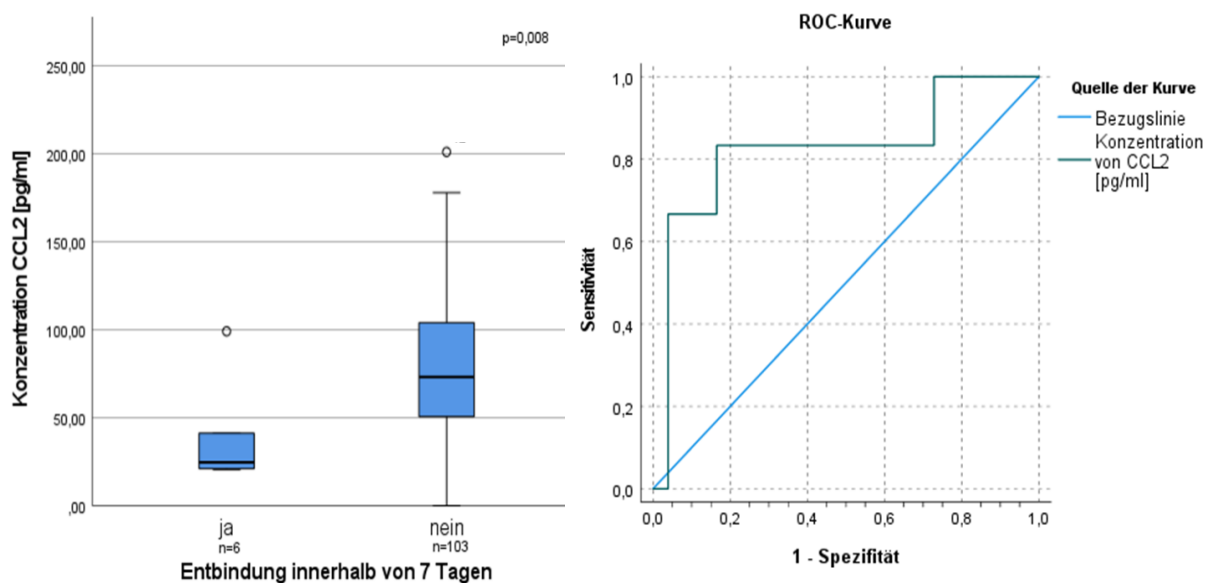


Abbildung 14: links: CCL2-Konzentration bei Entbindung innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme; dargestellt im Boxplot-Diagramm, n =Anzahl der Probandinnen pro Gruppe (insgesamt $n=109$); p -Wert berechnet nach Mann-Whitney-U-Test; rechts: dazugehörige ROC-Kurve für das 7 d-Intervall ($AUC=0,83$), dargestellt mit Bezugslinie

Die berechnete ROC-Kurve präsentiert eine AUC von 0,83 (95% KI 0,62-1; $p=0,002$), es wurde ein optimaler CCL2-Trennwert von 42 pg/ml und ein zusätzlicher diagnostischer Trennwert von 27 pg/ml berechnet.

Bei Verwendung des optimalen Trennwertes wurden 22 von 109 Probandinnen als positiv bewertet, fünf wurden innerhalb von sieben Tagen entbunden. Im Vergleich dazu gebar nur eine von 87 negativ getesteten Frauen innerhalb einer Woche.

Für den diagnostischen Trennwert wurden acht Patientinnen als positiv eingeordnet, vier davon wurden innerhalb von sieben Tagen entbunden, was ein Test-positiv Risiko von 50% und somit eine 3,5-fache Risikosteigerung innerhalb der Kohorte bedeutet (allgemeines Posttest-Kohortenrisiko 14,7 %). Von den 101 negativ bewerteten Probandinnen wurden zwei innerhalb von sieben Tagen entbunden, was ein zwei prozentiges Risiko und damit eine knapp 3-fache Risikoreduktion ergibt.

Tabelle 9: Testgütekriterien für CCL2, berechnet jeweils für den optimalen sowie diagnostischen Trennwert für die Entbindungen <34 SSW, <37 SSW und innerhalb von 7 Tagen

	Cut-off [pg/ml]	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	LR+	LR-	uOR (95 % KI)
Entbindung <34 SSW, optimal	42	0,50	0,85	0,36	0,91	3,32	0,59	5,6 (1,8-17,5)
Entbindung <34 SSW diagnostisch	34	0,44	0,90	0,44	0,90	4,50	0,60	7,3 (2,2-24,2)
Entbindung <37 SSW optimal	52	0,53	0,81	0,58	0,78	2,75	0,58	4,7 (2-11,3)
Entbindung <37 SSW diagnostisch	42	0,42	0,90	0,68	0,76	4,30	0,60	6,7 (2,4-18,7)
Entbindung innerhalb von 7 Tagen, optimal	42	0,83	0,84	0,23	0,99	5,05	0,20	25,3 (2,8-230,4)
Entbindung innerhalb von 7 Tagen, diagnostisch	27	0,67	0,96	0,50	0,98	17,17	0,35	49,5 (6,9-354,9)

PPV= positiv-prädiktiver Wert; NPF= negativ-prädiktiver Wert; LR= Likelihood-Ratio; uOR= nicht adjustierte Odds Ratio; KI= Konfidenzintervall

4.6 CXCL10

Die Detektionsbreite des Immunoabsorbent-Assays für CXCL10 umfasst Serumkonzentrationen zwischen 31,25 pg/ml bis 2000 pg/ml. Proben unterhalb von 31,25 pg/ml wurden als negativ definiert und innerhalb der weiteren Berechnungen mit einer Konzentration von 0 pg/ml bezeichnet.

Die deskriptive Statistik für die jeweiligen Entbindungsgruppen ist in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Deskriptive Statistik für CXCL10 (in pg/ml) in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen

	n	Mittelwert	Median	Standard- Abweichung	Minimum	Maximum
Entbindung <34 SSW	16	138,92	114,72	75,64	72,59	327,2
Entbindung 34+0 – 36+6 SSW	20	109,23	86,64	87,70	45,36	434,79
Entbindung ≥37 SSW	73	70,47	53,18	73,81	0,00	427,32
Gesamt	109	87,63	67,63	80,34	0,00	434,79

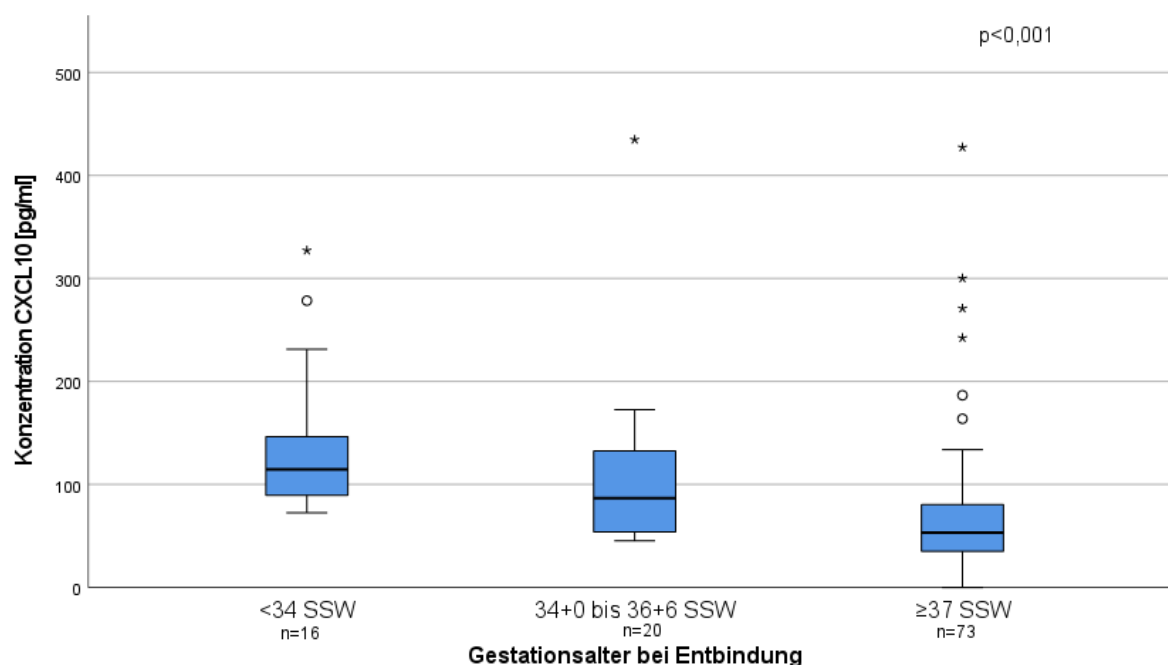


Abbildung 15: Serumkonzentrationen von CXCL10 in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung; dargestellt im Boxplot-Diagramm; n=Anzahl der Probandinnen pro Gruppe; SSW= Schwangerschaftswochen, p-Wert nach Kruskal-Wallis-Test

In Abbildung 15 wird die Verteilung der Serumkonzentrationen der Probandinnen in den drei Entbindungsgruppen dargestellt. Der Kruskal-Wallis-Test ergab dabei statistisch signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen ($p < 0,001$). Im direkten Vergleich zeigte sich laborchemisch bei Frauen mit früher spontaner Frühgeburt vor 34 SSW im Median eine Serumkonzentration von 115 pg/ml (IQR 89 - 146 pg/ml), während Frauen mit Geburt nach 34 SSW niedrigere Serumkonzentrationen aufwiesen (61 pg/ml [IQR 41 - 105 pg/ml]; $p < 0,001$; Abbildung 16). Ähnliche Ergebnisse fanden sich im Vergleich der Serumkonzentrationen $<$ und \geq 37 SSW (103 pg/ml [IQR 68 - 140 pg/ml] vs. 53 pg/ml [IQR 35 - 81 pg/ml]; $p < 0,001$).

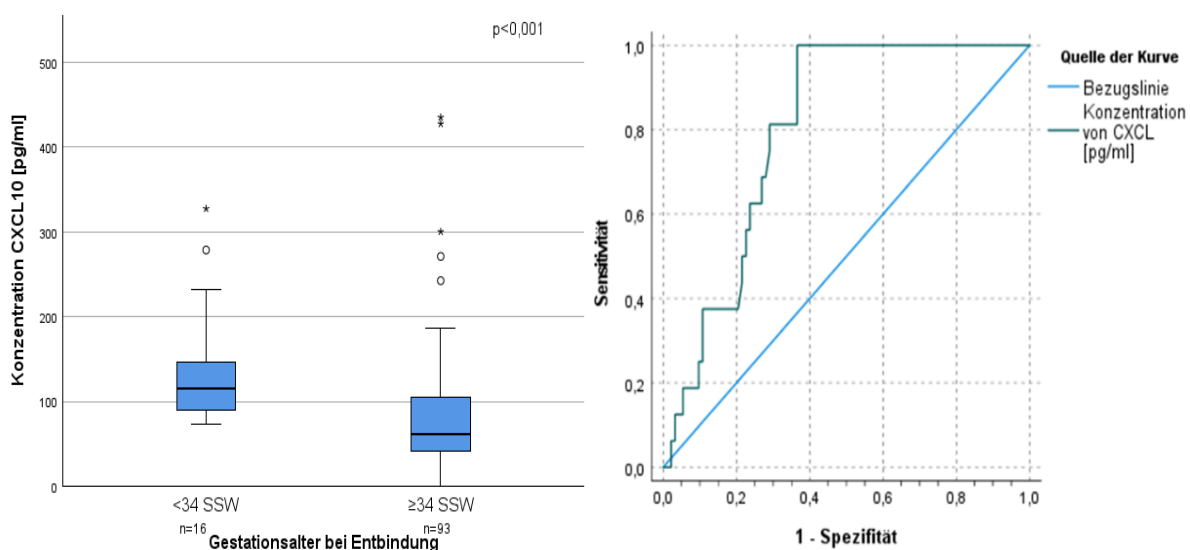


Abbildung 16: links: Serumkonzentrationen von CXCL10 in Abhängigkeit vom Gestationsalter <34 SSW, dargestellt im Boxplot-Diagramm; n =Anzahl der Probandinnen pro Gruppe (insgesamt $n=109$); p -Wert berechnet nach Mann-Whitney-U-Test, **rechts:** dazugehörige ROC-Kurve für die Entbindung <34 SSW ($AUC=0,8$), dargestellt mit Bezugslinie

Die Prädiktion einer FG vor 34 SSW für CXCL10 ergab in der ROC-Analyse eine AUC von 0,8 (95% KI 0,71 - 0,88; $p < 0,001$) mit einem optimalen Trennwert von 71,98 pg/ml sowie einem diagnostischen Trennwert von 145 pg/ml. Im Modell für alle Frühgeburten vor 37 SSW zeigte CXCL10 eine AUC von 0,76 (95% KI 0,67 - 0,85; $p < 0,001$) mit einem optimalen Trennwert von 71,98 pg/ml und einem diagnostischen Trennwert von 129,25 pg/ml.

Alle Proben wurden abhängig von ihrer Serumkonzentration als positiv (Serumkonzentration größer als der Trennwert) oder negativ (Serumkonzentration kleiner als der Trennwert) definiert. In Bezug auf den optimalen Trennwert wurden 16 von 50 positiv-getesteten Frauen (32 %, damit 2-fache Risikoerhöhung zum allgemeinen Kohortenrisiko) und keine der 59 negativ-kategorisierten Frauen vor der vollendeten 34. SSW entbunden.

Für Geburten vor vollendeten 37 SSW wurden 50 Frauen als test-positiv gruppiert, 27 Frauen wurden in dem Testzeitraum entbunden (54 %). Dies bedeutet retrospektiv eine 3,4-fache Risikoerhöhung bei CXCL10-Serumwerten über dem optimalen Cutoff. Von den 59 negativ getesteten Frauen wurden nur fünf vor 37 SSW entbunden (8%, Halbierung des Risikos). Die Testgütekriterien für CXCL10 in Bezug auf das Gestationsalter bei Entbindung werden nachfolgend tabellarisch dargestellt (Tab. 11).

Tabelle 11: Testgütekriterien für CXCL10, jeweils für den optimalen sowie diagnostischen Trennwert für die Geburten <34 SSW und alle Frühgeburten <37 SSW

	Cut-off [pg/ml]	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	LR+	LR-	Odds Ratio (95% KI)
Geburt <34 SSW (optimaler Trennwert)	72	1,00	0,63	0,32	1,00	2,73	0,00	n.a.
Geburt <34 SSW (diagnostischer Trennwert)	145	0,25	0,89	0,29	0,87	2,3	0,8	2,8 (0,7- 10,2)
Geburt <37 SSW (optimaler Trennwert)	72	0,75	0,69	0,54	0,85	2,38	0,37	6,5 (2,7-16,1)
Geburt <37 SSW (diagnostischer Trennwert)	129	0,37	0,86	0,32	0,89	2,68	0,73	3,7 (1,2-11,9)

n=109, KI=Konfidenzintervall, PPV=positiv prädiktiver Wert, NPV=negativ prädiktiver Wert, LR=Likelihood Ratio, n.a.= nicht adjustierbar

Für CXCL10 ergibt sich eine schwache Korrelation für die verbleibenden Schwangerschaftszeit ($r = -0,184$; $p = 0,055$). Es konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen bei einem Geburtsintervall von sieben Tagen detektiert werden (111,4 pg/ml [IQR 95 - 117] vs. 62,8 pg/ml [IQR 43 - 119]; $p = 0,07$). Auf eine weitere Auswertung wurde verzichtet.

4.7 Serpin B7

Für Serpin B7 wurden 52 von 109 Proben analysiert.

Der ELISA-Test konnte Serumkonzentrationen von 0,312 ng/ml bis 20 ng/ml mit einer Sensitivität von 0,06 ng/ml detektieren. Eine Probe (ID 94) zeigte einen extrem hohen Serumwert, welcher deutlich über der maximalen Konzentration der Standardverdünnungsreihe lag. Diese Probe wurde von den weiteren Berechnungen ausgeschlossen, da keine Rückrechnung auf die Proteinkonzentration möglich war. In die weiteren Berechnungen gingen somit 51 Proben ein.

Tabelle 12: Deskriptive Statistik für Serpin B7 (in ng/ml) in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen

	n	Mittelwert	Median	Standard- Abweichung	Minimum	Maximum
Entbindung <34 SSW	16	1,63	1,56	0,76	0,42	2,77
Entbindung 34+0 – 36+6 SSW	18	1,54	1,29	0,89	0,64	3,70
Entbindung ≥37 SSW	17	1,99	1,48	1,47	0,29	4,79
Gesamt	51	1,72	1,40	1,08	0,29	4,79

In Abbildung 17 ist die Verteilung der Serpin B7-Konzentrationen in den drei Entbindungsgruppen grafisch dargestellt. Der Kruskal-Wallis-Test ergab im Gegensatz zu den anderen beiden Biomarkern keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Entbindungsgruppen ($p=0,7$).

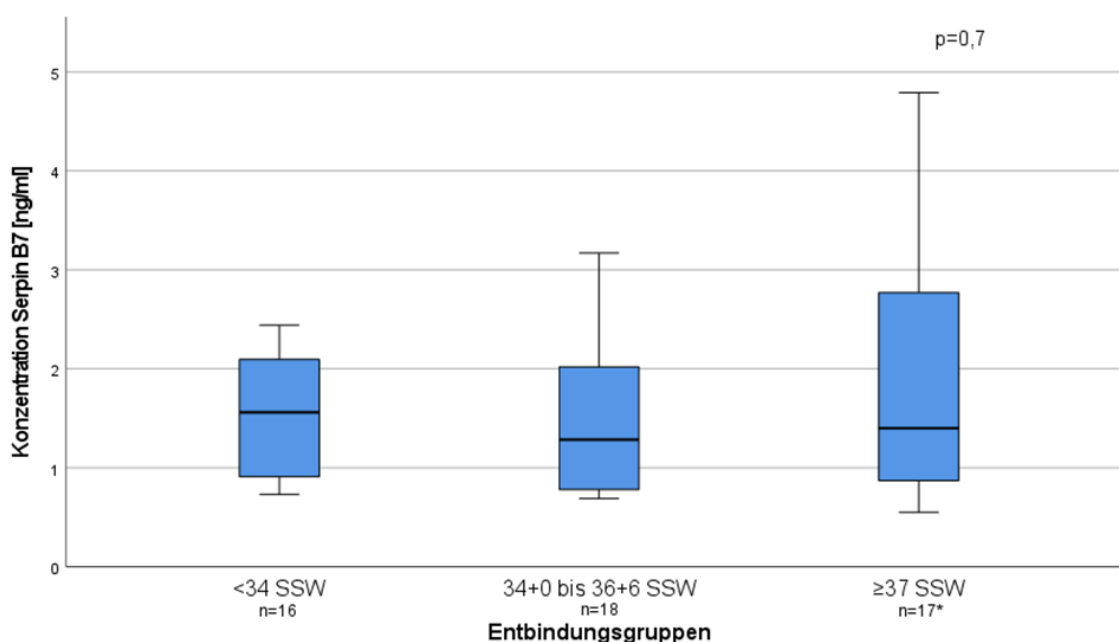


Abbildung 17: Serumkonzentration von Serpin B7 in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung; dargestellt im Boxplot-Diagramm; n= Anzahl der Probandinnen pro Gruppe (*Ausschluss ID 94, insgesamt n= 51); SSW= Schwangerschaftswochen; p-Wert nach Kruskal-Wallis-Test

Der Vergleich zwischen den einzelnen Entbindungsgruppen zeigte ebenfalls keine Unterschiede. Serpin B7 war weder für die Prädiktion einer Frühgeburt vor 34 SSW (1,56 ng/ml [IQR 0,9 - 2,1] vs. 1,31 ng/ml [IQR 0,8 - 2,3]; $p=0,98$; $AUC=0,503$), noch vor 37 SSW (1,37 ng/ml [0,8 - 2,1] vs. 1,4 ng/ml [0,9 - 2,8]; $p=0,5$; $AUC=0,44$) geeignet.

Die Serpin-B7-Konzentrationen von Frauen mit einem Entbindungsintervall innerhalb der nächsten 7 Tage (1,56 ng/ml [IQR 0,8 - 1,9] vs. 1,34 ng/ml [0,9 - 2,3]; $p=0,77$; $AUC=0,46$) unterschieden sich nicht von Frauen mit einem längeren Zeitraum bis zur Geburt.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde auf eine Konzentrationsbestimmung in den verbleibenden Proben und eine weitere statistische Auswertung verzichtet.

4.8 CXCL10 / CCL2 Quotient

Um die Frühgeburtsprädiktion zu optimieren, wurde zusätzlich der Quotient aus beiden Chemokinen berücksichtigt, welcher in 107 Fällen bestimmt werden konnte. Da zwei Proben eine CCL2-Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze aufwiesen, welche dementsprechend mit 0 pg/ml definiert wurde, konnte in diesen Fällen keine mathematische Berechnung des Quotienten erfolgen. Fortan wird der CXCL10/CCL2-Quotient auch als Chemokine-Ratio bezeichnet.

Tabelle 13: Deskriptive Statistik für den CXCL10/CCL2- Quotienten in der Gesamtkohorte und in den Entbindungsgruppen

	n	Mittelwert	Median	Standard- Abweichung	Minimum	Maximum
Entbindung <34 SSW	15	3,20	2,70	2,04	0,73	6,95
Entbindung 34+0 – 36+6 SSW	20	1,91	1,77	1,12	0,31	5,03
Entbindung ≥37 SSW	72	0,97	0,69	1,03	0,00	4,69
Gesamt	107	1,46	0,93	1,46	0,00	6,95

4.8.1 Prädiktion Gestationsalter

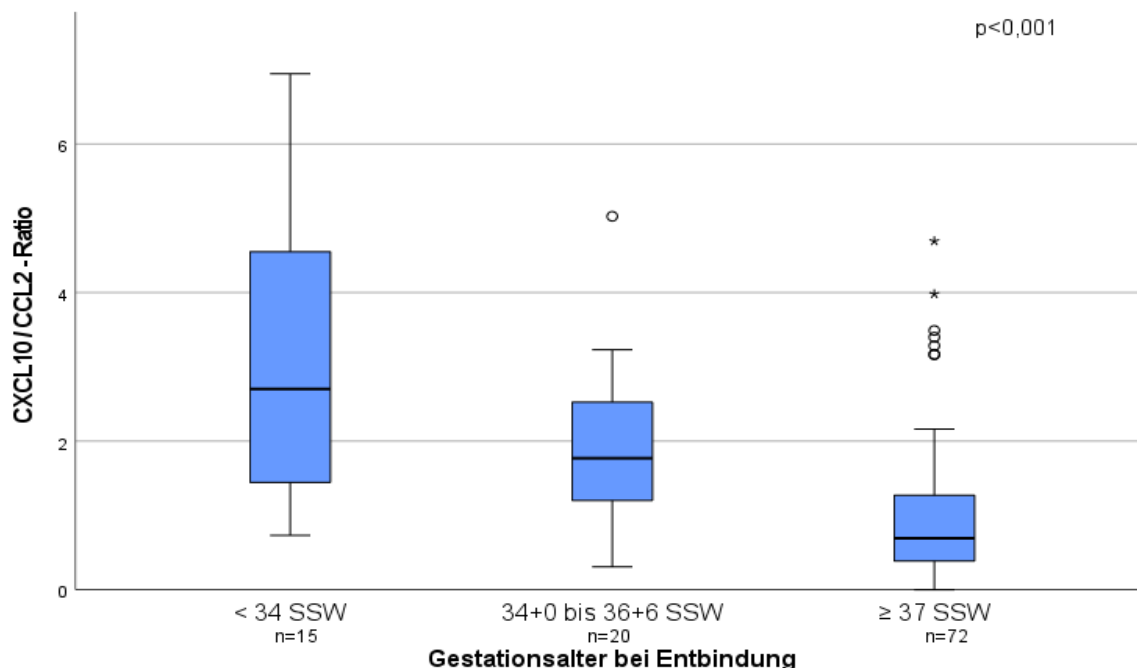


Abbildung 18: Serumkonzentrationen des CXCL10 / CCL2- Quotienten (Ratio) in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Entbindung, dargestellt im Boxplot- Diagramm, n= Anzahl der Probandinnen pro Gruppe, SSW= Schwangerschaftswochen, p-Wert nach Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben

Die Verteilung der Werte ergab signifikante Unterschiede im Kruskal-Wallis-Test zwischen den drei Entbindungsgruppen ($p < 0,001$; Abb. 18). Im Vergleich zu den einzelnen Biomarkern zeigte die CXCL10/CCL2- Ratio die stärkste Korrelation zur verbleibenden Schwangerschaftszeit ($r = -0,444$; $p < 0,00$; Abb. 19).

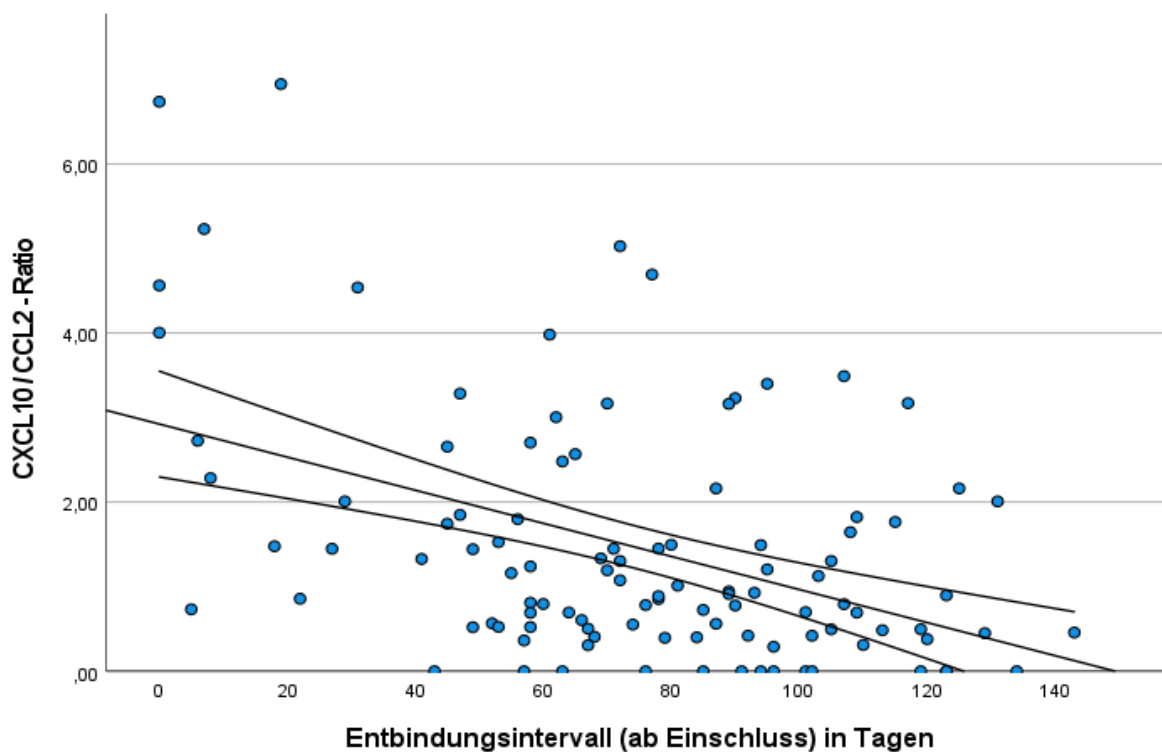


Abbildung 19: Verteilung der CXCL10/CCL2-Ratio ($n=107$) in Bezug auf das Entbindungsintervall ab Studieneinschluss in Tagen, dargestellt als Streudiagramm mit Regressionslinie ($y=89,55-10,05 \cdot x$) und 95% Konfidenzintervall; Determinationskoeffizient $R^2=0,2$; Korrelationskoeffizient $r=-0,444$, $p<0,001$

Im direkten Vergleich wiesen frühe Frühgeburten höhere Werte des CXCL10/CCL2-Quotienten auf als Frauen mit Entbindung nach 34 SSW (2,7 [IQR 1,4 - 4,6] vs. 0,8 [0,4 - 1,6]; $p < 0,001$; Abb. 20). Die dazugehörige ROC-Kurve ergab eine AUC von 0,83 (95% KI 0,73 – 0,93; $p<0,001$) mit einem optimalen Trennwert von 2,2. Zusätzlich wurde ein diagnostischer Trennwert von 3,1 berechnet.

Ähnliche Ergebnisse zeigte der Vergleich der Frauen mit Frühgeburt unter 37 SSW zu den Termingeburten (2,0 [IQR 1,3 - 3,2] vs. 0,7 [IQR 0,4 - 1,3]; $p < 0,001$). Die ROC zeigte eine AUC von 0,82 (95% KI 0,73 – 0,9; $p<0,001$) mit den gleichen Trennwerten.

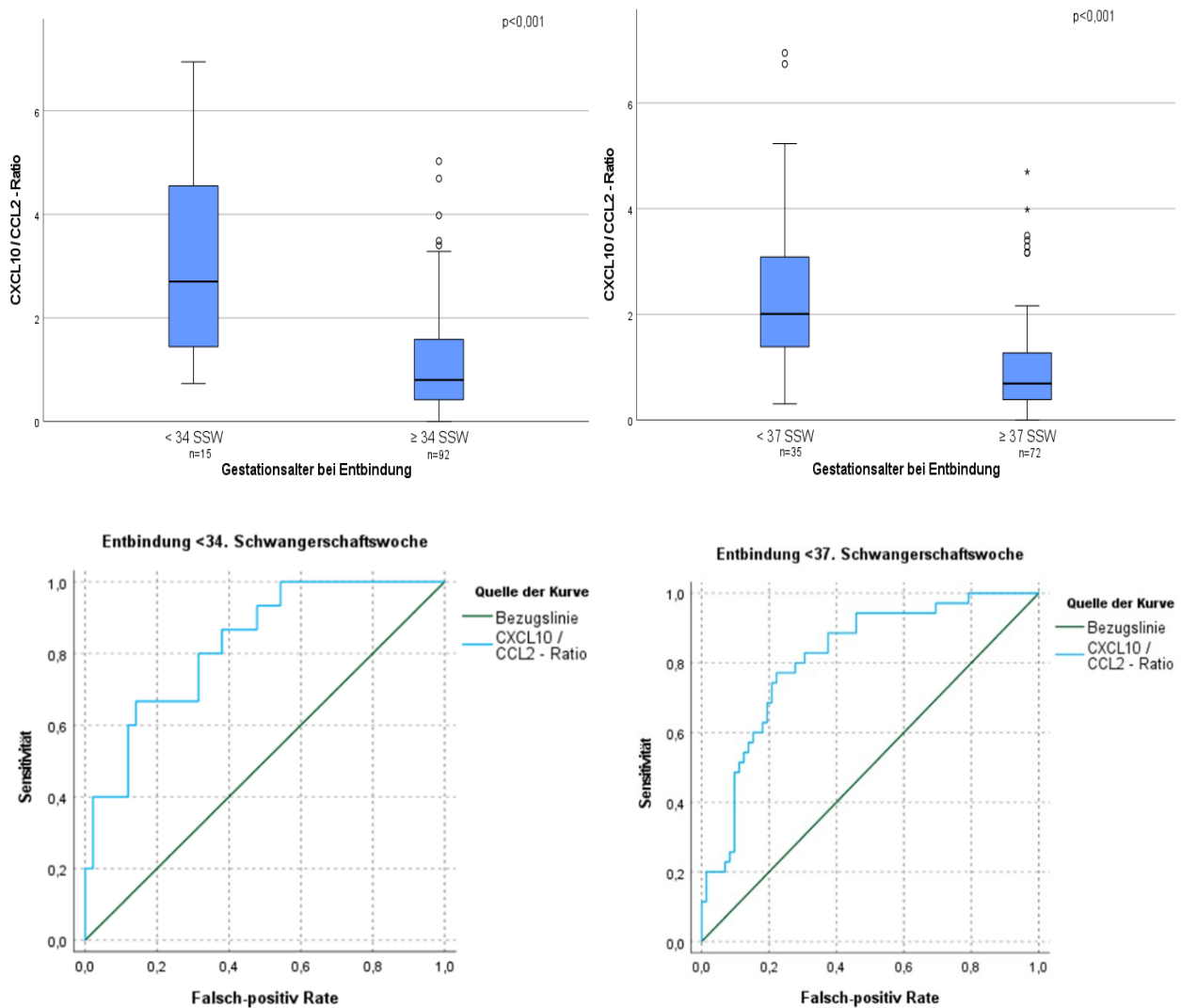


Abbildung 20: Serumkonzentrationen der CXCL10 / CCL2 - Ratio in Abhängigkeit vom Gestationsalter <34 SSW (**oben links**) und <37 SSW (**oben rechts**), dargestellt im Boxplot-Diagramm; n= Anzahl der Probandinnen pro Gruppe (insgesamt n=107), p-Wert berechnet nach Mann-Whitney-U-Test; dazugehörige ROC-Kurven für Entbindung <34 SSW (**unten links**, AUC=0,83) und <37 SSW (**unten rechts**, AUC=0,82), mit Bezugslinie

Äquivalent zu den vorherigen Verfahren erfolgte anschließend eine Kategorisierung der berechneten Chemokingradienten als positiv (größer als der jeweilige Trennwert) oder negativ (kleiner als der Trennwert), sowie die Berechnung der daraus folgenden Testcharakteristika.

Tabelle 14: Testcharakteristika für CXCL10/CCL2-Ratio: Prädiktion des Gestationsalters bei Entbindung

	Cut-off [pg/ml]	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	LR+	LR-	Odds Ratio (95% KI)
Geburt <34 SSW optimal	2,2	0,67	0,86	0,43	0,94	4,70	0,40	12,2 (3,6-41,3)
Geburt <34 SSW diagnostisch	3,1	0,40	0,89	0,38	0,90	3,70	0,70	5,5 (1,6-18,6)
Geburt <37 SSW optimal	2,2	0,46	0,90	0,70	0,77	4,70	0,60	7,8 (2,8-21,8)
Geburt <37 SSW diagnostisch	3,1	0,26	0,90	0,56	0,71	2,60	0,80	3,2 (1,1-9,5)

n=107, KI=Konfidenzintervall, PPV=positiv prädiktiver Wert, NPV=negativ prädiktiver Wert, LR= Likelihood Ratio, n.a.= nicht adjustierbar

Mithilfe der Kaplan-Meier-Methode ist das Entbindungsintervall für das Studienziel FG <34 SSW (Abb. 21) dargestellt.

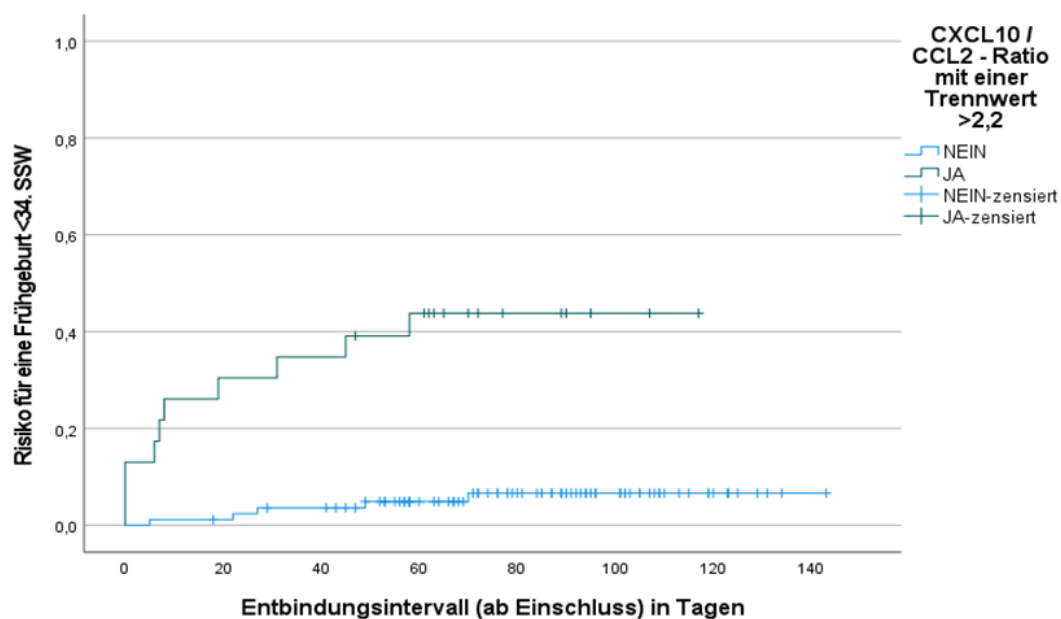


Abbildung 21: 1-Überlebenskurve nach Kaplan-Meier für CCL2/CXCL10 Quotient: Risiko einer Geburt <34 SSW bei Testung mit einem optimalen Trennwert von 2,2

Von 23 positiv getesteten Frauen wurden zehn Schwangerschaften vor vollendeten 34 SSW entbunden, während von den 84 negativ-getesteten Frauen nur fünf vor 34 SSW entbunden worden sind. Damit liegt das Risiko einer Frühgeburt <34 SSW bei einem positiven Test bei 43 Prozent, was in unserer Risikokohorte ($16/109 = 14,7\%$) eine fast dreifache Risikoerhöhung bedeutet. Bei einem negativem Testergebnis berechneten wir ein

Frühgeburtsrisiko von 6 Prozent, sodass eine Halbierung des Frühgeburtsrisikos vor 34 SSW vorliegt.

In Bezug auf das Studienziel FG <37 SSW (Abb. 22) berechnete sich ein Risiko von 70% bei positivem Test (16/23 Frauen; 4,5-fache Risikoerhöhung). Aufgrund des höheren falsch-negativ Anteils kommt es jedoch ebenfalls zur Erhöhung des Frühgeburtsrisikos von initial 14,7 auf 22,6 Prozent bei einem negativen Testergebnis (19/84 Frauen, 1,5-fache Risikoerhöhung).

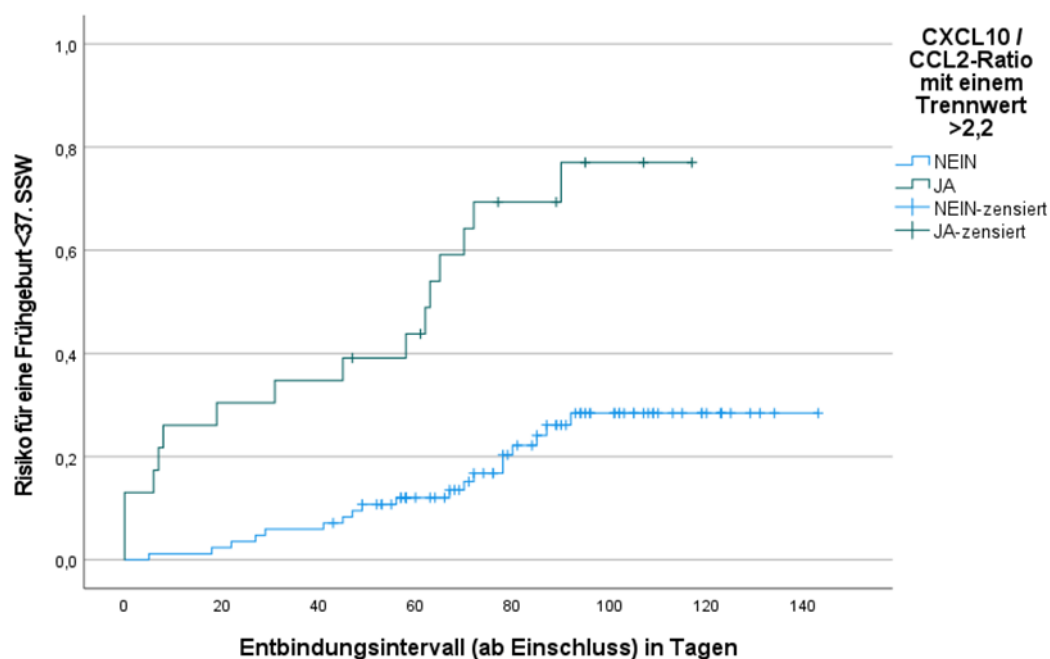


Abbildung 22: 1-Überlebenskurve nach Kaplan-Meier für CCL2/CXCL10-Quotient: Risiko einer Geburt <37 SSW bei Testung mit einem optimalen Trennwert von 2,2

4.8.2 Prädiktion Entbindungsintervall

Frauen mit Entbindung innerhalb von sieben Tagen nach Testung zeigten höhere Serumquotienten als Frauen, welche nach mehr als einer Woche entbunden worden sind (4,3 [IQR 2,7 - 5,2] vs. 0,9 [0,5 - 1,8]; $p = 0,003$; Abb. 23). Die ROC berechnete eine AUC von 0,87 (95% KI 0,7 – 1; $p < 0,001$) sowie einen optimalen Cutoff bei 2,7 und einen diagnostischen Cutoff von 3,1.

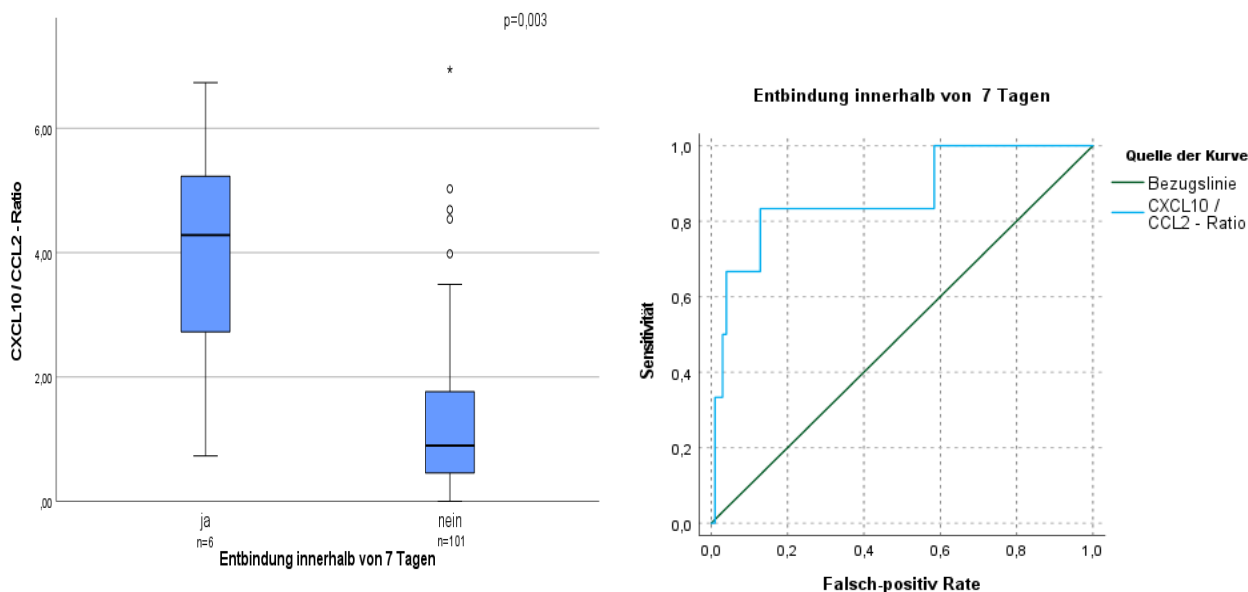


Abbildung 23: CCL2/CXCL10-Quotient bei Entbindung innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme; dargestellt im Boxplot-Diagramm; n=Anzahl der Probandinnen pro Gruppe, p-Wert berechnet nach Mann-Whitney-U-Test; dazugehörige ROC-Kurve (AUC= 0,87); dargestellt mit Bezugslinie

Nach Zuordnung der Proben in Test-positiv (Serumkonzentration größer als Trennwert) oder Test-negativ (Serumkonzentration kleiner als Trennwert) erfolgte die Berechnung der Testcharakteristika. Diese werden in Tabelle 15 nachfolgend dargestellt.

Tabelle 15: Testgütekriterien für CXCL10/CCL2-Quotient, jeweils für den optimalen sowie diagnostischen Trennwert für die Entbindung innerhalb von 7 und 14 Tagen

	Cut-off [pg/ml]	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	LR+	LR-	Odds Ratio (95% KI)
Geburt innerhalb von 7 Tagen (optimal)	2,7	0,83	0,85	0,25	0,99	5,6	0,2	28,7 (3,1-263)
Geburt innerhalb von 7 Tagen (diagnostisch)	3,1	0,67	0,88	0,25	0,98	5,6	0,4	14,9 (2,5-89,8)

n=107, KI=Konfidenzintervall, PPV=positiv prädiktiver Wert, NPV=negativ prädiktiver Wert, LR=Likelihood Ratio

4.9 Berücksichtigung der Mehrlingsschwangerschaften

Die Studienkohorte umfasste 14 Frauen mit Mehrlingsschwangerschaften (12,8 %), die einen höheren Anteil an Frühgeburten <34 SSW aufwiesen (50,0 % vs. 6,5 %, $p < 0,001$). In einer zweifaktoriellen ANOVA wurde überprüft, ob eine Interaktion zwischen spontaner Frühgeburt <34 SSW und Mehrlingsschwangerschaft in Bezug auf CCL2, CXCL10 und dem CXCL10/CCL2-Verhältnis bestand. Es wurde ein klarer Haupteffekt des Gestationsalters bei der Geburt auf alle prädiktiven Biomarker ohne Interaktionen beobachtet.

Für das CXCL10/CCL2-Verhältnis wurden nach Ausschluss von Fällen mit Mehrlingsschwangerschaften die Ergebnisse für das primäre Studienziel Entbindung vor der vollendeten 34. Schwangerschaftswoche neu berechnet ($n=94$; Abbildung 24/25: 2,47 [IQR 1,15-5,98] vs. 0,78 [IQR 0,41-1,53]; $p < 0,004$). Auch das sekundäre Studienziel Entbindung vor 37 SSW (1,82 [IQR 1,26-3,09] vs. 0,65 [IQR 0,38-1,26]; $p < 0,001$) blieb statistisch signifikant. Lediglich für Frauen mit Entbindung innerhalb von 7 Tagen konnte eine Verschlechterung der Ergebnissignifikanz bei Ausschluss der Mehrlingsschwangerschaften festgestellt werden ($p= 0,067$ vs. $p= 0,003$), sodass die CCL2/CXCL10- Ratio im Kurzzeitintervall von 7 Tagen bei Einlingsschwangerschaften nicht mehr signifikant blieb. Als Langzeitprädiktor für Entbindung vor 34 und 37 SSW verbleibt CCL2/CXCL10 als signifikanter Serum-Biomarker.

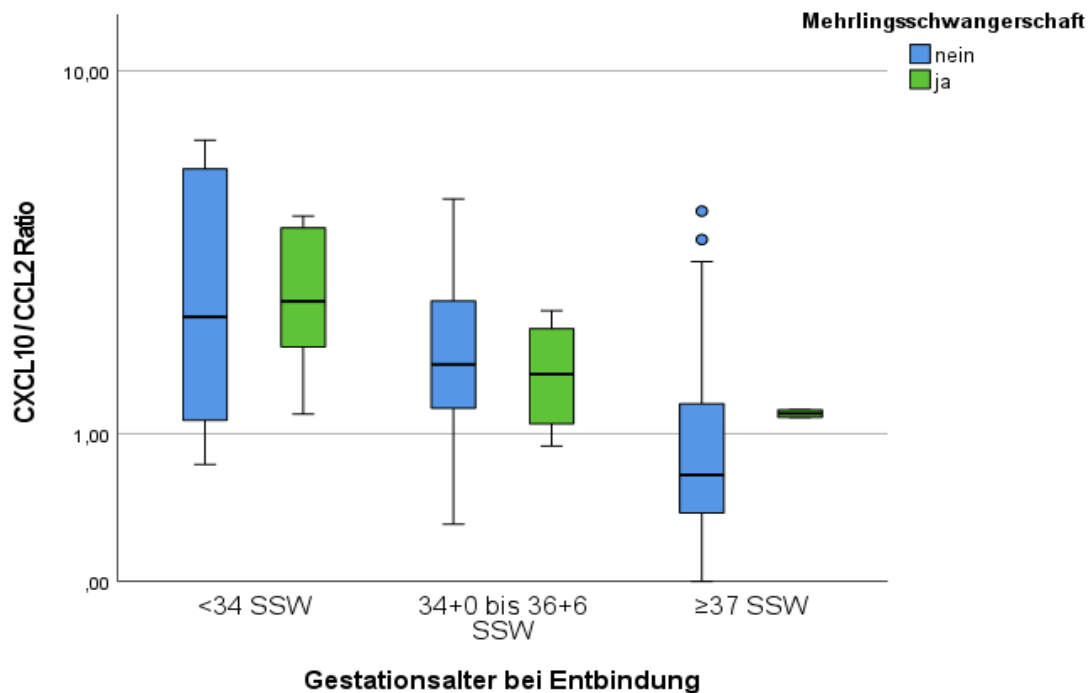


Abbildung 24: Interaktion von Mehrlingsgravida mit der CXCL10/CCL2-Ratio; dargestellt im Boxplot in Abhängigkeit vom Gestationsalter (gruppiert). Es gibt keine Interaktion zwischen Mehrfachschwangerschaft (ja/nein) und Gestationsalter bei der Geburt (Interaktionseffekt $P = 0,864$). Analyse durch zweifaktorielle ANOVA.

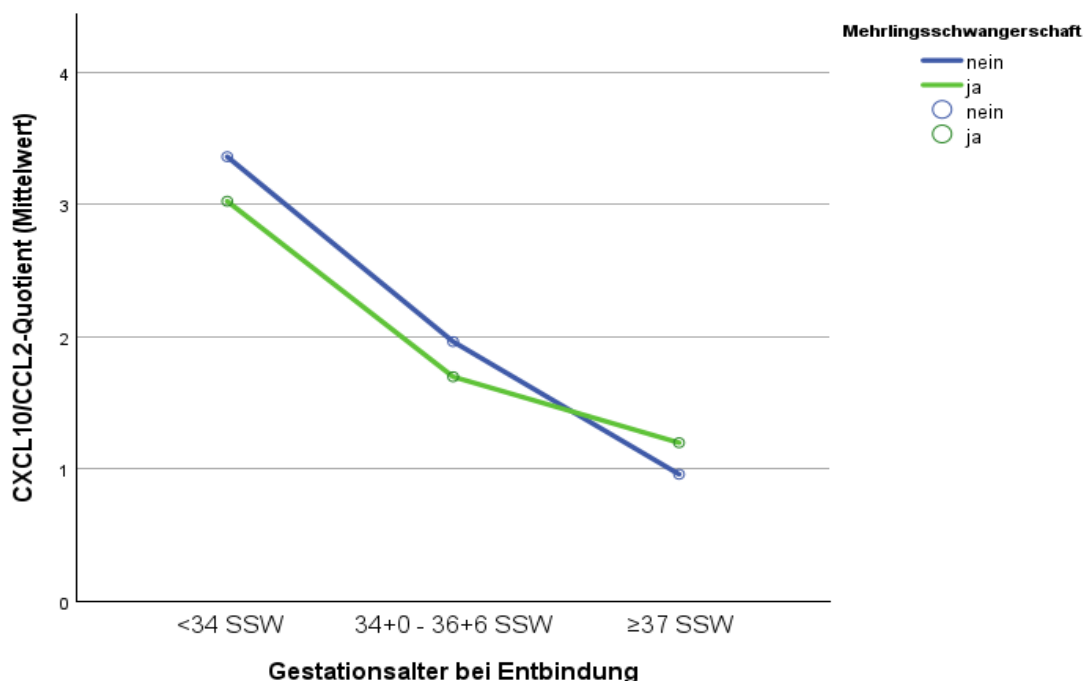


Abbildung 25: Profildarstellung der marginalen Mittelwerte der CXCL10/CCL2-Ratio in Abhängigkeit einer Mehrlingsschwangerschaft. Klarer Haupteffekt ist das Gestationsalter bei Entbindung. Es liegt kein signifikanter Unterschied zwischen Einlings- und Mehrlingsschwangerschaften für den Chemokin-Quotienten in den jeweiligen Entbindungsgruppen vor.

4.10 Logistische Regression

Im weiteren Verlauf erfolgte eine logistische Regressionsanalyse, bei der das CXCL10/CCL2-Verhältnis mit dem optimalen Cut-off-Wert (2,2) und zusätzlichen mutmaßlichen Risikofaktoren für eine FG < 34 SSW verwendet wurden, um ein prädiktives Modell für das primäre Studienziel zu erstellen. Die Variable „assistierte Reproduktionstechniken“ zeigte Kollinearität mit der Variable „Mehrlingsschwangerschaft“ und wurde aus dem Modell entfernt.

In einem zweiten reduzierten Modell wurden alle Faktoren eliminiert, die nicht in das Vorhersagemodell passten, wobei neben dem CXCL10/CCL2-Verhältnis (adjustierte OR 15,9; $p < 0,001$) nur die Risikofaktoren Mehrfachschwangerschaft (adjustierte OR 8,4; $p=0,006$) und Adipositas (adjustierte OR 6,6; $p=0,016$) verblieben (Abb. 26). In einem separaten Regressionsmodell konnte CXCL10 (diagnostischer Trennwert) ebenfalls als unabhängiger Risikofaktor dargestellt werden (adjustierte OR 8,5; $p=0,005$).

Die Kovariablen "mütterliches Alter", „Zervixlänge“ und "Gestationsalter bei Studieneinschluss" verbesserten das Vorhersagemodell nicht und wurden ausgeschlossen.

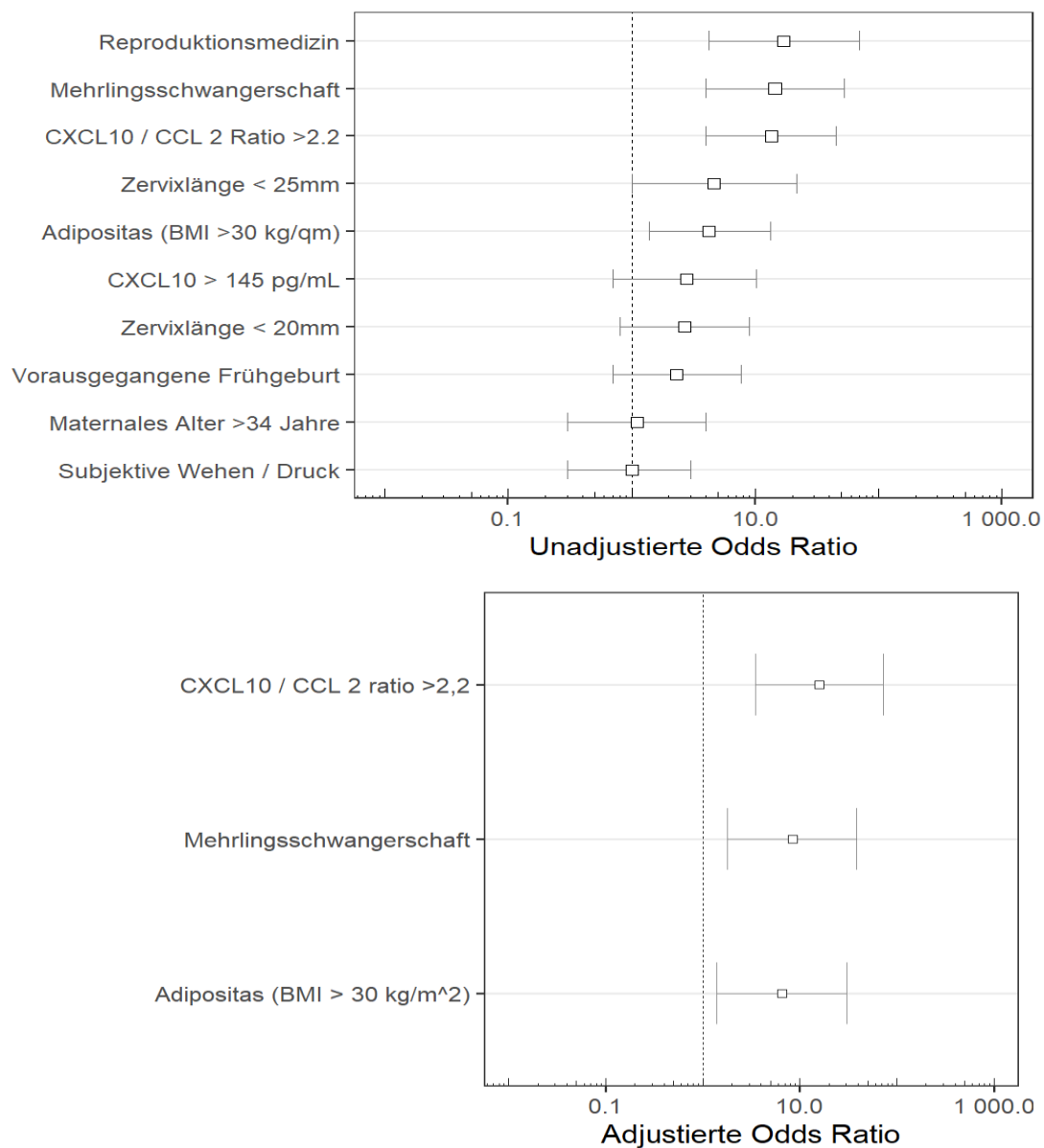


Abbildung 26: Vergleich der nicht adjustierten Odds Ratio unter Berücksichtigung der Biomarker bei Studienaufnahme (**oben**) und der adjustierten Odds Ratio für die CXCL10/CCL2-Ratio (**unten**), dargestellt im 95% Konfidenzintervall (Whisker)

4.11 Etablierte Entzündungsparameter (Leukozyten, CRP)

Im Rahmen der klinischen Diagnostik wurden bei Studienaufnahme in den meisten Fällen auch die Leukozyten und das CRP (jeweils n=98) im maternalen Blut untersucht.

Tabelle 16: Deskriptive Statistik für Leukozyten und CRP als sekundär erfasste (Standard-) Laborparameter

		Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	SA
Leukozyten (x10 ³ /ml) bei Aufnahme	<34 SSW	13,75	7,60	20,90	14,21	3,20
	34+0 bis 36+6 SSW	11,55	7,50	17,30	11,93	2,90
	>37 SSW	11,40	6,50	17,70	11,70	2,50
CRP (mg/l) bei Aufnahme	<34 SSW	8,50	1,00	116,00	20,06	34,75
	34+0 bis 36+6 SSW	5,50	0,00	15,00	5,20	3,56
	>37 SSW	4,00	0,00	58,00	6,78	10,18
SA= Standardabweichung, SSW= Schwangerschaftswoche						

Für Entbindung vor 34 SSW zeigten sowohl die Leukozyten (13,75 *10³/ml [IQR 12,7-14,8] vs. 11,4 *10³/ml [IQR 9,6-13,5]; p=0,003) als auch das CRP (8,5 mg/l [IQR 3,5-13,5] vs. 4,0 mg/l [IQR 2-7]; p=0,018) im Mann-Whitney-U-Test signifikante Unterschiede zwischen den Entbindungsgruppen. Für die Prädiktion einer Frühgeburt vor 34 SSW berechnete sich in der ROC-Analyse für das CRP eine AUC von 0,69 (95% KI 0,53 - 0,85; optimaler Trennwert 8,5 mg/l) und für die Leukozytenzahl eine AUC von 0,74 (95% KI 0,61 - 0,87; optimaler Trennwert 11,7 *10³/ml; Abb. 27).

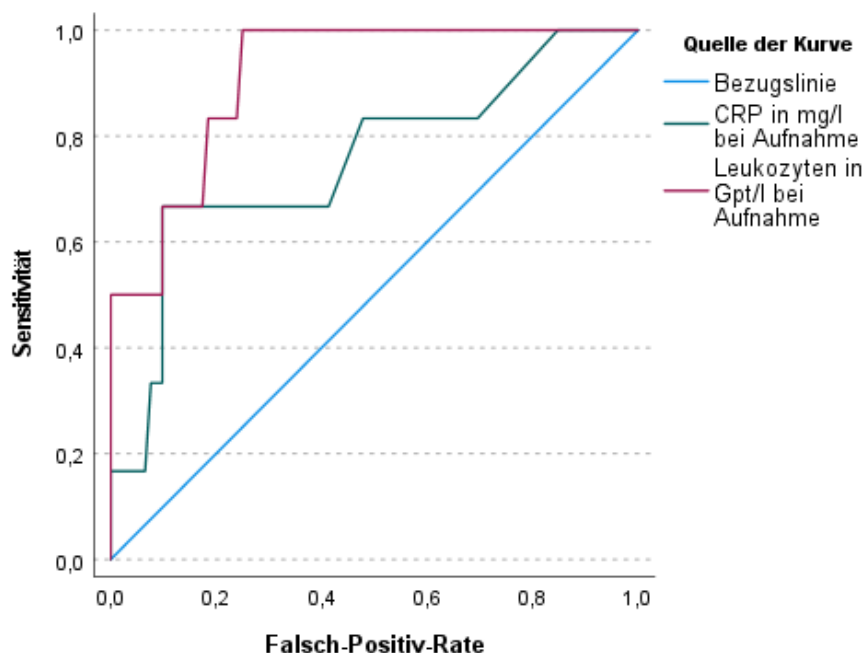


Abbildung 27: ROC-Kurven für die Prädiktion einer spontanen Frühgeburt <34 SSW mit den maternalen Serum-Laborparametern CRP in mg/l (AUC=0,69; grün) und Leukozyten in Gpt/l (AUC=0,74; lila), dargestellt mit Bezugslinie (hellblau)

Für das Studienziel Entbindung innerhalb von 7 Tagen ergaben sich die folgenden Resultate: Im Serum zeigten sich erhöhte CRP-Werte (12,5 mg/l [IQR 5-16] vs. 4,0 mg/l [IQR 2-7,5]; $p=0,038$) mit einer AUC für CRP von 0,75 (95% KI 0,53 – 0,98; optimaler Trennwert 11 mg/l). Die Prädiktion mithilfe der Leukozyten zeigte sogar noch bessere Werte ($16,43 \cdot 10^3/\text{ml}$ [IQR 14,4-19,8] vs. $11,85 \cdot 10^3/\text{ml}$ [IQR 9,7-13,6]; $p<0,001$) mit einer ROC-AUC von 0,914 (95% KI 0,83 – 1; optimaler Trennwert $13,6 \cdot 10^3/\text{l}$). Insgesamt betrachtet scheinen beide Infektparameter eine gute prädiktive Aussage im Kurzzeitintervall zuzulassen.

Tabelle 17: Testcharakteristika für CRP und Leukozyten für Entbindung <34 SSW und Prädiktionsintervall 7 Tage in Bezug auf die optimalen Trennwerte

		Cutoff	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	LR+	LR-	Odds Ratio (95 % KI)
CRP [mg/l]	<34 SSW	8,5	0,50	0,87	0,42	0,90	3,7	0,6	6,5 (2,0-20,7)
	7 Tage Intervall	11,0	0,67	0,90	0,31	0,98	6,8	0,4	18,4 (3 - 115,1)
Leukozyten [$\times 10^3/\text{l}$]	<34 SSW	11,7	0,94	0,42	0,24	0,97	1,6	0,2	10,9 (1,4-86,7)
	7 Tage Intervall	13,6	0,83	0,76	0,16	0,99	3,5	0,2	16,1 (1,8-145,6)

PPV= positiver Vorhersagewert, NPV= negativer Vorhersagewert, LR = Likelihood Ratio, KI= Konfidenzintervall, n.k.= nicht kalkulierbar,

Auch bei Ausschluss der Mehrlingsschwangerschaften ($n=84$) blieben die prädiktiven Eigenschaften für die Leukozyten bei Entbindung vor 34 SSW ($p= 0,009$) und innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme ($p< 0,001$) statistisch signifikant (Abb. 28). Die Leukozyten stellten somit auch für Einlingsschwangerschaften einen potentiellen prädiktiven Biomarker dar.

Nach Ausschluss von Mehrlingsschwangerschaften zeigte das CRP für Einlingsschwangerschaften keine signifikanten Unterschiede zwischen den Entbindungsgruppen mehr.

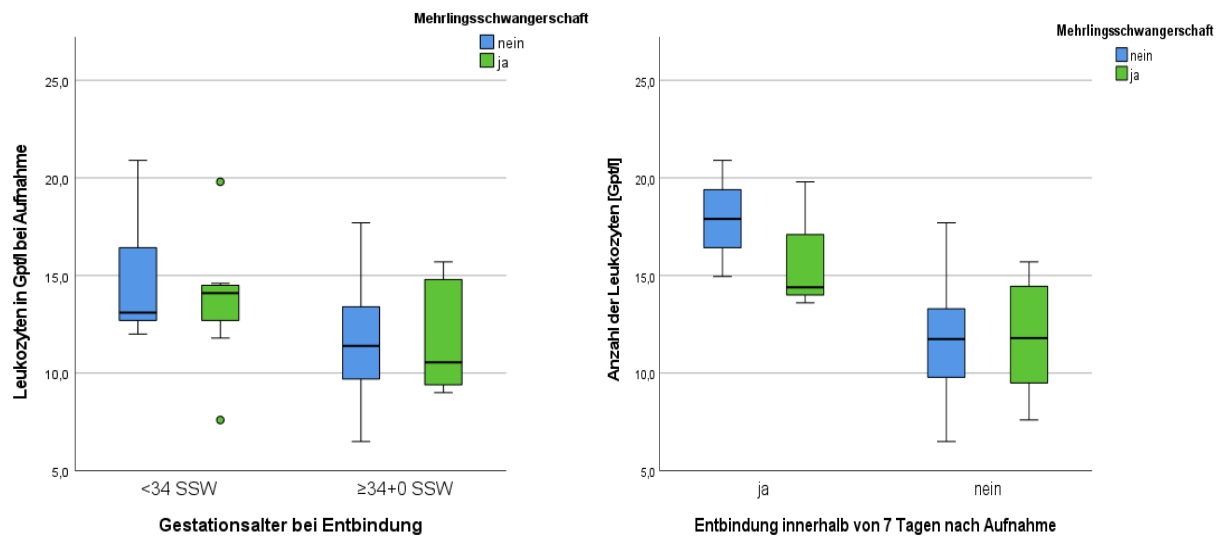


Abbildung 28: Interaktion von Mehrlingsgravidita mit der Anzahl der Leukozyten im maternalen Serum bei Aufnahme mit dem Studienziel Entbindung vor der vollendeten 34. SSW (links; $p=0,009$) und Entbindung innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme (rechts; $p < 0,001$); dargestellt im Boxplot (gruppiert)

4.12 Kombination CXCL10/CCL2 mit Zervixlänge in einem Modell

Die sonografische Evaluation der Zervixlänge stellt in der klinischen Prädiktion der Frühgeburt ein zentraler Faktor für die Risikoevaluation dar. In einem weiteren Modell kombinierten wir die Zervixlänge der Probandinnen bei Aufnahme mit der CXCL10/CCL2-Ratio. Dies führte im Ergebnis jedoch nicht zu einer Verbesserung der Prädiktion (ROC-AUC 0,827 vs. 0,842; $p=0,734$).

5 Diskussion

5.1 Relevanz des Themas

Die Prädiktion einer Frühgeburt allein mithilfe von klinischen Parametern (vorzeitige Wehen, Cervixverkürzung) zeigt im Alltag eine niedrige Spezifität. In unserem Kollektiv endeten 36 von 109 Schwangerschaften mit Anzeichen einer drohenden spontanen Frühgeburt tatsächlich mit Entbindung vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche (33,02 Prozent).

Die aktuellen Daten zur Verwendung von proinflammatorischen Chemokinen als Marker für spontane Frühgeburten sind sehr widersprüchlich und es wurde noch kein Biomarker zur optimalen Prädiktion einer Frühgeburt identifiziert [130]. Die bereits auf dem Markt befindlichen Biomarker (PAMG-1, fFN und pHIGFPB-1) werden alle durch einen cervikovaginalen Abstrich gewonnen und sollen laut Leitlinie symptomatischen oder Risikoschwangeren vorbehalten sein, um das Risiko einer Frühgeburt innerhalb der nächsten 7 Tage abzuschätzen [16, 37, 42, 55, 87, 129, 164]. Insbesondere die Abschätzung des langfristigen Frühgeburtsrisikos über einen Zeitraum von mehr als ein bis zwei Wochen hinaus stellt bis heute eine große Herausforderung dar.

Insgesamt gibt es mehr als hundert verschiedene Biomarker, die in den letzten 25 Jahren zur Vorhersage von spontanen Frühgeburten untersucht wurden [130]. Die Heterogenität vieler Studien in Bezug auf Studiendesign, Ein- und Ausschlusskriterien der Probanden und das primäre Studienziel stellt eine kaum zu bewältigende Herausforderung im Vergleich und der Bewertung der einzelnen Ergebnisse dar [11]. Da sie an proinflammatorischen Reaktionen beteiligt sind, scheinen Chemokine im Vergleich zu anderen Substanzklassen von besonderem Interesse zu sein (54,3 Prozent aller untersuchten Biomarker). Die Testung von Biomarkern im Serum ist dabei besonders attraktiv, da diese unabhängig von im Voraus erfolgten Untersuchungen jederzeit ohne mögliche Verfälschung des Testergebnisses durchgeführt werden kann und die venöse Blutabnahme ein einfaches und etabliertes Prozedere ohne Risiko für den Erhalt der Schwangerschaft darstellt.

5.2 Prädiktion durch CCL2 (MCP-1)

CCL2, welches unter anderem in Trophoblasten und dezidualen Stromazellen exprimiert wird, spielt eine essenzielle regulatorische Rolle bei der Aufrechterhaltung der feto-maternalen Immuntoleranz.

Im Rahmen des aktiven Geburtsvorganges lockt CCL2 in großen Mengen proinflammatorische Makrophagen vom M1-Typ, CD4+ T-Lymphozyten und T-regulatorische Zellen (T-regs) an,

welche wiederum die Ausschüttung von CCL2 im Sinne eines positiven Feedbacks steigern [114]. Im Rahmen dieser Studie wurde daher eine erhöhte Chemokinkonzentration im maternalen peripheren Blut erwartet. Zum Entnahmezeitpunkt bei Studieneinschluss wurden im maternalen Serum jedoch niedrigere CCL2-Konzentrationen bei Frauen mit nachfolgender Frühgeburt festgestellt.

In der Forschung konnten ebenfalls widersprüchliche Ergebnisse zum Verhalten von CCL2 bei Frühgeburten gefunden werden. In einem Tiermodell der Maus konnte eine mit zunehmendem Gestationsalter ansteigende Konzentration von CCL2 im Blut detektiert werden. Kurz vor der Geburt erfolgte eine massive Leukozyten-Migration in Richtung Uterus und fetale Membranen, welche mit einer deutlich erhöhten lokalen proinflammatorischen CCL2-Expression und einem simultanen Abfall der Chemokinkonzentration im maternalen Blut aufgrund vermehrter Chemotaxis einherging [60]. In Übereinstimmung mit diesem Resultat fanden Hamilton et al. im mütterlichem Blut ebenfalls niedrigere CCL2-Spiegel bei Frauen mit Frühgeburt im Vergleich zu Kontrollen mit Termingeburt [68]. Allerdings erfolgte hier die Entnahme der Blutproben erst während des aktiven Geburtsvorganges (Muttermund >3cm geöffnet), sodass in diesem Sinne keine prädiktive Langzeitaussage getroffen werden kann. In einer Fall-Kontroll-Studie von Serumproben von Probandinnen am Ende des zweiten Trimesters (26 SSW bis 29 SSW) im Vergleich zur Entbindung konnte zwischen Früh- und Termingeburten keine Gruppenunterschiede gefunden werden [25].

Die genannten Ergebnisse bestätigen allerdings die im Rahmen dieser Arbeit gemachten Beobachtungen, dass CCL2 im maternalen Blut am ehesten in einem kurzen Zeitraum vor Entbindung erniedrigte Serumspiegel aufweist, vermutlich infolge einer späten Umverteilung CCL-2 sezernierender Zellen aus dem Blut in uterines und fetales Gewebe kurz vor der Entbindung.

Studien zur CCL2-Expression in uterinem oder fetalem Gewebe sind wesentlich umfangreicher mit homogenen Resultaten: In der CVF konnten erhöhte CCL2-Konzentrationen bei Risikoschwangeren (anamnestisch mindestens eine Frühgeburt) mit simultaner Cervixverkürzung (<25 mm) vor 24 SSW und nachfolgender Frühgeburt festgestellt werden [32, 151]. Des Weiteren zeigten gesteigerte CCL2 und IL-6 Konzentrationen in der CVF eine signifikante Assoziation zu Entbindung innerhalb der nächsten sieben Tage [73]. Sowohl in der Plazenta, den Eihäuten und im Myometrium konnten während des aktiven Geburtsvorganges und insbesondere bei Frühgeburten, erhöhte CCL2-Werte im Vergleich zum nichtkontrahierenden Myometrium detektiert werden [27, 32, 48, 73, 163].

Auch in Fruchtwasserproben konnten bei Risikopatientinnen in einer prospektiven Studie erhöhte Konzentrationen von CCL2 nachgewiesen werden. Besonders deutlich waren die

Ergebnisse bei Entbindung innerhalb von sieben Tagen [1, 83, 59,]. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen waren bei Frauen mit im Verlauf aufgetretener früher Frühgeburt vor 32 Schwangerschaftswochen erhöhte IL-6 Werte im Fruchtwasser zu beobachten, wobei IL-6 maßgeblich die Expression von CCL2 induziert [57]. In einigen Studien wurden erhöhte CCL2-Expressionen, insbesondere nach pPROM, mit infektionsassoziierten Frühgeburten in Verbindung gebracht [160, 74, 110, 120] .

Insgesamt betrachtet ist CCL2 ein Biomarker, welcher sowohl in Geweben, der CVF, im Fruchtwasser als auch im peripheren Blut detektiert werden kann. Eine Korrelation zwischen CCL2-Konzentrationen im Serum und im Fruchtwasser bzw. CVF konnte bisher nicht eindeutig belegt werden [35, 110]. Eine Erniedrigung der Serum-CCL2-Konzentrationen ermöglichte im Rahmen dieser Studie allein eine Kurzzeitprädiktion einer nachfolgenden Frühgeburt innerhalb eines Zeitintervalls von einer Woche mit einem ROC von 0,83, einer Sensitivität von 0,83, einem PPV von 0,23 und einer LR+ von 17,1. Im Vergleich zu bereits etablierten Biomarkern zeigte PAMG-1 in einer Metaanalyse zwar eine schlechtere Sensitivität (0,76), jedoch einen besseren PPV von 0,76 und eine bessere positive Likelihood Ratio von 22,51 und scheint nach diesen Ergebnissen für den Aspekt der 7-Tage-Prädiktion besser geeignet zu sein [129].

Eine Studie zur Anwendung von CCL2 als Serum-Screening-Marker zur langfristigen Prädiktion einer Frühgeburt mit Blutentnahme während des zweiten Trimesters (16.-20. SSW) zeigte in einem Niedrigrisiko-Kollektiv keine signifikanten Ergebnisse [99].

5.3 Prädiktion durch CXCL10 (IP-10)

CXCL10 wird sowohl von dezidualen Stroma- und Epithelzellen als auch im fetalen Chorion produziert [46, 97]. Im Gegensatz zur inversen Korrelation bei CCL2, stellte die in unserer Studie erhöhte maternale Serumkonzentration von CXCL10 als proinflammatorischer Biomarker im Rahmen einer systemischen Entzündungsreaktion ein erwartetes Ergebnis dar. Die beste Prädiktion von den untersuchten Zusammenhängen gewährleistet CXCL10 bei Voraussage einer spontanen Frühgeburt von 34 SSW.

In einer vergleichbaren prospektiven Studie wurden Serumproben von Probandinnen zwischen 23 und 36 SSW mit Anzeichen einer drohenden Frühgeburt bei erstmaliger Klinikvorstellung entnommen, auf verschiedene Biomarker inklusive CXCL10 untersucht und retrospektiv in zwei Gruppen (tatsächliche spontane Frühgeburt vs. terminnahe Geburt trotz Symptomatik) eingeteilt. Im Unterschied zu unserer Studie wurden Mehlingsschwangerschaften von der Teilnahme ausgeschlossen. Die Serumkonzentrationen wurden ebenfalls mithilfe eines Sandwich-ELISA Verfahrens analysiert. Im Studienergebnis

konnten jedoch keine signifikanten Gruppenunterschiede für CXCL10 beobachtet werden [104, 105]. Möglicherweise ist diese Ergebnisdiskrepanz durch das im Rahmen der Einschlusskriterien festgelegte höhere Gestationsalter bei Aufnahme sowie den primären Endpunkt mit Frühgeburt vor 37 SSW und somit anderen festgelegten Test-Trennwerten zu erklären. Zwei Studien bei asymptomatischen Probandinnen zeigten ebenfalls keine Assoziation zwischen CXCL10-Konzentrationen im maternalen Serum und dem Auftreten einer Frühgeburt [57, 66]. Stattdessen konnte eine Assoziation zwischen erhöhten CXCL10-Serumkonzentrationen und dem Auftreten einer Präeklampsie oder Chorioamnionitis im Verlauf detektiert werden [61, 107].

Interessanterweise fanden sich erhöhte IL-27 Serumwerte bei Frauen mit nachfolgender Frühgeburt [127]. Die Expression von IL-27 korreliert stark mit der von CXCL10, was indirekt unser Ergebnis bestätigt [49, 84].

Im cervikovaginalen Sekret wurden höhere CXCL10-Konzentrationen bei Frauen mit nachfolgender spontaner Frühgeburt in einer prospektiven Studie nachgewiesen [27]. Dabei zeigte sich die stärkste prädiktive Power für CXCL10 im ersten Trimester.

Gervasi et al. konnten prospektiv eine Assoziation zwischen erhöhten CXCL10-Konzentrationen im Fruchtwasser und einer Frühgeburt >32 SSW feststellen [57]. Erhöhte intraamniotische CXCL10-Konzentrationen waren ebenfalls mit einer Chorioamnionitis [92, 93, 123, 145], Choriovillitis [95] sowie einer Präeklampsie [25, 61, 158] assoziiert.

Im Gesamtbild ist CXCL10 ein Biomarker, welcher bei verschiedenen spezifischen schwangerschaftsassozierten Krankheitsbildern lokal erhöht ist. All diese können jedoch auch als Manifestation einer chronischen lokalen Entzündung gewertet werden und eine gemeinsame pathophysiologische Endstrecke im Rahmen einer Frühgeburt darstellen. Die vorliegenden Studien enthalten wahrscheinlich auch deshalb für CXCL10 keine prädiktive Aussage zu asymptomatischen Frauen. Unsere Studie ist die erste, die eine längerfristige prädiktive Eigenschaft von CXCL10 mit einem Prädiktionsintervall von über 60 Tagen und einer 3,4-fachen Risikoerhöhung im maternalen peripheren Serum feststellt.

5.4 Prädiktion durch Serpin B7

Serpin B7 ist ein Biomarker, welcher im Gegensatz zu den untersuchten Chemokinen bisher nur in einer einzigen Studie als Prädiktor einer Frühgeburt analysiert wurde. In ihrer Fall-Kontroll-Studie verglichen Parry und Zhang et al die mittlere Serumkonzentration von Frauen zwischen 19 bis 24 SSW und 28 bis 32 SSW mit klinisch gepaarten Kontrollprobandinnen. Sie

wiesen eine 1,5-fach höhere Serpin B7-Konzentration bei Frauen zwischen der 28. und 32. Schwangerschaftswoche mit nachfolgender Frühgeburt im Vergleich zu den Kontrollen nach [137]. In der frühen Testgruppe zwischen der 19. bis zur 24. SSW zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Im Western Blot konnten sie Serpin B7 sowohl bei den Fällen als auch bei den Kontrollen in der Placenta, im Chorion und in der Amnionflüssigkeit nachweisen. Gegenstand dieser Studie war ebenfalls die Bestimmung von Serpin B7 im maternalen peripheren Serum. Im Ergebnis unserer Studie konnten keine signifikanten Unterschiede der Serpin B7-Plasmakonzentration zwischen Risikopatientinnen mit spontaner Frühgeburt (<34 SSW oder <37 SSW) oder terminnaher Geburt festgestellt werden. Ebenfalls zeigte sich kein Zusammenhang zum Geburtsintervall von 7 oder 14 Tagen. Die Ergebnisse von Parry und Zhang et al konnten in unserer Studie nicht bestätigt werden. Eine mögliche Ursache für die abweichenden Werte könnte das differierende Studiendesign mit anderen Einschlussvoraussetzungen sein, wobei die Vergleichsstudie Frauen ohne aktuelle symptomatische Anzeichen für eine Frühgeburt integrierte. Basierend auf unseren Ergebnissen ist Serpin B7 nicht zur Prädiktion einer spontanen Frühgeburt bei symptomatischen Risikopatientinnen bei Testung zwischen 20 und 32 SSW geeignet.

5.5 Prädiktion durch CXCL10/ CCL2- Quotienten

Es sind bereits Studien veröffentlicht worden, die mehrere Faktoren zu einem neuen Prädiktionsmodell mit besserer gepoolter Aussagekraft kombinieren, beispielsweise eine Kombination aus einem Biomarker und der Zervixlänge [94, 141] oder Kombination aus zwei Biomarkern [96] oder sogar mehr als zwei Faktoren [167]. Die meisten dieser Modelle erfassen jedoch nur ein prädiktives Intervall von 7 Tagen.

Eine ergänzende Kombination von CXCL10 und CCL2 erschien wegen der unterschiedlichen Vorhersageintervalle sinnvoll. Aufgrund der gegensätzlichen Veränderungen bot es sich an, den Quotienten zu bilden. Bisher liegen keine Studien zu diesem Quotienten vor. Der CXCL10/CCL2-Quotient zeigte in unserer Studie die beste Testgenauigkeit für die längerfristige Vorhersage spontaner Frühgeburten mit einer ROC-AUC von 0,83, einer Sensitivität von 0,67 und einem PPV von 0,43 für Entbindungen <34 SSW. Die Ergebnisse blieben auch nach Adjustierung mittels logistischer Regression signifikant. Für eine Entbindung innerhalb von 7 Tagen zeigte der CXCL10/CCL2-Quotient ebenfalls eine gute globale Testcharakteristik mit einer ROC-AUC von 0,87, einer Sensitivität von 0,83 und einem PPV von 0,25.

5.6 Prädiktion durch Leukozyten und CRP

Die Leukozyten beschreiben die Gesamtheit aller weißen Blutkörperchen, welche im Knochenmark sowie lymphatischen Gewebe gebildet, und diagnostisch im Differenzialblutbild genauer unterteilt werden können. Die Granulozyten (darunter Neutrophile, Basophile und Eosinophile) sind für die primäre unspezifische Immunabwehr und die Initiierung der Inflammation verantwortlich. Die Lymphozyten sind an der spezifischen Immunabwehr beteiligt und können in T- und B-Zellen eingeteilt werden können. Während die B-Zellen Teil des Antikörper-bildenden Systems sind, sind die T-Zellen nach Aktivierung maßgeblich an der Ausschüttung von Mediatoren wie Zytokinen und Chemokinen und damit an der Rekrutierung weiterer Immunzellen beteiligt. Ein weiterer Bestandteil der Leukozyten sind die Monozyten, welche sich zu M1-/M2-Makrophagen entwickeln. Im Rahmen einer Infektion sowie beim Zusammenbruch der Immuntoleranz kommt es zur Aktivierung der Immunabwehr, welche laborchemisch durch den Anstieg der Leukozyten beobachtet werden kann.

Das CRP ist ein Akute-Phase-Protein, welches in der Leber unter dem Einfluss von IL-6 gebildet wird und neben den Leukozyten zu den wichtigsten Infektparametern gehört. Es ist in der Lage, sich an Bakterien, Makrophagen, sowie an die Membran zerstörter Körperzellen anzulagern und anschließend das Komplementsystem zu aktivieren. Ein Anstieg des CRP kann im Blut detektiert werden. Es zählt insgesamt jedoch als unspezifischen Marker, da es ebenfalls bei nicht akut-infektiösen Erkrankungen wie Malignomen, Gewebnekrosen, nach operativen Eingriffen oder auch bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen erhöht sein kann.

Interessanterweise ließ sich in unserer Studie zunächst anhand beider Routinelaborparameters eine Prädiktion sowohl für eine Frühgeburt vor 34 SSW als auch innerhalb von 7 Tagen feststellen. Nach Ausschluss von Mehrlingsschwangerschaften zeigte das CRP jedoch eine deutlich schlechtere Vorhersage, sodass laut unseren Studienergebnissen keine Prädiktion bei Einlingsschwangerschaften möglich ist. Die Ergebnisse der Leukozyten verblieben signifikant.

In mehreren Studien mit prospektivem Studiendesign konnten bereits eine Assoziation zwischen einer Leukozytose und symptomatischen Frauen mit nachfolgender Frühgeburt nachgewiesen werden [28, 168]. Auch das Serum-CRP kann, insbesondere bei Bestimmung vor der 20. Schwangerschaftswoche, eine Frühgeburt oder andere Schwangerschaftskomplikationen voraussagen [33, 118, 132]. Einige Studien stellten dabei einen Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Testung und davon abhängiger besserer Testpower von CRP oder Leukozyten dar [72].

Dem entgegenstehend sind auch Studien zu finden, bei denen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten [104, 162].

5.7 Stärken und Methodenkritik

Eine Stärke der hier durchgeführten Kohortenstudie ist das prospektive Design und die Verwendung von realitätsbezogenen Einschlusskriterien. Keine der Frauen wurde letztlich ausschließlich aufgrund von anamnestischen Risikofaktoren aufgenommen. Aufgrund der im Studiendesign festgelegten Aufnahmebedingungen ist jedoch eine Verallgemeinerung der Ergebnisse auf alle Schwangeren und die Interpretation des Ergebnisses außerhalb der Risikokohorte bisher nicht vollständig möglich. Der Einschluss von Mehrlingsgraviditäten erhöht die Heterogenität des Studienkollektivs, jedoch blieben die meisten Ergebnisse auch nach Ausschluss der Mehrlingsschwangerschaften vergleichbar.

Das Ziel unserer Studie ist eine frühzeitige und damit potentiell vermeidbare Prädiktion und Detektion einer Frühgeburt anhand von Biomarkern im maternalen Serum. Insbesondere der CXCL10/CCL2-Quotient liefert in unserer Studie vielversprechende Ergebnisse und sollte im Rahmen einer multizentrischen Studie mit größerem Studienkollektiv validiert werden. Eine frühzeitige Prädiktion eines erhöhten Frühgeburtsrisikos könnte eine gezieltere Beratung und Überwachung von Risikopatientinnen ermöglichen und bei negativem Testergebnis eine prophylaktische Übertherapie verhindern.

Die Etablierung als Routineuntersuchung könnte eine kostengünstigere und zeiteffektivere Methode darstellen.

6 Zusammenfassung

Zielsetzung: Aktuelle Untersuchungen weisen CCL2 (MCP-1), CXCL10 (IP-10) und Serpin B7 als potentielle Prädiktoren zur längerfristigen Abschätzung des Frühgeburtsrisikos auf. Ziel der Studie war es, diese Biomarker im Rahmen einer größeren Kohorte mit Risikopatientinnen zu untersuchen.

Material & Methoden: In einer prospektiven Studie wurden 109 schwangere Frauen mit Zeichen einer drohenden Frühgeburt (vorzeitige Wehen ($>3/30\text{min}$), Cervixlänge $<25\text{ mm}$) oder anamnestisch stattgehabter Frühgeburt in einer vorherigen Schwangerschaft zwischen 20+0 und 31+6 SSW eingeschlossen. Bei Kreißsaal- Vorstellung erfolgte die Entnahme einer maternalen Blutprobe. Mithilfe von Enzym-gekoppelten Immunosorbent-Assays (ELISA) wurden die Serumkonzentrationen der drei Biomarker bestimmt.

Resultate: Sechzehn Frauen (14,67%) wurden vor 34 SSW entbunden, weitere 20 Frauen zwischen 34 und 37 SSW (18,35 %). Sechs Frauen (5,5 %) entbanden innerhalb von 7 Tagen nach Studieneinschluss. CXCL10 zeigte signifikant höhere Serumkonzentrationen bei Frauen mit früher Frühgeburt $<34\text{ SSW}$ (115 pg/ml vs. 61 pg/ml; $p<0,001$) und bei Frauen mit Frühgeburten $<37\text{ SSW}$ insgesamt (103 pg/ml vs. 53; $p<0,001$). Im Vergleich dazu konnten erniedrigte Serumkonzentrationen von CCL2 bei Entbindung $<34\text{ SSW}$ (46 pg/ml vs. 73 pg/ml; $p=0,032$) und bei Frauen mit Entbindung innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme (25 pg/ml vs. 73 pg/ml; $p=0,008$) festgestellt werden. Der zusätzlich berechnete CXCL10/CCL2-Quotient zeigte ebenfalls signifikant höhere Werte bei Frauen mit Frühgeburt unter der 34. Schwangerschaftswoche (2,7 vs. 0,8; $p<0,001$) und bei den Frühgeburten <37 Schwangerschaftswochen (2,5 vs. 0,7; $p<0,001$). Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Serumkonzentrationen der Entbindungsgruppen für Serpin B7. Die Leukozytenzahl bei Aufnahme eignete sich als Parameter zur Abschätzung einer Frühgeburt innerhalb von 7 Tagen nach Studienaufnahme (ROC-AUC 0,914; $p<0,001$).

Diskussion: Niedrige maternale CCL2-Serumkonzentrationen sind mit einem Entbindungsintervall unter sieben Tagen assoziiert. Hohe CXCL10-Konzentrationen sind mit einem erhöhten Risiko für eine Frühgeburt vor der 34. Schwangerschaftswoche assoziiert, wobei die Vorhersagekraft deutlich über eine Woche nach Testung hinausgeht. Ein erhöhter Chemokine-Quotient (CXCL10/CCL2) zeigte die beste Korrelation zur verbleibenden Schwangerschaftszeit und der allgemeinen prädiktiven Teststärke. Die Ergebnisse des CXCL/CCL2-Quotienten zeigten sich auch nach Ausschluss von Mehrlingsschwangerschaften signifikant.

7 Thesen

1. Der Biomarker Serpin B7 im maternalen Serum war nicht für eine Prädiktion einer Frühgeburt <34 SSW oder innerhalb von 7 Tagen geeignet.
2. Der Biomarker CCL2 zeigte sich bei Probandinnen mit nachfolgender Frühgeburt im Vergleich zu Frauen ohne Frühgeburt im Serum erniedrigt. Eine Voraussage im 7-Tage-Kurzzeitintervall zeigte bessere Ergebnisse als bei Prädiktion einer Frühgeburt unter 34 SSW (ROC-AUC 0,83 vs. 0,67).
3. Die Serumkonzentration von CXCL10 war bei Frauen mit Entbindung unter 34 SSW signifikant erhöht: ROC-AUC von 0,8 (95% KI 0,72 - 0,89) mit optimalem Trennwert 72,98 pg/ml: Sensitivität 100%; Spezifität 63 %; PPV 32 %; NPV 100 %; LR+ 2,73.
4. Der CXCL10/CCL2-Quotient zeigte die beste Performance in Bezug auf die Prädiktion einer FG vor 34 SSW: Sensitivität 83%; Spezifität 85 %; PPV 25 %; NPV 99 %; Odds Ratio 28,7 (95 % Konfidenzintervall 3,1 – 263); ROC-AUC von 0,83 (95% KI 0,73 – 0,93) mit einem optimalen Trennwert von 2,2.
 - Ein positives Testergebnis (CXCL10/CCL2-Quotient >2,2) zeigte eine fast dreifache Erhöhung des Prätestrisikos (43 % vs. 14,7 %) für die Entbindung <34 SSW.
 - Ein negatives Testergebnis halbierte das Prätestrisiko auf 6 %.
5. Nach der logistischen Regression verblieb der CXCL10/CCL2-Quotient neben den Faktoren Mehrlingsschwangerschaft und Adipositas als unabhängiger prädiktiver Faktor für eine FG <34 SSW (adjustierte OR 15,9; $p < 0,001$).
6. Der CXCL10/CCL2-Quotient erlaubte eine prädiktive Aussage über einen Zeitraum von mehr als 2 Wochen hinweg.
7. Der Einschluss von Mehrlingsschwangerschaften in das Studienkollektiv beeinflusst das Ergebnis der Biomarker und deren prädiktive Funktion nicht signifikant.
8. Die Leukozytenzahl im maternalen Serum erlaubt eine gute Prädiktion in einem Kurzzeitintervall von 7 Tagen: Sensitivität 83%; Spezifität 76%; PPV 16%; NPV 99 %, nicht adjustierte Odds Ratio 16,1; ROC-AUC 0,914 (95% KI 0,83 – 1) mit einem optimalen Trennwert von $13,6 \cdot 10^3$ Leukozyten/l.

8 Literaturverzeichnis

- [1] Adi L. Tarca, Wendy Fitzgerald, Piya Chaemsaitong, Zhonghui Xu, Sonia S. Hassan, Jean-Charles Grivel, Nardhy Gomez-Lopez, Bogdan Panaitescu, Percy Pacora, Eli Maymon, Offer Erez, Leonid Margolis, and Roberto Romero. 2017. The cytokine network in women with an asymptomatic short cervix and the risk of preterm delivery. *American Journal of Reproductive Immunology* 78, 3, e12686.
- [2] Alfirevic, Z., Allen-Coward, H., Molina, F., Vinuesa, C. P., and Nicolaides, K. 2007. Targeted therapy for threatened preterm labor based on sonographic measurement of the cervical length: a randomized controlled trial. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 29, 1, 47–50.
- [3] Almonte, A. G. and Sweatt, J. D. 2011. Serine proteases, serine protease inhibitors, and protease-activated receptors: roles in synaptic function and behavior. *Brain research* 1407, 107–122.
- [4] Amylidi-Mohr, S. and Müller, M. 2018. Biomarker und Ultraschall zur Frühdiagnostik. Wo stehen wir heute? *Gynäkologie 2/2018*, 6–11.
- [5] Ananth, C. V. and Am Vintzileos. 2006. Epidemiology of preterm birth and its clinical subtypes. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 19, 12.
- [6] Antonelli, A., Ferrari, S. M., Giuggioli, D., Ferrannini, E., Ferri, C., and Fallahi, P. 2014. Chemokine (C-X-C motif) ligand (CXCL)10 in autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews* 13, 3, 272–280.
- [7] AWMF. *Frühgeborene an der Grenze der Lebensfähigkeit. Leitlinie von GNPI, DGGG, DGKJ, DGPM und AEM (S2k-Leitlinie, AWMF-Leitlinie-Register 024/019)*.
- [8] Aydin, S. 2015. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides* 72, 4–15.
- [9] Bardou, M., Hadi, T., Mace, G., Pesant, M., Debermont, J., Barrichon, M., Wendremaire, M., Laurent, N., Sagot, P., and Lirussi, F. 2014. Systemic increase in human maternal circulating CD14+CD16- MCP-1+ monocytes as a marker of labor. *American journal of obstetrics and gynecology* 210, 1, 70.e1-70.e9.
- [10] Barna, B. P., Pettay, J., Barnett, G. H., Zhou, P., Iwasaki, K., and Estes, M. L. 1994. Regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression in adult human non-neoplastic astrocytes is sensitive to tumor necrosis factor (TNF) or antibody to the 55-kDa TNF receptor. *Journal of Neuroimmunology* 50, 1, 101–107.

- [11] Bastek, J. A. and Elovitz, M. A. 2013. The role and challenges of biomarkers in spontaneous preterm birth and preeclampsia. *Fertility and sterility* 99, 4, 1117–1123.
- [12] Beck, S., Wojdyla, D., Say, L., Betran, A. P., Merialdi, M., Requejo, J. H., Rubens, C., Menon, R., and Van, L. P. F. 2010. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bulletin of the World Health Organization* 88, 1.
- [13] Behrman, R. E. and Butler, A. S., Eds. 2007. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*, Washington (DC).
- [14] Ben-Haroush, A., Poran, E., Yogev, Y., and Glezerman, M. 2010. Vaginal fetal fibronectin evaluation before and immediately after ultrasonographic vaginal cervical length measurements in symptomatic women at risk of preterm birth: a pilot study. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 23, 8, 854–856.
- [15] Benoist, G. 2016. Prédiction de l'accouchement prématuré chez les femmes symptomatiques (en situation de menace d'accouchement prématuré). *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction* 45, 10, 1346–1363.
- [16] Berger, R., Abele, H., Bahlmann, F., Bedei, I., Doubek, K., Felderhoff-Müser, U., Fluhr, H., Garnier, Y., Grylka-Baeschlin, S., Helmer, H., Herting, E., Hoopmann, M., Hösli, I., Hoyme, U., Jendreizeck, A., Krentel, H., Kuon, R., Lütje, W., Mader, S., Maul, H., Mendling, W., Mitschdörfer, B., Nicin, T., Nothacker, M., Olbertz, D., Rath, W., Roll, C., Schlembach, D., Schleußner, E., Schütz, F., Seifert-Klauss, V., Steppat, S., and Surbek, D. 2019. Prävention und Therapie der Frühgeburt. Leitlinie der DGGG, OEGGG und SGGG (S2k-Niveau, AWMF-Registernummer 015/025, Februar 2019) – Teil 2 mit Empfehlungen zur tertiären Prävention der Frühgeburt und zum Management des frühen vorzeitigen Blasensprungs. *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie* 223, 6, 373–394.
- [17] Berghella, V., Palacio, M., Ness, A., Alfirovic, Z., Nicolaidis, K. H., and Saccone, G. 2017. 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 in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 49, 3, 322–329.
- [18] Berghella, V. and Saccone, G. 2019. Fetal fibronectin testing for reducing the risk of preterm birth. *The Cochrane database of systematic reviews* 7, 7, CD006843.
- [19] Bittar, R. E., da Fonseca, E. B., Carvalho, M. H. B. de, Martinelli, S., and Zugaib, M. 2007. Predicting preterm delivery in asymptomatic patients with prior preterm delivery

- by measurement of cervical length and phosphorylated insulin-like growth factor-binding protein-1. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 29, 5, 562–567.
- [20] Blencowe, H., Cousens, S., Oestergaard, M. Z., Chou, D., Moller, A. B., Narwal, R., Adler, A., Vera, G. C., Rohde, S., Say, L., and Lawn, J. E. 2012. 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. *Lancet (London, England)* 379, 9832.
- [21] Bolotskikh, V. and Borisova, V. 2017. Combined value of placental alpha microglobulin-1 detection and cervical length via transvaginal ultrasound in the diagnosis of preterm labor in symptomatic patients. *The journal of obstetrics and gynaecology research* 43, 8, 1268.
- [22] Bonecchi, R. and Graham, G. J. 2016. Atypical Chemokine Receptors and Their Roles in the Resolution of the Inflammatory Response. *Front. Immunol.* 7, 224.
- [23] Bonney, E. A. and Johnson, M. R. 2019. The role of maternal T cell and macrophage activation in preterm birth: Cause or consequence? *Placenta* 79, 53–61.
- [24] Boots, A. B., Sanchez-Ramos, L., Bowers, D. M., Kaunitz, A. M., Zamora, J., and Schlattmann, P. 2014. The short-term prediction of preterm birth: a systematic review and diagnostic metaanalysis. *American journal of obstetrics and gynecology* 210, 1, 54.e1-54.e10.
- [25] Brien, M.-E., Boufaied, I., Bernard, N., Forest, J.-C., Giguere, Y., and Girard, S. 2020. Specific inflammatory profile in each pregnancy complication: A comparative study. *Am J Reprod Immunol* 84, 6.
- [26] Bulmer, J. N., Morrison, L., and Smith, J. C. 1988. Expression of class II MHC gene products by macrophages in human uteroplacental tissue. *Immunology* 63, 4, 707–714.
- [27] Buxton, M. A., Meraz-Cruz, N., Sanchez, B. N., Foxman, B., Castillo-Castrejon, M., O'Neill, M. S., and Vadillo-Ortega, F. 2021. Timing of Cervico-Vaginal Cytokine Collection during Pregnancy and Preterm Birth: A Comparative Analysis in the PRINCESA Cohort. *IJERPH* 18, 7, 3436.
- [28] Campbell, M. K., Challis, JR, DaSilva, O., and Bocking, A. D. 2005. A cohort study found that white blood cell count and endocrine markers predicted preterm birth in symptomatic women. *Journal of clinical epidemiology* 58, 3.
- [29] Carlino, C., Stabile, H., Morrone, S., Bulla, R., Soriani, A., Agostinis, C., Bossi, F., Mocci, C., Sarazani, F., Tedesco, F., Santoni, A., and Gismondi, A. 2008. Recruitment of circulating NK cells through decidual tissues: a possible mechanism controlling NK cell accumulation in the uterus during early pregnancy. *Blood* 111, 6.

- [30] Cavoretto, P., Candiani, M., Giorgione, V., Inversetti, A., Abu-Saba, M. M., Tiberio, F., Sigismondi, C., and Farina, A. 2018. Risk of spontaneous preterm birth in singleton pregnancies conceived after IVF/ICSI treatment: meta-analysis of cohort studies. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 51, 1, 43–53.
- [31] Çekmez, Y., Kiran, G., Haberal, E. T., and Dizdar, M. 2017. Use of cervicovaginal PAMG-1 protein as a predictor of delivery within seven days in pregnancies at risk of premature birth. *BMC pregnancy and childbirth* 17, 1, 246.
- [32] Chandiramani, M., Seed, P. T., Orsi, N. M., Ekbote, U. V., Bennett, P. R., Shennan, A. H., and Tribe, R. M. 2012. Limited Relationship between Cervico-Vaginal Fluid Cytokine Profiles and Cervical Shortening in Women at High Risk of Spontaneous Preterm Birth. *PLoS ONE* 7, 12, e52412.
- [33] Chen, Y. S., Mirzakhani, H., Knihtilä, H., Fichorova, R. N., Luu, N., Laranjo, N., Jha, A., Kelly, R. S., Weiss, S. T., Litonjua, A. A., and Lee-Sarwar, K. A. 2022. The Association of Prenatal C-Reactive Protein and Interleukin-8 Levels with Maternal Characteristics and Preterm Birth. *American journal of perinatology*.
- [34] Chou, R.-H. 2011. Suppression of the invasion and migration of cancer cells by SERPINB family genes and their derived peptides. *Oncol Rep*.
- [35] Chow, S. S. W., Craig, M. E., Jones, C. A., Hall, B., Catteau, J., Lloyd, A. R., and Rawlinson, W. D. 2008. Differences in amniotic fluid and maternal serum cytokine levels in early midtrimester women without evidence of infection. *Cytokine* 44, 1, 78–84.
- [36] Chun, E., Lavoie, S., Michaud, M., Gallini, C. A., Kim, J., Soucy, G., Odze, R., Glickman, J. N., and Garrett, W. S. 2015. CCL2 Promotes Colorectal Carcinogenesis by Enhancing Polymorphonuclear Myeloid-Derived Suppressor Cell Population and Function. *Cell reports* 12, 2.
- [37] Cooper, S., Lange, I., Wood, S., Tang, S., Miller, L., and Ross, S. 2012. Diagnostic accuracy of rapid pHIGFBP-I assay for predicting preterm labor in symptomatic patients. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association* 32, 6, 460–465.
- [38] Copper, R. L., Goldenberg, R. L., Dubard, M. B., Hauth, J. C., and Cutter, G. R. 1995. Cervical examination and tocodynamometry at 28 weeks' gestation: prediction of spontaneous preterm birth. *American journal of obstetrics and gynecology* 172, 2 Pt 1, 666–671.
- [39] Cushing, S. D., Berliner, J. A., Valente, A. J., Territo, M. C., Navab, M., Parhami, F., Gerrity, R., Schwartz, C. J., and Fogelman, A. M. 1990. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and

- smooth muscle cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87, 13, 5134–5138.
- [40] Daskalakis, G., Arabin, B., Antsaklis, A., and Cabero Roura, L. 2019. Preterm Labor: Up to Date. *BioMed research international* 2019, 4870938.
- [41] Deshmane, S. L., Kremlev, S., Amini, S., and Sawaya, B. E. 2009. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 29, 6, 313–326.
- [42] Deshpande, S. N., van, A. A. D., Tomini, F., Armstrong, N., Allen, A., Noake, C., Khan, K., Severens, J. L., Kleijnen, J., and Westwood, M. E. 2013. Rapid fetal fibronectin testing to predict preterm birth in women with symptoms of premature labour: a systematic review and cost analysis. *Health technology assessment (Winchester, England)* 17, 40.
- [43] Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe. 2020. Leitlinienprogramm. Prävention und Therapie der Frühgeburt, 53.
- [44] Deutsches IVF Register. *Jahrbuch 2020*, 38.
- [45] Di, R. G. C., Cabero, R. L., Facchinetti, F., Helmer, H., Hubinont, C., Jacobsson, B., Jørgensen, J. S., Lamont, R. F., Mikhailov, A., Papantoniou, N., Radzinsky, V., Shennan, A., Ville, Y., Wielgos, M., and Visser, G. H.A. 2017. Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of Perinatal Medicine. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 30, 17.
- [46] Drake, P. M., Red-Horse, K., and Fisher, S. J. 2002. Chemokine expression and function at the human maternal-fetal interface. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 3, 2, 159–165.
- [47] Du, M.-R., Wang, S.-C., and Li, D.-J. 2014. The integrative roles of chemokines at the maternal–fetal interface in early pregnancy. *Cell Mol Immunol* 11, 5, 438–448.
- [48] Esplin, M. S., Peltier, M. R., Hamblin, S., Smith, S., Fausett, M. B., Dildy, G. A., Branch, D. W., Silver, R. M., and Adashi, E. Y. 2005. Monocyte chemotactic protein-1 expression is increased in human gestational tissues during term and preterm labor. *Placenta* 26, 8-9, 661–671.
- [49] Fan, J., Yang, Y., Wang, L., Shang, X., Zhang, L., Sun, H., Ma, Y., Li, Y., Wang, J., and Ma, X. 2022. Study on the Correlation between Interleukin-27 and CXCL10 in Pulmonary Tuberculosis. *Journal of Immunology Research* 2022.
- [50] Farina, L. and Winkelman, C. 2005. A review of the role of proinflammatory cytokines in labor and noninfectious preterm labor. *Biological research for nursing* 6, 3, 230–238.

- [51] Faron, G., Buyl, R., and Foulon, W. 2015. Does recent sexual intercourse during pregnancy affect the results of the fetal fibronectin rapid test? A comparative prospective study. *Journal of perinatal medicine* 43, 4, 403–408.
- [52] Fritsche, O. 2016. Mikrobiologische Arbeitsmethoden. In *Mikrobiologie*, O. Fritsche, Ed. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 311–333. DOI=10.1007/978-3-662-49729-6_11.
- [53] Fu, B. and Wei, H. 2016. Decidual natural killer cells and the immune microenvironment at the maternal-fetal interface. *Science China. Life sciences* 59, 12.
- [54] Fuchs, F., Houllier, M., Leparco, S., Guyot, A., Senat, M.-V., and Fernandez, H. 2017. Performance of cervical pHIGFBP-1 test alone or combined with short cervical length to predict spontaneous preterm birth in symptomatic women. *Scientific reports* 7, 1, 10856.
- [55] Gao, L., Zhang, J. P., Chen, H., Guo, Z. J., Chen, L. B., Tan, J. P., Wang, Y. H., Zhang, R., Liu, Y. L., and Cai, W. B. 2014. Fetal fibronectin detection for preterm birth prediction. *Genetics and molecular research : GMR* 13, 1.
- [56] Geistert, D. *Number World. Online Gleichungen lösen*. <https://de.numberworld.info/gleichungsLoeser>. Accessed 14 March 2022.
- [57] Gervasi, M.-T., Romero, R., Bracalente, G., Erez, O., Dong, Z., Hassan, S. S., Yeo, L., Yoon, B. H., and Chaiworapongsa, T. 2012. Midtrimester amniotic fluid concentrations of interleukin-6 and interferon-gamma-inducible protein-10: evidence for heterogeneity of intra-amniotic inflammation and associations with spontaneous early (<32 weeks) and late (32 weeks) preterm delivery. *Journal of perinatal medicine* 40, 4, 329–343.
- [58] Goldenberg, R. L., Culhane, J. F., Iams, J. D., and Romero, R. 2008. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet (London, England)* 371, 9606, 75–84.
- [59] Goldenberg, R. L., Gravett, M. G., Iams, J., Papageorghiou, A. T., Waller, S. A., Kramer, M., Culhane, J., Barros, F., Conde-Agudelo, A., Bhutta, Z. A., Knight, H. E., and Villar, J. 2012. The preterm birth syndrome: issues to consider in creating a classification system. *American journal of obstetrics and gynecology* 206, 2, 113–118.
- [60] Gomez-Lopez, N., Tanaka, S., Zaeem, Z., Metz, G. A., and Olson, D. M. 2013. Maternal circulating leukocytes display early chemotactic responsiveness during late gestation. *BMC Pregnancy Childbirth* 13, 1, 1–13.
- [61] Gotsch, F., Romero, R., Friel, L., Kusanovic, J. P., Espinoza, J., Erez, O., Than, N. G., Mittal, P., Edwin, S., Yoon, B. H., Kim, C. J., Mazaki-Tovi, S., Chaiworapongsa, T., and Hassan, S. S. 2007. CXCL10/IP-10: A missing link between inflammation and anti-angiogenesis in preeclampsia? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 20, 11, 777–792.

- [62] Groom, J. R. and Luster, A. D. 2011. CXCR3 in T cell function. *Experimental cell research* 317, 5, 620–631.
- [63] Grünberg, M. S. 2019. Bestimmung posttranslatiöner Modifikationen von Chemokinen zur Identifikation neuer therapeutischer Targets im Kontext entzündlicher Krankheiten.
- [64] Gründler, K., Gerber, B., and Stubert, J. 2020. Uterocervical angle as a predictor of preterm birth on a high-risk collective between 20 and 31 weeks of gestation: A cohort analysis. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 99, 11, 1527–1533.
- [65] Gschwandtner, M., Derler, R., and Midwood, K. S. 001. More Than Just Attractive: How CCL2 Influences Myeloid Cell Behavior Beyond Chemotaxis. *Front. Immunol.* 0, 2759.
- [66] Haedersdal, S., Salvig, J. D., Aabye, M., Thorball, C. W., Ruhwald, M., Ladelund, S., Eugen-Olsen, J., and Secher, N. J. 2013. Inflammatory Markers in the Second Trimester Prior to Clinical Onset of Preeclampsia, Intrauterine Growth Restriction, and Spontaneous Preterm Birth. *Inflammation* 36, 4, 907–913.
- [67] Hamilton, S., Oomomian, Y., Stephen, G., Shynlova, O., Tower, C. L., Garrod, A., Lye, S. J., and Jones, R. L. 2012. Macrophages infiltrate the human and rat decidua during term and preterm labor: evidence that decidual inflammation precedes labor. *Biology of reproduction* 86, 2, 39.
- [68] Hamilton, S. A., Tower, C. L., and Jones, R. L. 2013. Identification of Chemokines Associated with the Recruitment of Decidual Leukocytes in Human Labour: Potential Novel Targets for Preterm Labour. *PLoS ONE* 8, 2, e56946.
- [69] Hanna, J., Goldman-Wohl, D., Hamani, Y., Avraham, I., Greenfield, C., Natanson-Yaron, S., Prus, D., Cohen-Daniel, L., Arnon, T. I., Manaster, I., Gazit, R., Yutkin, V., Benharroch, D., Porgador, A., Keshet, E., Yagel, S., and Mandelboim, O. 2006. Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nature medicine* 12, 9, 1065–1074.
- [70] He, Y.-Y., He, X.-J., Guo, P.-F., Du, M.-R., Shao, J., Li, M.-Q., and Li, D.-J. 2012. The decidual stromal cells-secreted CCL2 induces and maintains decidual leukocytes into Th2 bias in human early pregnancy. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 145, 2, 161–173.
- [71] Heverhagen, A., Baumann, M., Raio, L., and Surbek, D. 2015. 128: Placental alpha-microglobulin-1 in combination with transvaginal ultrasound for prediction of preterm birth. *American journal of obstetrics and gynecology* 212, 1, S81.
- [72] Hill, J. L., Campbell, M. K., Zou, G. Y., Challis, J. R. G., Reid, G., Chisaka, H., and Bocking, A. D. 2008. Prediction of preterm birth in symptomatic women using decision tree modeling for biomarkers. *American journal of obstetrics and gynecology* 198, 4, 468.e1-7; discussion 468.e7-9.

- [73] Holst, R.-M., Hagberg, H., Wennerholm, U.-B., Skogstrand, K., Thorsen, P., and Jacobsson, B. 2009. Prediction of Spontaneous Preterm Delivery in Women With Preterm Labor. *Obstetrics & Gynecology* 114, 2, 268–277.
- [74] Holst, R.-M., Laurini, R., Jacobsson, B., Samuelsson, E., Sävman, K., Doverhag, C., Wennerholm, U.-B., and Hagberg, H. 2007. Expression of cytokines and chemokines in cervical and amniotic fluid: Relationship to histological chorioamnionitis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 20, 12, 885–893.
- [75] Howson, E., Kinney, M., and Lawn, J. E. 2012. *Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth*, Geneva.
- [76] Hunter, P. J., Sheikh, S., David, A. L., Peebles, D. M., and Klein, N. 2016. Cervical leukocytes and spontaneous preterm birth. *Journal of reproductive immunology* 113, 42–49.
- [77] Iams, J. D., Newman, R. B., Thom, E. A., Goldenberg, R. L., Mueller-Heubach, E., Moawad, A., Sibai, B. M., Caritis, S. N., Miodovnik, M., Paul, R. H., Dombrowski, M. P., Thurnau, G., and McNellis, D. 2002. Frequency of uterine contractions and the risk of spontaneous preterm delivery. *The New England journal of medicine* 346, 4, 250–255.
- [78] Inagi, R., Miyata, T., Suzuki, D., Toyoda, M., Wada, T., Ueda, Y., Izuwara, Y., Sakai, H., Nangaku, M., and Kurokawa, K. 2001. Specific Tissue Distribution of Megsin, a Novel Serpin, in the Glomerulus and Its Up-Regulation in IgA Nephropathy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 286, 5, 1098–1106.
- [79] Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen. 2018. *Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2017. Geburtshilfe*. Qualitätsindikatoren, Berlin.
- [80] Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen. 2020. *Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2019. Geburtshilfe*. Qualitätsindikatoren und Kennzahlen, Berlin.
- [81] International Union of Immunological Societies/Weltgesundheitsorganisation Unterausschuss für Chemokin-Nomenklatur. 2001. Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *Journal of leukocyte biology* 70, 3, 465–466.
- [82] Iyer, S. S. and Cheng, G. 2012. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Critical reviews in immunology* 32, 1, 23–63.
- [83] Jacobsson, B. 2004. Infectious and inflammatory mechanisms in preterm birth and cerebral palsy. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 115, 2, 159–160.
- [84] Jafarzadeh, A., Nemati, M., Jafarzadeh, S., Chauhan, P., and Saha, B. 2021. The immunomodulatory potentials of interleukin-27 in airway allergies. *Scandinavian journal of immunology* 93, 2, e12959.

- [85] K Treyvaud, K J Lee, and L W Doyle. 2014. Extreme Frühgeburt bleibt für Familien schwierig. *Neonatologie Scan* 03, 04, 295–296.
- [86] Kamel, R. M. 2010. The onset of human parturition. *Arch Gynecol Obstet* 281, 6, 975–982.
- [87] Kashanian, M., Eshraghi, N., Rahimi, M., and Sheikhsari, N. 2022. Evaluation of placental alpha microglobulin-1(PAMG1) accuracy for prediction of preterm delivery in women with the symptoms of spontaneous preterm labor; a comparison with cervical length and number of contractions. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 35, 3.
- [88] Keelan, J. A. 2018. Intrauterine inflammatory activation, functional progesterone withdrawal, and the timing of term and preterm birth. *Journal of reproductive immunology* 125, 89–99.
- [89] Kekki, M., Kurki, T., Kärkkäinen, T., Hiilesmaa, V., Paavonen, J., and Rutanen, E. M. 2001. Insulin-like growth factor-binding protein-1 in cervical secretion as a predictor of preterm delivery. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 80, 6, 546–551.
- [90] Kerry M Parris, Emmanuel Amabebe, Marta C Cohen, and Dilly O Anumba. 2021. Placental microbial–metabolite profiles and inflammatory mechanisms associated with preterm birth. *Journal of Clinical Pathology* 74, 1, 10–18.
- [91] Kim, C. J., Romero, R., Chaemsaitong, P., Chaiyasit, N., Yoon, B. H., and Kim, Y. M. 2015. Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *American journal of obstetrics and gynecology* 213, 4 Suppl, S29-52.
- [92] Kim, C. J., Romero, R., Chaemsaitong, P., and Kim, J.-S. 2015. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *American journal of obstetrics and gynecology* 213, 4 Suppl, S53-69.
- [93] Kim, C. J., Romero, R., Kusanovic, J. P., Yoo, W., Dong, Z., Topping, V., Gotsch, F., Yoon, B. H., Chi, J. G., and Kim, J.-S. 2010. The frequency, clinical significance, and pathological features of chronic chorioamnionitis: a lesion associated with spontaneous preterm birth. *Mod Pathol* 23, 7, 1000–1011.
- [94] Kim, M. A., Lee, B. S., Park, Y. W., and Seo, K. 2011. Serum markers for prediction of spontaneous preterm delivery in preterm labour. *European journal of clinical investigation* 41, 7.
- [95] Kim, M. J., Romero, R., Kim, C. J., Tarca, A. L., Chhauy, S., LaJeunesse, C., Lee, D.-C., Draghici, S., Gotsch, F., Kusanovic, J. P., Hassan, S. S., and Kim, J.-S. 2009. Villitis of unknown etiology is associated with a distinct pattern of chemokine up-regulation in the fetomaternal and placental compartments: implications for conjoint

- maternal allograft rejection and maternal anti-fetal graft-versus-host disease. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 182, 6, 3919–3927.
- [96] Kim, S. A., Park, K. H., Lee, S. M., Kim, Y. M., and Hong, S. 2020. Inflammatory Proteins in the Amniotic Fluid, Plasma, and Cervicovaginal Fluid for the Prediction of Intra-amniotic Infection/Inflammation and Imminent Preterm Birth in Preterm Labor. *Am J Perinatol*.
- [97] Kitaya, K., Nakayama, T., Daikoku, N., Fushiki, S., and Honjo, H. 2004. Spatial and temporal expression of ligands for CXCR3 and CXCR4 in human endometrium. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 89, 5.
- [98] Koper, O. M., Kamińska, J., Sawicki, K., and Kemonia, H. 2018. CXCL9, CXCL10, CXCL11, and their receptor (CXCR3) in neuroinflammation and neurodegeneration. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University* 27, 6, 849–856.
- [99] Kramer, M. S., Kahn, S. R., Platt, R. W., Genest, J., Chen, M. F., Goulet, L., Seguin, L., Lydon, J., McNamara, H., Libmann, M., Dahhou, M., Lamoureux, J., Skogstrand, K., and Thorsen, P. 2010. Mid-trimester maternal plasma cytokines and CRP as predictors of spontaneous preterm birth. *Cytokine* 49, 1, 10–14.
- [100] Lagercrantz, H. 2019. Frühgeburt. In *Die Geburt des Bewusstseins. Über Die Entwicklung des Frühkindlichen Gehirns*, H. Lagercrantz, Ed. Springer Berlin / Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 157–176. DOI=10.1007/978-3-662-58223-7_11.
- [101] Lahra, M. M. and Jeffery, H. E. 2004. A fetal response to chorioamnionitis is associated with early survival after preterm birth. *American journal of obstetrics and gynecology* 190, 1, 147–151.
- [102] Lakshmanan, A., Song, A. Y., Belfort, M. B., Yieh, L., Dukhovny, D., Friedlich, P. S., and Gong, C. L. 2022. The financial burden experienced by families of preterm infants after NICU discharge. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association* 42, 2.
- [103] Lasagni, L., Francalanci, M., Annunziato, F., Lazzeri, E., Giannini, S., Cosmi, L., Sagrinati, C., Mazzinghi, B., Orlando, C., Maggi, E., Marra, F., Romagnani, S., Serio, M., and Romagnani, P. 2003. An alternatively spliced variant of CXCR3 mediates the inhibition of endothelial cell growth induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and acts as functional receptor for platelet factor 4. *The Journal of experimental medicine* 197, 11.
- [104] Laudanski, P., Lemancewicz, A., Kuc, P., Charkiewicz, K., Ramotowska, B., Kretowska, M., Jasinska, E., Raba, G., Karwasik-Kajszczarek, K., Kraczkowski, J., and Laudanski, T. 2014. Chemokines Profiling of Patients with Preterm Birth. *Mediators of Inflammation* 2014, 1–7.

- [105] Laudanski, P., Lemancewicz, A., Pierzynski, P., Akerlund, M., and Laudanski, T. 2006. Decreased serum level of macrophage inflammatory chemokine-3beta/CCL19 in preterm labor and delivery. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 124, 1, 23–26.
- [106] Le, B. P. and Tabiasco, J. 2006. Killers become builders during pregnancy. *Nature medicine* 12, 9.
- [107] Le, R. I., Mace, G., Sediki, M., Lirussi, F., Riethmuller, D., Lentz, N., Ramanah, R., Hoyek, T., Spagnolo, G., Laurent, N., Goirand, F., Sagot, P., and Bardou, M. 2015. Changes in maternal blood inflammatory markers as a predictor of chorioamnionitis: a prospective multicenter study. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)* 73, 1.
- [108] Lee, E. Y., Lee, Z. H., and Song, Y. W. 2009. CXCL10 and autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews* 8, 5.
- [109] Lee, J.-H., Kim, B., Jin, W. J., Kim, H.-H., Ha, H., and Lee, Z. H. 2017. Pathogenic roles of CXCL10 signaling through CXCR3 and TLR4 in macrophages and T cells: relevance for arthritis. *Arthritis research & therapy* 19, 1, 163.
- [110] Lee, S. M., Park, K. H., Jung, E. Y., Kook, S. Y., Park, H., and Jeon, S. J. 2018. Inflammatory proteins in maternal plasma, cervicovaginal and amniotic fluids as predictors of intra-amniotic infection in preterm premature rupture of membranes. *PLoS ONE* 13, 7, e0200311.
- [111] Levy, A. T., Quist-Nelson, J., and Berghella, V. 2020. The effect of transvaginal ultrasound, vaginal examination, or coitus on fetal fibronectin results: individual participant data from 6 cohort studies. *American journal of obstetrics & gynecology MFM* 2, 4.
- [112] Lim, S. Y., Yuzhalin, A. E., Gordon-Weeks, A. N., and Muschel, R. J. 2016. Targeting the CCL2-CCR2 signaling axis in cancer metastasis. *Oncotarget* 7, 19, 28697–28710.
- [113] Lin, J., Kakkar, V., and Lu, X. 2014. Impact of MCP-1 in atherosclerosis. *Current pharmaceutical design* 20, 28, 4580–4588.
- [114] Lin, Z., Shi, J.-L., Chen, M., Zheng, Z.-M., Li, M.-Q., and Shao, J. 2022. CCL2: An important cytokine in normal and pathological pregnancies: A review. *Frontiers in immunology* 13, 1053457.
- [115] Lissauer, D., Kilby, M. D., and Moss, P. 2017. Maternal effector T cells within decidua: The adaptive immune response to pregnancy? *Placenta* 60.
- [116] Lockwood, C. J., Senyei, A. E., Dische, Casal, D., Shah, K. D., Thung, S. N., Jones, L., Deligdisch, L., and Garite, T. J. 1991. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *The New England journal of medicine* 325, 10.

- [117] Loetscher, M., Gerber, B., Loetscher, P., Jones, S. A., Piali, L., Clark-Lewis, I., Baggiolini, M., and Moser, B. 1996. Chemokine receptor specific for IP10 and mig: structure, function, and expression in activated T-lymphocytes. *The Journal of experimental medicine* 184, 3.
- [118] Lohsoonthorn, V., Qiu, C., and Williams, M. A. 2007. Maternal serum C-reactive protein concentrations in early pregnancy and subsequent risk of preterm delivery. *Clinical Biochemistry* 40, 5, 330–335.
- [119] Lubowicka, E., Przylipek, A., Zajkowska, M., Piskór, B. M., Malinowski, P., Fiedorowicz, W., and Ławicki, S. 2018. Plasma Chemokine CCL2 and Its Receptor CCR2 Concentrations as Diagnostic Biomarkers for Breast Cancer Patients. *BioMed research international* 2018.
- [120] Lye, P., Dunk, C. E., Zhang, J., Wei, Y., Nakpu, J., Hamada, H., Imperio, G. E., Bloise, E., Matthews, S. G., and Lye, S. J. 2021. ACE2 Is Expressed in Immune Cells That Infiltrate the Placenta in Infection-Associated Preterm Birth. *Cells* 10, 7.
- [121] MANTOVANI, A., SICA, A., SOZZANI, S., ALLAVENA, P., VECCHI, A., and LOCATI, M. 2004. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in Immunology* 25, 12, 677–686.
- [122] Mathepower. *Gleichungen freistellen*. <https://www.mathepower.com/freistell.php>. Accessed 14 March 2022.
- [123] Maymon, E., Romero, R., Bhatti, G., Chaemsaitong, P., Gomez-Lopez, N., Panaitescu, B., Chaiyasit, N., Pacora, P., Dong, Z., Hassan, S. S., and Erez, O. 2018. Chronic inflammatory lesions of the placenta are associated with an up-regulation of amniotic fluid CXCR3: A marker of allograft rejection. *Journal of perinatal medicine* 46, 2, 123–137.
- [124] McKenna, D. S., Chung, K., and Iams, J. D. 1999. Effect of digital cervical examination on the expression of fetal fibronectin. *The Journal of reproductive medicine* 44, 9, 796–800.
- [125] McLaren, J. S., Hezelgrave, N. L., Ayubi, H., Seed, P. T., and Shennan, A. H. 2015. Prediction of spontaneous preterm birth using quantitative fetal fibronectin after recent sexual intercourse. *American journal of obstetrics and gynecology* 212, 1, 89.e1-5.
- [126] Mei, Y., Ran, Y., Liu, Z., Zhou, Y., He, J., Yin, N., and Qi, H. 2021. IL-27 Mediates Th1 Cells Infiltration in Fetal Membranes in Preterm Labor. *Reprod. Sci.*, 1–12.
- [127] Mei, Y., Ran, Y., Liu, Z., Zhou, Y., He, J., Yin, N., and Qi, H. 2022. The Role of IL-27 in the Systemic Inflammatory Response That Accompanies Preterm Labour. *Inflammation* 45, 2, 876–890.
- [128] Melchor, J. C., Khalil, A., Wing, D., Schleussner, E., and Surbek, D. 2018. Prediction of preterm delivery in symptomatic women using PAMG-1, fetal fibronectin and pHIGFBP-

- 1 tests: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 52, 4.
- [129] Melchor, J. C., Navas, H., Marcos, M., Iza, A., Diego, M. de, Rando, D., Melchor, I., and Burgos, J. 2018. 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 in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 51, 5, 644–649.
- [130] Menon, R., Torloni, M. R., Voltolini, C., Torricelli, M., Merialdi, M., Betrán, A. P., Widmer, M., Allen, T., Davydova, I., Khodjaeva, Z., Thorsen, P., Kacerovsky, M., Tambor, V., Massinen, T., Nace, J., and Arora, C. 2011. Biomarkers of spontaneous preterm birth: an overview of the literature in the last four decades. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)* 18, 11, 1046–1070.
- [131] Metzemaekers, M., Vanheule, V., Janssens, R., Struyf, S., and Proost, P. 2017. Overview of the Mechanisms that May Contribute to the Non-Redundant Activities of Interferon-Inducible CXC Chemokine Receptor 3 Ligands. *Front. Immunol.* 8, 1970.
- [132] Moghaddam Banaem, L., Mohamadi, B., Asghari Jaafarabadi, M., and Aliyan Moghadam, N. 2012. Maternal serum C-reactive protein in early pregnancy and occurrence of preterm premature rupture of membranes and preterm birth. *The journal of obstetrics and gynaecology research* 38, 5, 780–786.
- [133] Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdt, S., Gordon, S., Hamilton, J. A., Ivashkiv, L. B., Lawrence, T., Locati, M., Mantovani, A., Martinez, F. O., Mege, J.-L., Mosser, D. M., Natoli, G., Saeij, J. P., Schultze, J. L., Shirey, K. A., Sica, A., Suttles, J., Udalova, I., van Ginderachter, J. A., Vogel, S. N., and Wynn, T. A. 2014. Macrophage Activation and Polarization: Nomenclature and Experimental Guidelines. *Immunity* 41, 1, 14–20.
- [134] Nagamatsu, T. and Schust, D. J. 2010. The contribution of macrophages to normal and pathological pregnancies. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)* 63, 6, 460–471.
- [135] Nagaoka, K., Nojima, H., Watanabe, F., Chang, K. T., Christenson, R. K., Sakai, S., and Imakawa, K. 2003. Regulation of blastocyst migration, apposition, and initial adhesion by a chemokine, interferon gamma-inducible protein 10 kDa (IP-10), during early gestation. *The Journal of biological chemistry* 278, 31.
- [136] Panee, J. 2012. Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine* 60, 1, 1–12.

- [137] Parry, S., Zhang, H., Biggio, J., Bukowski, R., Varner, M., Xu, Y., Andrews, W. W., Saade, G. R., Esplin, M. S., Leite, R., Ileakis, J., Reddy, U. M., Sadovsky, Y., and Blair, I. A. 2014. Maternal serum serpin B7 is associated with early spontaneous preterm birth. *American journal of obstetrics and gynecology* 211, 6.
- [138] Porta, C., Riboldi, E., Ippolito, A., and Sica, A. 2015. Molecular and epigenetic basis of macrophage polarized activation. *Seminars in Immunology* 27, 4, 237–248.
- [139] Proost, P., Vynckier, A.-K., Mahieu, F., Put, W., Grillet, B., Struyf, S., Wuyts, A., Opendakker, G., and van Damme, J. 2003. Microbial Toll-like receptor ligands differentially regulate CXCL10/IP-10 expression in fibroblasts and mononuclear leukocytes in synergy with IFN-gamma and provide a mechanism for enhanced synovial chemokine levels in septic arthritis. *European journal of immunology* 33, 11, 3146–3153.
- [140] Qian, B. Z., Li, J., Zhang, H., Kitamura, T., Zhang, J., Campion, L. R., Kaiser, E. A., La Snyder, and Pollard, J. W. 2011. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis. *Nature* 475, 7355.
- [141] Radan, A.-P., Aleksandra Polowy, J., Heverhagen, A., Simillion, C., Baumann, M., Raio, L., Schleussner, E., Mueller, M., and Surbek, D. 2020. Cervico-vaginal placental α -macroglobulin-1 combined with cervical length for the prediction of preterm birth in women with threatened preterm labor. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica* 99, 3, 357–363.
- [142] Rahkonen, L., Unkila-Kallio, L., Nuutila, M., Sainio, S., Saisto, T., Rutanen, E.-M., and Paavonen, J. 2009. Cervical length measurement and cervical phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 testing in prediction of preterm birth in patients reporting uterine contractions. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica* 88, 8, 901–908.
- [143] Räikkönen, K., Gissler, M., and Kajantie, E. 2020. Associations Between Maternal Antenatal Corticosteroid Treatment and Mental and Behavioral Disorders in Children. *JAMA* 323, 19, 1924–1933.
- [144] Rani, K., Rana, R., and Datt, S. 2012. *Review on latest overview of proteases*.
- [145] Romero, R., Chaemsaitong, P., Chaiyasit, N., Docheva, N., Dong, Z., Kim, C. J., Kim, Y. M., Kim, J.-S., Qureshi, F., Jacques, S. M., Yoon, B. H., Chaiworapongsa, T., Yeo, L., Hassan, S. S., Erez, O., and Korzeniewski, S. J. 2017. CXCL10 and IL-6: Markers of two different forms of intra-amniotic inflammation in preterm labor. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)* 78, 1.
- [146] Romero, R., Dey, S. K., and Fisher, S. J. 2014. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science (New York, N.Y.)* 345, 6198.

- [147] Romero, R., Espinoza, J., Gonçalves, L. F., Kusanovic, J. P., Friel, L., and Hassan, S. 2007. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Seminars in reproductive medicine* 25, 1, 21–39.
- [148] Ronzoni, S., Steckle, V., D'Souza, R., Murphy, K. E., Lye, S., and Shynlova, O. 2019. Cytokine Changes in Maternal Peripheral Blood Correlate With Time-to-Delivery in Pregnancies Complicated by Premature Prelabor Rupture of the Membranes. *Reprod Sci* 26, 9, 1266–1276.
- [149] Ruffilli, I., Ferrari, S. M., Colaci, M., Ferri, C., Fallahi, P., and Antonelli, A. 2014. IP-10 in autoimmune thyroiditis. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme* 46, 9, 597–602.
- [150] Rutanen, E. M. 2000. Insulin-like growth factors in obstetrics. *Current opinion in obstetrics & gynecology* 12, 3, 163–168.
- [151] Said, S., El-Desouky, E.-S., and Hashish, M. 2019. CERVICOVAGINAL FLUID CYTOKINES' LEVELS IN PRETERM BIRTH HIGH-RISK WOMEN COULD BE USED AS EARLY PREDICTORS FOR RECURRENT PRETERM BIRTH. *Al-Azhar Medical Journal* 48, 3, 289–300.
- [152] Schneider, H., Husslein, P., and Schneider, K.-T. M., Eds. 2016. *Die Geburtshilfe*. Springer Reference Medizin. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [153] Silverman, G. A., Bird, P. I., Carrell, R. W., Church, F. C., Coughlin, P. B., Gettins, P. G., Irving, J. A., Lomas, D. A., Luke, C. J., Moyer, R. W., Pemberton, P. A., Remold-O'Donnell, E., Salvesen, G. S., Travis, J., and Whisstock, J. C. 2001. The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. Evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. *The Journal of biological chemistry* 276, 36, 33293–33296.
- [154] Sotiriadis, A., Papatheodorou, S., Kavvadias, A., and Makrydimas, G. 2010. Transvaginal cervical length measurement for prediction of preterm birth in women with threatened preterm labor: a meta-analysis. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 35, 1, 54–64.
- [155] Stone, M. J., Hayward, J. A., Huang, C., E Huma, Z., and Sanchez, J. 2017. Mechanisms of Regulation of the Chemokine-Receptor Network. *International journal of molecular sciences* 18, 2.
- [156] Strieter, R. M., Wiggins, R., Phan, S. H., Wharram, B. L., Showell, H. J., Remick, D. G., Chensue, S. W., and Kunkel, S. L. 1989. Monocyte chemotactic protein gene expression by cytokine-treated human fibroblasts and endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 162, 2.

- [157] Stubert, J., Gründler, K., Gerber, B., Du Richter, and Dieterich, M. 2021. Prediction of Spontaneous Preterm Birth in At-risk Women Using Thrombospondin 1 from Cervicovaginal Fluid: A Prospective Observational Study. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 81, 9.
- [158] Szarka, A., Rigó, J., Lázár, L., Beko, G., and Molvarec, A. 2010. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC immunology* 11, 59.
- [159] Takeda, J., Fang, X., and Olson, D. M. 2017. Pregnant human peripheral leukocyte migration during several late pregnancy clinical conditions: a cross-sectional observational study. *BMC pregnancy and childbirth* 17, 1, 16.
- [160] TERESA COBO, MARIAN KACEROVSKY, ROSE-MARIE HOLST, DAVID M. HOUGAARD, KRISTIN SKOGSTRAND, ULLA-BRITT WENNERHOLM, HENRIK HAGBERG, and BO JACOBSSON. 2012. Intra-amniotic inflammation predicts microbial invasion of the amniotic cavity but not spontaneous preterm delivery in preterm prelabor membrane rupture. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 91, 8, 930–935.
- [161] Thieme, Ed. 2006. *Klinische Pathophysiologie*, Stuttgart.
- [162] Tolunay, H. E. and Elci, E. 2020. Importance of haemogram parameters for prediction of the time of birth in women diagnosed with threatened preterm labour. *The Journal of international medical research* 48, 4, 300060520918432.
- [163] Törnblom, S. A., Klimaviciute, A., Byström, B., Chromek, M., Brauner, A., and Ekman-Ordeberg, G. 2005. Non-infected preterm parturition is related to increased concentrations of IL-6, IL-8 and MCP-1 in human cervix. *Reprod Biol Endocrinol* 3, 1.
- [164] Tripathi, R., Tyagi, S., Mala, Y. M., Singh, N., Pandey, N. B., and Yadav, P. 2016. Comparison of rapid bedside tests for phosphorylated insulin-like growth factor-binding protein 1 and fetal fibronectin to predict preterm birth. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 135, 1, 47–50.
- [165] Tsao, F.-Y., Wu, M.-Y., Chang, Y.-L., Wu, C.-T., and Ho, H.-N. 2018. M1 macrophages decrease in the deciduae from normal pregnancies but not from spontaneous abortions or unexplained recurrent spontaneous abortions. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi* 117, 3, 204–211.
- [166] Tsaor, I., Noack, A., Makarevic, J., Oppermann, E., Waaga-Gasser, A. M., Gasser, M., Borgmann, H., Huesch, T., Gust, K. M., Reiter, M., Schilling, D., Bartsch, G., Haferkamp, A., and Blaheta, R. A. 2015. CCL2 Chemokine as a Potential Biomarker for Prostate Cancer: A Pilot Study. *Cancer research and treatment* 47, 2, 306–312.

- [167] Tsiartas, P., Holst, R. M., Wennerholm, U. B., Hagberg, H., Hougaard, D. M., Skogstrand, K., Pearce, B. D., Thorsen, P., Kacerovsky, M., and Jacobsson, B. 2012. Prediction of spontaneous preterm delivery in women with threatened preterm labour: a prospective cohort study of multiple proteins in maternal serum. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 119, 7, 866–873.
- [168] Tzur, T., Weintraub, A. Y., Sergienko, R., and Sheiner, E. 2013. Can leukocyte count during the first trimester of pregnancy predict later gestational complications? *Archives of gynecology and obstetrics* 287, 3, 421–427.
- [169] UniProt-Konsortium. *UniProtKB-P02778 (CXCL10_HUMAN)*. <https://www.uniprot.org/uniprot/P02778>. Accessed 10 December 2021.
- [170] van, B. G. J., Vis, J. Y., Wilms, F. F., Oudijk, M. A., Kwee, A., Porath, M. M., Oei, G., Scheepers, H. C.J., Spaanderman, M. E.A., Bloemenkamp, K. W.M., Haak, M. C., Bolte, A. C., Bax, C. J., Cornette, J. M.J., Duvetkot, J. J., Nij, B. B., van, E. J., Franssen, M. T.M., Sollie, K. M., Vandenbussche, F., Woiski, M., Grobman, W. A., van, d. P. J., Bossuyt, P. M.M., Opmeer, B. C., and Mol, B. W.J. 2014. Predictive value of cervical length measurement and fibronectin testing in threatened preterm labor. *Obstetrics and gynecology* 123, 6.
- [171] Vidal, M. S., Lintao, R. C. V., Severino, M. E. L., Tantengco, O. A. G., and Menon, R. 2022. Spontaneous preterm birth: Involvement of multiple fetomaternal tissues and organ systems, differing mechanisms, and pathways. *Frontiers in endocrinology* 13, 1015622.
- [172] Vishwekar, P. S., Chauhan, A. R., and Turakhia, N. 2017. Prediction of preterm delivery with a novel bedside test. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol* 6, 8, 3366.
- [173] Wang, Q. and Liu, J. 2016. Regulation and Immune Function of IL-27. *Advances in experimental medicine and biology* 941, 191–211.
- [174] Wing, D. A., Haeri, S., Silber, A. C., Roth, C. K., Weiner, C. P., Echebiri, N. C., Franco, A., Pappas, L. M., Yeast, J. D., Brebnor, A. A., Quirk, J. G., Murphy, A. M., Laurent, L. C., Field, N. T., and Norton, M. E. 2017. Placental Alpha Microglobulin-1 Compared With Fetal Fibronectin to Predict Preterm Delivery in Symptomatic Women. *Obstetrics and gynecology* 130, 6, 1183–1191.
- [175] Xu, Y., Romero, R., Miller, D., Kadam, L., Mial, T. N., Plazyo, O., Garcia-Flores, V., Hassan, S. S., Xu, Z., Tarca, A. L., Drewlo, S., and Gomez-Lopez, N. 2016. An M1-like Macrophage Polarization in Decidual Tissue during Spontaneous Preterm Labor That Is Attenuated by Rosiglitazone Treatment. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 196, 6.

- [176] Yang, F., Zheng, Q., and Jin, L. 2019. Dynamic Function and Composition Changes of Immune Cells During Normal and Pathological Pregnancy at the Maternal-Fetal Interface. *Frontiers in immunology* 10.
- [177] Yao, Y., Xu, X.-H., and Jin, L. 001. Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. *Front. Immunol.* 0, 792.
- [178] Yin, N., Wang, H., Zhang, H., Ge, H., Tan, B., Yuan, Y., Luo, X., Olson, D. M., Baker, P. N., and Qi, H. 2017. IL-27 induces a pro-inflammatory response in human fetal membranes mediating preterm birth. *International immunopharmacology* 50.
- [179] Zhang, N., Zhao, Y.-D., and Wang, X.-M. 2020. CXCL10 an important chemokine associated with cytokine storm in COVID-19 infected patients. *European review for medical and pharmacological sciences* 24, 13, 7497–7505.
- [180] Zhao, Y., Yang, X., Zhang, X., Yu, Q., Zhao, P., Wang, J., Duan, C., Li, J., Johnson, H., Feng, X., and Zhang, H. 2018. IP-10 and RANTES as biomarkers for pulmonary tuberculosis diagnosis and monitoring. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)* 111, 45–53.

9 Veröffentlichungen und Präsentationen

- Posterpräsentation am 23. Mai 2022 auf dem Kongress der Deutschen Gesellschaft für Pränatal- und Geburtsmedizin, Aachen:
Hoffmann JA, Gründler K, Gerber B, Richter DU, Stubert J. Untersuchung von CCL2, CXCL10 und Serpin B7 im maternalen Blut zur Prädiktion einer Frühgeburt. Z Geburtshilfe Neonatol. 2022; 226(S01): S11. doi: 10.1055/s-0042-1748597
- Volltextpublikation:
Hoffmann JA, Gründler K, Richter DU, Stubert J. Prediction of spontaneous preterm birth using CCL2 and CXCL10 in maternal serum of symptomatic high-risk pregnant women: a prospective cohort study. BMC Pregnancy Childbirth. 2023 Sep 28;23(1):697. doi: 10.1186/s12884-023-06016-3.

10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Stubert für die Bereitstellung des Themas, die kontinuierliche Unterstützung und Betreuung während der Anfertigung der Arbeit sowie die Motivation zur Poster-Präsentation und zur Veröffentlichung meiner Arbeit. Ich möchte Ihnen ebenfalls für die vielen wertvollen Tipps und Verbesserungsvorschläge danken, die ich im Prozess der Fertigstellung dieser Arbeit erhalten habe.

Für die Betreuung und Unterstützung während der Verarbeitung der Proben im Labor möchte ich mich des Weiteren bei Frau PD Dr. rer. nat. Richter und Frau Gosch bedanken.

Ich möchte insbesondere meinen Eltern danken, die mich sowohl in meinem Studium, bei der Erstellung dieser Arbeit aber auch auf meinem privaten Weg immer und jederzeit unterstützen. Ohne euch wäre all das nicht möglich gewesen.

Abschließend möchte ich mich bei meinem Mann Marc-Gereon Brandt, meiner Schwester und meinen Freunden bedanken, die immer ein offenes Ohr für mich hatten und mich während der gesamten Zeit motiviert und bekräftigt haben.

11 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Jessica Alana Brandt, geb. Hoffmann
Geburtsdatum und –ort	04.01.1998 in Schwerin
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Familienstand	verheiratet, 1 Kind

Bildung

2004 - 2008	Grundschule in Pampow
2008 - 2016	Gymnasium an der Europaschule Pädagogium Schwerin Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
2016 - 2023	Medizinstudium an der Universität Rostock Abschluss: Staatsexamen und Approbation als Ärztin

Berufliche Erfahrung

seit Juli 2023	Assistenzärztin in der Inneren Medizin in der Boddenklinik Ribnitz-Damgarten
----------------	--

Wissenschaftliche Tätigkeit

seit 01/2020	Promotion Universitätsfrauenklinik Rostock zum Thema „Untersuchungen von maternalem Blut auf ausgewählte Serummarker zur Detektion einer Frühgeburtlichkeit im Rahmen der ADAPROB-Studie“
--------------	---

12 Eigenständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Jessica Alana Brandt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen übernommenen Informationen und Gedanken sind als solche gekennzeichnet. Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form bei keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Rostock, den 05.09.2024