

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. Ludwig Gortner

**Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut reifer Neugeborener nach
primärer Sectio caesarea im Vergleich zur Spontangeburt**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2013

vorgelegt von: Angela Hunecke

geb. am: 02.10.1980 in Marburg

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	6
Abkürzungsverzeichnis	7
1. Zusammenfassung	8
1.1 Abstract	9
2. Einleitung	10
2.1 Geburtsablauf, die termingerechte Spontangeburt	10
2.2 Frühgeburt	13
2.3 Zytokine	14
2.4 Rolle der Zytokine im Geburtsablauf	16
2.5 Aufgabe dieser Arbeit	18
3. Patienten, Materialien und Methoden	19
3.1 Patientenkollektiv	19
3.2 Datenerhebung	21
3.3 Luminex-Bead-Technologie	23
3.4 Probengewinnung, Messung der Zytokinkonzentrationen	26
3.5 Mathematisch-statistische Prüfverfahren	29
4. Ergebnisse	30
4.1 Geburtsmodus	30
4.2 Alter der Mütter	30
4.3 Gravidität und Parität	31
4.4 Mütterliche Abstrichuntersuchungen, Plazentahistologie	33
4.5 Mütterliche CRP-Werte	33
4.6 Sectioindikation	33
4.7 Anästhesieformen	33
4.8 Geschlechtsverteilung	34

4.9 Gestationsalter	35
4.10 Geburtsgewicht	36
4.11 APGAR-Scores, Nabelschnurarterien-pH	37
4.12 Zytokine	39
4.12.1 Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur	39
4.12.2 Intra-assay Variationskoeffizient	43
4.12.3 Messbare Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut	43
4.12.4 Einfluss maternaler Variablen auf die Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut	44
4.12.5 Einfluss neonataler Variablen auf die Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut	48
4.12.6 Einfluss der Wehentätigkeit (Geburtsmodus) auf die Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut	51
5. Diskussion	52
6. Literatur	58
7. Publikationen	65
8. Danksagung	66
9. Lebenslauf	67

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wirkung der Zytokine auf Myometrium und Zervix, aus [21]	11
Abbildung 2: Geburtsablauf, Wehentätigkeit aus [6]	12
Abbildung 3: Datenbank (Ausschnitt)	22
Abbildung 4: Darstellung der möglichen Beadpermutationen aus [34]	23
Abbildung 5: Bead mit spezifischem Nachweisreagenz, PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg	24
Abbildung 6: Bindung des Analyts an das spezifische Nachweisreagenz, PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg	24
Abbildung 7: Bindung des Detektionsantikörpers an das Analyt, PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg	25
Abbildung 8: Hydrodynamische Fokussierung, Detektionssystem, aus [34]	26
Abbildung 9: Laserdetektionssystem, aus [34]	27
Abbildung 10: Alter der Mutter, Spontangeburt	30
Abbildung 11: Alter der Mutter, primäre Sectio	31
Abbildung 12: Gravidität, prozentuale Verteilung	31
Abbildung 13: Parität, prozentuale Verteilung	32
Abbildung 14: Anästhesieverfahren	34
Abbildung 15: Geschlechtsverteilung beider Gruppen	34
Abbildung 16: Gestationsalter, primäre Sectio	35
Abbildung 17: Gestationsalter, Spontangeburt	35
Abbildung 18: Gestationsalter, Gruppenvergleich	36
Abbildung 19: Geburtsgewicht, Spontangeburt	36
Abbildung 20: Geburtsgewicht, Sectio	37
Abbildung 21: Geburtsgewicht, geschlechtergetrennt	37
Abbildung 22: IL-1 α , Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	40
Abbildung 23: IL-1ra, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	40
Abbildung 24: IL-6, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	40

Abbildung 25: IL-8, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	40
Abbildung 26: IL-10, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	41
Abbildung 27: IL-12p40, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	41
Abbildung 28: IL-17, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	41
Abbildung 29: GM-CSF, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	41
Abbildung 30: IP-10, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	42
Abbildung 31: TNF- α , Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur	42

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der Zytokine	15
Tabelle 2: Kreuztabelle primäre Sectio * Primipara	32
Tabelle 3: CRP-Werte nach Gruppen	33
Tabelle 4: Verteilung der Sectioindikationen	33
Tabelle 5: 5- und 10-Minuten-APGAR, Nabelschnur-pH-Wert, Gruppenvergleich	38
Tabelle 6: Zusammenfassung der klinischen Daten	38
Tabelle 7: Variationskoeffizient	43
Tabelle 8: Nachweishäufigkeit der Zytokine, Gesamtkollektiv und getrennt nach Gruppen	44
Tabelle 9: Korrelation des mütterlichen Alters mit der jeweiligen Zytokinkonzentration	45
Tabelle 10: Korrelation der Primipara mit den jeweiligen Zytokinkonzentrationen, deskriptive Statistik und Signifikanzwerte	46
Tabelle 11: Korrelation der Geburtsanästhesie mit den jeweiligen Zytokinkonzentrationen, deskriptive Statistik	47
Tabelle 12: Korrelation des kindlichen Geschlechts mit den jeweiligen Zytokinkonzentrationen, deskriptive Statistik	49
Tabelle 13: Korrelation von Gestationsalter, Geburtsgewicht, Nabelschnur-pH-Wert sowie 5-Minuten-APGAR mit der jeweiligen Zytokinkonzentration, univariate Korrelationsanalyse	50
Tabelle 14: Gemessene Zytokinkonzentrationen, nach Gruppen	51

Abkürzungsverzeichnis

ECS	elective caesarean section, elektive Sectio caesarea
SVD	spontaneous vaginal delivery, Spontangeburt
SSW	Schwangerschaftswoche
CRP	C-reaktives Protein
IL-1 α	Interleukin 1 α
IL-1 β	Interleukin 1 β
IL-2	Interleukin 2
IL-4	Interleukin 4
IL-5	Interleukin 5
IL-6	Interleukin 6
IL-8	Interleukin 8
IL-10	Interleukin 10
IL-12p40	Interleukin 12p40
IL-12p70	Interleukin 12p70
IL-17	Interleukin 17
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TNF- β	Tumornekrosefaktor- β
IL-1RA	IL-1 Rezeptorantagonist
sIL-2R α	Löslicher IL-2 Rezeptor α
IFN- α 2	Interferon- α 2
IFN- γ	Interferon- γ
IP-10	interferon-gamma induced protein 10
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony stimulating factor
TGF- β 1	transforming growth factor β 1
SPA	Spinalanästhesie
PDK	Periduralkatheter
mRNA	messenger-RNA
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay

1. Zusammenfassung

Im Rahmen der termingerechten Spontangeburt und der Frühgeburt spielen inflammatorische Prozesse eine wichtige Rolle. In dieser Studie wurden die Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut von 60 gesunden, reifen Neugeborenen gesunder Mütter nach unkomplizierten Schwangerschaften untersucht. Durch eine prospektive Aufteilung nach Geburtsmodus in zwei Gruppen (Spontangeburt und primäre, elektive Sectio caesarea) sollen inflammatorische Prozesse im Rahmen des Geburtsvorgangs beim Neonaten untersucht werden. Die direkt nach Geburt gewonnenen Blutproben wurden nach zeitnaher Zentrifugation zunächst gefroren gelagert und dann mittels multiplexer Beadanalyse (xMAP-Technologie) quantitativ auf 20 Zytokine untersucht.

Die beiden Gruppen unterschieden sich hinsichtlich des Geburtsgewichts, des Nabelschnur-pH-Wertes, des 5-Minuten-APGAR sowie der Geschlechtsverteilung nicht signifikant; die per primärer, elektiver Sectio caesarea entbundenen Kinder hatten ein signifikant niedrigeres Gestationsalter, ebenfalls waren die Mütter in dieser Gruppe signifikant jünger.

Von den 20 untersuchten Zytokinen zeigte sich lediglich bei TGF- β 1 ein signifikanter Unterschied: In der Spontangeburt-Gruppe lag der Mittelwert bei 7137 pg/ml [293-24049] vs. 2518 pg/ml [293-25548] in der Sectio-Gruppe ($p=0,0012$).

Dies zeigt, dass sich die in feto-maternalen Geweben ablaufenden immunmodulatorischen Vorgänge beim Neonaten nicht systemisch nachweisen lassen.

1.1 Abstract

Inflammatory processes play an important role in preterm parturition and spontaneous vaginal delivery at term. In this study we examined the concentrations of cytokines in cord blood of 60 healthy children born at term to healthy mothers after uncomplicated pregnancies. By assigning the participants to 2 groups (spontaneous vaginal delivery vs. elective caesarian section) we studied the inflammatory processes in the neonate during parturition. Cord blood, obtained directly after birth, was centrifuged and kept frozen until it was analyzed by multiplex bead analysis (xMAP-technology) to quantify 20 cytokines.

Both study groups showed no significant differences concerning birth weight, cord blood pH-level, APGAR at 5 minutes or gender of the child.

Children born by elective caesarian section were significantly younger, as were their mothers.

Of 20 cytokines examined in this study, only TGF- β 1 was significantly different in both groups: the mean concentration in the SVD-group was 7137 pg/ml [293-24049] vs. 2518 pg/ml [293-25548] in the ECS-group ($p=0.0012$).

This shows that the immunomodulatory reaction in feto-maternal tissues is not detectable in the neonate's cord blood.

2. Einleitung

Die Auslöser der Wehentätigkeit sind bislang nicht eindeutig bekannt. Ein weit verbreitetes Konzept beschreibt die prostaglandinvermittelte Wehentätigkeit. Es wird davon ausgegangen, dass die termingerechte Geburt und die Frühgeburt dem gleichen Ablauf unterliegen [52, 57]. Aktuelle Konzepte weisen einem inflammatorischen Prozess eine wichtige Rolle in der Auslösung der Wehentätigkeit zu [62].

2.1 Geburtsablauf, die termingerechte Spontangeburt

Man unterscheidet beim Geburtsablauf Eröffnungs-, Austreibungs- und Nachgeburtsperiode [56].

Die Eröffnungsperiode beginnt mit dem Auftreten von muttermundswirksamen Wehen. Zu Beginn der Wehen zeigt sich eine Kolonisation von Entzündungszellen wie granulozytären Leukozyten, T-Zellen und Mastzellen, die an der Dilatation der Zervix durch Proteasen und Zytokine beteiligt sind [59]. Dies führt zur fortschreitenden Auflockerung und Dilatation der Zervix bis zur vollständigen Eröffnung des Muttermundes. Durch aktive Stoffwechselprozesse, vor allem unter dem Einfluss von Prostaglandinen, findet eine Veränderung des Zervixgewebes, die sogenannte Zervixreifung, statt. Es folgt eine Zervixverkürzung und Öffnung des inneren und äusseren Muttermundes. Die Öffnung des Muttermundes entsteht unter anderem durch zunehmende Wehentätigkeit und Tiefertreten des kindlichen Kopfes. Während der Geburt gibt der feste Teil des Uterus bis zu einem Durchmesser von 10 cm nach und wird weich und dünn (Abbildung 1). Nach der Geburt bildet sich die Zervix dann wieder in wenigen Wochen in die feste Zervix zurück [27].

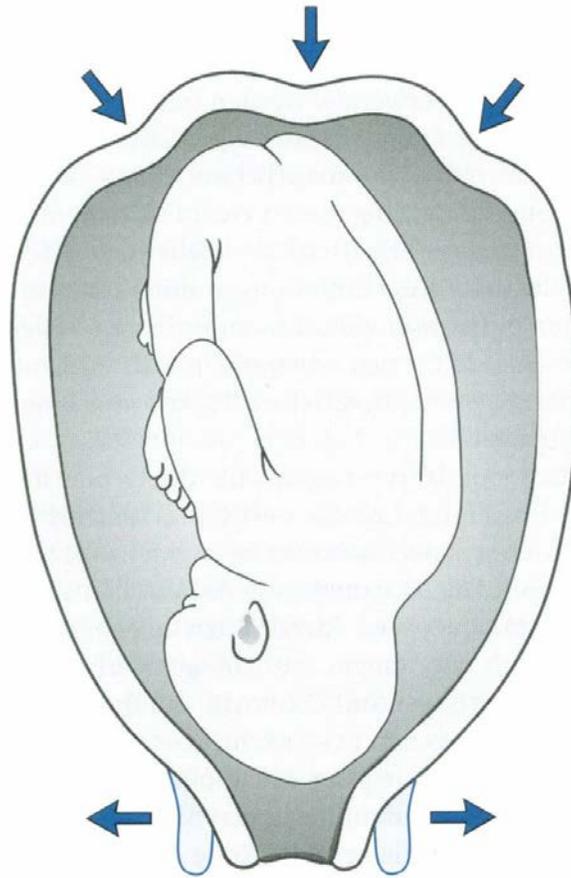


Abbildung 1: Wirkung der Zytokine auf Myometrium und Zervix, aus [21]

Am Ende der Eröffnungsperiode kommt es zum Blasensprung. Bei ca. 2/3 der Frauen tritt dieser als spontaner Blasensprung bzw. rechtzeitiger Blasensprung bei vollständig eröffnetem Muttermund auf. Einen Blasensprung vor Beginn der muttermundswirksamen Eröffnungswehen bezeichnet man als vorzeitigen Blasensprung. Bei einem Blasensprung zu Beginn der Eröffnungsperiode vor vollständiger Muttermundsöffnung spricht man von einem frühzeitigen Blasensprung. Einen Blasensprung in der Austreibungsperiode nennt man verspäteten Blasensprung.

Die Austreibungsperiode beschreibt die Zeit von der vollständigen Eröffnung des Muttermundes bis zur Geburt des Kindes. Druck durch den Kopf des Kindes auf den mütterlichen Beckenboden führt reflektorisch zu einem Drang zum aktiven Pressen in der Wehe. In dieser Pressphase werden die Wehen durch willkürliches Pressen unterstützt (Abbildung 2).

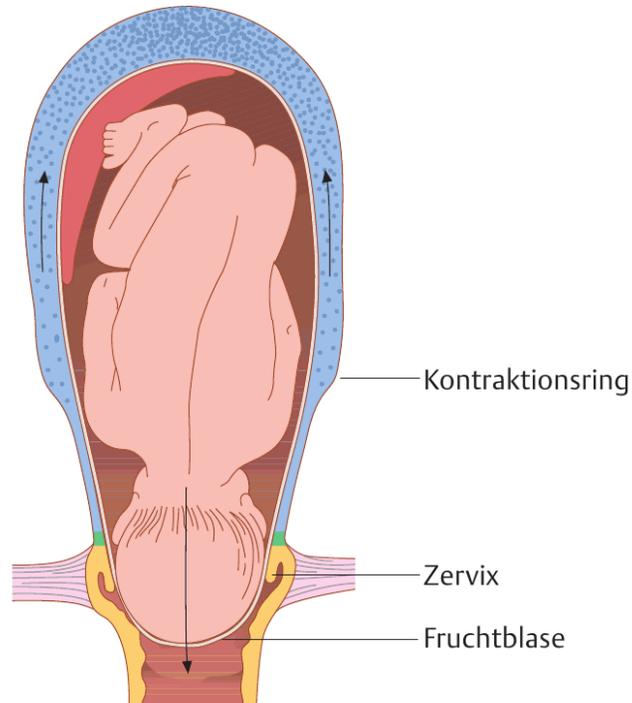


Abbildung 2: Geburtsablauf, Wehentätigkeit aus [6]

Die Nachgeburtsperiode beginnt nach Geburt des Kindes und entspricht der Ausstoßung der Plazenta. Aus der Plazenta sezernierte Prostaglandine führen zu einer starken Kontraktion des Uterus. Hierdurch verkleinert sich der Uterus und die Haftfläche der Plazenta wird verringert. Es kommt zur Lösung und Ausstoßung der Plazenta.

2.2 Frühgeburt

Laut der Weltgesundheitsorganisation WHO ist Frühgeburtlichkeit als die Geburt vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche unabhängig vom Geburtsgewicht definiert; sie betrifft in den zivilisierten Ländern ungefähr 6-7 % aller Neugeborenen [4, 16].

Die Geburt am Termin kann man als physiologische Aktivierung der letztendlich zur Geburt führenden Endstrecke sehen. Die Frühgeburt hingegen beruht auf pathologischen Prozessen, die eine oder mehrere Komponenten des üblicherweise zur Geburt führenden Ablaufs aktivieren. Die pathologischen Prozesse, die zur Frühgeburtlichkeit führen können, sind nach [47]

- intrauterine Infektion bzw. Entzündung
- Uterusischämie
- Uterusüberdehnung
- unnormale allogene Reaktion
- einer Allergie ähnelnde Reaktion
- Zervixinsuffizienz
- hormonelle Störungen.

Besondere Bedeutung als Auslöser für eine Frühgeburt wird der intrauterinen Infektion zugeschrieben. In diesem Zusammenhang wird auch den Zytokinen eine wichtige Rolle bei der Auslösung der Geburt beigemessen.

2.3 Zytokine

„Zytokine“ leitet sich aus dem Griechischen ab (Zyto, Kinese) und bedeutet „sich zwischen den Zellen bewegend“. Aus biologischer Sicht sind Zytokine hormonähnliche Wirkstoffe und sind an multiplen Vorgängen, unter anderem der Immunabwehr, der Entzündungsreaktion, der Gewebereparatur und dem Zelltod beteiligt. Es handelt sich um eine heterogene Gruppe von einfachen Polypeptiden (5-100 kDa), die eine regulierende Wirkung auf das Wachstum und die Differenzierung von Zellen des hämatopoetischen Systems besitzen. Zudem beeinflussen sie insbesondere das Zusammenspiel immunkompetenter Zellen und regulieren deren Aktivierung und Effekt. Das heißt, sie nehmen eine wichtige Rolle in der Entstehung einer adäquaten Immunantwort ein.

Durch Bindung an spezifischen Rezeptoren aktivieren sie eine Signalkaskade, über Transkriptionsfaktoren können verschiedene Gene aktiviert werden. Ein bestimmter biologischer Effekt kann durch unterschiedliche Zytokine bewirkt werden (Redundanz), ein Zytokin kann umgekehrt je nach Zielzelle verschiedene Effekte auslösen (Pleiotropie) [30]. Basierend auf den synergistischen, additiven und antagonistischen Effekten der verschiedenen Zytokine und der Komplexität der Steuerungsmöglichkeiten innerhalb des Immunsystems bezeichnet man ihre Wirkweise auch als Zytokinnetzwerk [2].

Die Funktionen der Zytokine sind abhängig von vielen Faktoren, daher können die in-vitro gewonnenen Erkenntnisse über einzelne Zytokine nicht uneingeschränkt auf die in-vivo Situation übertragen werden, dienen aber sehr wohl dem Verständnis ihrer Aufgaben. Nach Funktionen eingeteilt unterscheidet man Interferone (IFN), Interleukine (IL), Tumornekrosefaktoren (TNF), kolonie-stimulierende Faktoren (CSF), Wachstumsfaktoren (z.B. EGF, PDGF), transformierende Wachstumsfaktoren (TGF), Chemokine und Virokine [30]; vereinfacht lassen sich Zytokine nach ihrer Wirkung auf das Immunsystem in 3 Klassen einteilen: Pro- und antiinflammatorische Zytokine sowie Chemokine (Tabelle 1).

Proinflammatorische Zytokine	Antiinflammatorische Zytokine	Chemokine
IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α	IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, TGF- β	IL-8, MCP-1, MIP-1 β

Tabelle 1: Klassifikation der Zytokine aus [41]

Proinflammatorische Zytokine lösen zum Beispiel eine Akute-Phase-Reaktion aus, stimulieren B-Zellen und führen zu Immunglobulinproduktion sowie über zentrale Regulationsmechanismen zu Fieber. In der Entzündungssituation erleichtern sie die Extravasation von Leukozyten zum Ort der primären Infektion. Die Stimulation und Proliferation von T-Zellen, von antigenproduzierenden B-Zellen und natürlichen Killerzellen gehört ebenso zu ihren Aufgaben wie die Aktivierung von Neutrophilen in der akuten Inflammationssituation. Als sogenannte „early response cytokines“ stehen TNF- α und IL-1 β am Anfang der inflammatorischen Kaskade, sie aktivieren Zellen, die auf diesen Reiz weitere proinflammatorische Zytokine produzieren [15].

TNF- α kann eine Apoptose auslösen, er inhibiert die Tumorgenese und virale Replikation. IL-6 ist ein sehr pleiotropes Zytokin und nimmt eine Sonderstellung als pro- und antiinflammatorisches Zytokin ein. Es ist als ein Hauptmediator der Akute-Phase-Reaktion und des Fiebers bekannt [41].

Antiinflammatorische Zytokine dämpfen die Inflammation ein, indem sie proinflammatorische Zytokine direkt inhibieren -TNF- α bindet an den löslichen TNF- α Rezeptor, IL-1 wird durch den IL-1-Rezeptor-Antagonisten (IL-1 RA) verdrängt und durch Bindung an den löslichen IL-1-Rezeptor inaktiviert- oder ihre Produktion verringern.

Chemokine sind chemische „Lockstoffe“, die Zellen mit entsprechenden Rezeptoren veranlassen, zur Quelle der Chemokine zu wandern. Diesen Vorgang bezeichnet man als Chemotaxis [22].

2.4 Rolle der Zytokine im Geburtsablauf

In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Infektionen der Amnionhöhle durch Freisetzung inflammatorischer Zytokine vorzeitige Wehen auslösen können [47]. Die größte Aufmerksamkeit kam hier den proinflammatorischen Zytokinen IL-1 β und TNF- α zu. Man geht davon aus, dass im Verlauf von aufsteigenden Infektionen Mikroorganismen die Decidua erreichen, wo sie eine lokale inflammatorische Reaktion auslösen und die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und anderen Mediatoren auslösen. Wenn dies nicht bereits Wehentätigkeit induziert, können die Mikroorganismen die Amnionhöhle erreichen und auch dort die Produktion von Entzündungsmediatoren aus Makrophagen und anderen Immunzellen auslösen.

Hinweise für die Beteiligung von IL-1 an der Auslösung der Wehentätigkeit liefern verschiedene Studien. In [47] wurde gezeigt, dass IL-1

- von humaner Decidua als Antwort auf bakterielle Produkte produziert wird [53]
- die Prostaglandinproduktion von Amnion und Decidua fördert [45]
- Konzentration und Bioaktivität im Fruchtwasser von Frauen mit Frühgeburt und Infektion erhöht war [44]
- myometriale Kontraktionen auslösen kann [54]
- Gabe an trächtige Tiere zu frühzeitigen Wehen und Frühgeburt führt [50].

Belege für die Bedeutung von TNF- α in der Auslösung der frühzeitigen Wehen sind nach [47] unter anderem, dass TNF- α

- die Prostaglandinproduktion durch Amnion, Decidua und Myometrium stimuliert [51]
- von der Decidua als Reaktion auf bakterielle Produkte produziert wird [10, 49]
- die TNF- α Bioaktivität im Fruchtwasser von Frauen mit frühzeitiger Wehentätigkeit und intraamniarer Infektion erhöht war [48]

- bei lokaler Anwendung auf der Zervix Veränderungen auslöst, die der Zervixreifung ähneln [12]
- im Tiermodell im Zusammenhang mit bakteriell induzierter Frühgeburt steht [20, 24].

Steinborn et al. [57] zeigten, dass Zytokine auch an dem Mechanismus der zeitgerechten Geburt beteiligt sind. Es wurde die Konzentration von IL-1 β , IL-6 und TNF- α in cervicovaginalem Sekret von 96 Frauen gemessen. Hierbei ergaben sich Hinweise darauf, dass die Wehentätigkeit am Geburtstermin von biochemischen Prozessen kontrolliert wird, die der infektassoziierten Signaltransduktion, die als Auslöser für Frühgeburt akzeptiert wird, ähnelt.

2.5 Aufgabe dieser Arbeit

Ziel dieser Studie ist es zu untersuchen, ob die unkomplizierte Spontangeburt bzw. die spontane Wehentätigkeit durch eine akute inflammatorische Reaktion charakterisiert ist, die sich als Veränderung der Zytokinmuster im Nabelschnurblut gesunder, reifer Neugeborener widerspiegelt. Hierfür wurden in unserer Studie reife Neugeborene nach Spontangeburt und primärer Sectio caesarea ohne vorherige Wehentätigkeit verglichen. Bisherige Untersuchungen und Veröffentlichungen zu Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut und Einfluss der Wehentätigkeit am Termin zeigen zum Teil widersprüchliche Ergebnisse; diese Untersuchungen sind in der Mehrzahl auf einzelne oder wenige Zytokine beschränkt.

Bei allen Kindern unserer Studie wurden unmittelbar postnatal Blutproben aus den Nabelschnurgefäßen der Plazenta entnommen, anschließend wurde die Konzentration mehrerer pro- und antiinflammatorischer Zytokine und Chemokine mittels Luminex-Bead-Technologie gemessen. Weiter sollen orientierende Werte für die Zytokin- und Chemokinkonzentration im Nabelschnurblut reifer, gesunder Neugeborener definiert werden. Die Ergebnisse wurden in Zusammenschau der mütterlichen und kindlichen klinischen Befunde mathematisch-statistisch ausgewertet. Die eigenen Ergebnisse sollen unter Berücksichtigung der aktuellen wissenschaftlichen Entwicklung und Literatur einer kritischen Bewertung unterzogen werden.

3. Patienten, Materialien und Methoden

Nach Genehmigung dieser Studie durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes (Ethikvotum Nr. 173/06 vom 22.08.2007) wurden nach Aufklärung der Mütter schriftliche Einverständniserklärungen zur Blutentnahme sowie zur anonymisierten Speicherung und Verarbeitung von Daten eingeholt.

Dieses Projekt wurde durch das HOMFOR-Programm, eine Initiative der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes zur Förderung von qualitativ hochwertiger, international kompetitiver und insbesondere auch interdisziplinär ausgerichteter Forschung, unterstützt (Projektnummer T201000326).

3.1 Patientenkollektiv

Für die vorliegende Studie wurden Neugeborene untersucht, die zwischen Januar und Juli 2008 in der Klinik für Frauenheilkunde, Geburtshilfe und Reproduktionsmedizin des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg spontan oder durch primäre Sectio caesarea geboren wurden.

Eingeschlossen wurden klinisch gesunde Einlinge mit einem Gestationsalter zwischen 37+0 SSW und 41+6 SSW von gesunden Müttern nach komplikationsloser Schwangerschaft. Das Gestationsalter wurde durch die Menstruationsanamnese sowie durch eine zwischen der 10. und 12. SSW durchgeführte Ultraschalluntersuchung bestimmt.

Die folgenden Ausschlusskriterien fanden Anwendung:

Mütterliche Ausschlusskriterien:

- Anzeichen für eine Infektion:
 - Fieber (Körpertemperatur > 38.5 °C) oder
 - erhöhtes C-reaktives Protein (> 20 mg/l) oder

- Leukozytose (> 16000 /nl)
- Antibiotische Therapie bis zu 72 Stunden vor Geburt
- positiver mikrobiologischer Befund im Vagina- oder Uterusabstrich
(Ausnahme: Koagulase negative Staphylokokken)
- Histopathologischer Nachweis einer Chorioamnionitis
- Vorzeitiger Blasensprung (> 8 Stunden vor Geburt)
- Nikotin-, Alkohol- oder Drogenabusus in der Schwangerschaftsanamnese
- Immunmodulatorische Therapie
- Therapie mit Corticosteroiden einschl. Lungenreifungsinduktion
- Diabetes mellitus
- arterielle Hypertonie
- allergische Erkrankungen

Kindliche Ausschlusskriterien:

- 5 Minuten APGAR < 7
- umbilicalarterieller pH < 7,10
- intrauterine Wachstumsstörung
(Geburtsgewicht unter der 10ten oder oberhalb der 90ten Perzentile [61])
- relevante Fehlbildungen (ZNS, Herz, Lunge, Niere)
- stationäre Aufnahme oder Überwachung

Im Studienzeitraum erfüllten 60 Kinder die geforderten Kriterien, diese wurden in zwei prospektiv über den Geburtsmodus definierte Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 besteht aus 25 spontan geborenen Kindern, Gruppe 2 aus 35 Kindern die durch eine elektive Sectio caesarea ohne vorherige Wehentätigkeit entbunden wurden.

3.2 Datenerhebung

Folgende klinische Daten wurden durch Auswertung der Patientenakten erfasst:

- Alter der Mutter
- Anzahl der Schwangerschaften
- Anzahl der Geburten
- Geburtsmodus
- Indikation zur Sectio caesarea
- Kindslage
- mütterliche Risikofaktoren
- durchgeführte Lungenreifung
- Geburtsdatum und Geburtszeitpunkt
- Gestationsalter
- Geschlecht des Kindes
- Geburtsgewicht
- APGAR nach 5 und 10 Minuten
- Nabelschnur pH-Wert
- mütterliches CRP
- Ergebnisse der Vagina- oder Uterusabstriche

Ferner wurden der Entnahmezeitpunkt sowie die Zeitpunkte der Zentrifugation und der Verarbeitung der Blutproben dokumentiert.

Die Daten wurden -nach Anonymisierung mittels zufälliger Zuordnung einer fortlaufenden Nummerierung- zur Speicherung und weiteren Verarbeitung in einer als Datenbank konzipierten Tabelle (Microsoft Excel 2010, Microsoft Corporation) organisiert (Abbildung 3).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	Code	Geburt Datum	Geburtszeitpunkt	Zentrifugationsdatum	Zentrifugationszeit	Abstand Z Zeit	Alter Mu	Gravida	Parida	Primipara	GA	GA
2	ZM411	14. Mrz. 2008	8:26	14. Mrz. 2008	9:00	0:34	35	3	3	0	37+0	37
3	ZM381	28. Feb. 2008	8:51	28. Feb. 2008	9:10	0:19	32	3	2	0	37+4	37
4	ZM483	29. Apr. 2008	8:35	29. Apr. 2008	12:00	3:25	30	4	3	0	37+5	37
5	ZM366	19. Feb. 2008	7:09	19. Feb. 2008	9:15	2:06	19	1	1	1	37+6	37
6	ZM416	17. Mrz. 2008	8:32	17. Mrz. 2008	11:32	3:00	23	3	3	0	37+6	37
7	ZM467	21. Apr. 2008	11:38	21. Apr. 2008	12:55	1:17	28	3	2	0	37+6	37
8	ZM392	5. Mrz. 2008	12:37	5. Mrz. 2008	15:40	3:03	30	2	2	0	38+0	38
9	ZM463	18. Apr. 2008	8:33	18. Apr. 2008	9:20	0:47	36	2	1	1	38+1	38
10	ZM472	24. Apr. 2008	8:36	24. Apr. 2008	9:20	0:44	30	4	2	0	38+1	38
11	ZM529	9. Jun. 2008	8:47	9. Jun. 2008	9:30	0:43	41	3	3	0	38+1	38
12	ZM340	29. Jan. 2008	12:35	29. Jan. 2008	13:50	1:15	24	1	1	1	38+2	38
13	ZM357	12. Feb. 2008	6:33	12. Feb. 2008	9:25	2:52	29	5	2	0	38+2	38
14	ZM425	26. Mrz. 2008	8:36	26. Mrz. 2008	9:20	0:44	30	1	1	1	38+2	38
15	ZM439	31. Mrz. 2008	9:32	31. Mrz. 2008	10:30	0:58	29	3	2	0	38+2	38
16	ZM499	6. Mai. 2008	13:13	6. Mai. 2008	15:45	2:32	35	2	2	0	38+2	38
17	ZM342	31. Jan. 2008	8:54	31. Jan. 2008	9:20	0:26	25	1	1	1	38+3	38
18	ZM359	14. Feb. 2008	11:14	14. Feb. 2008	14:20	3:06	29	4	4	0	38+3	38
19	ZM387	3. Mrz. 2008	11:47	3. Mrz. 2008	12:05	0:18	30	3	3	0	38+3	38
20	ZM390	4. Mrz. 2008	11:06	4. Mrz. 2008	11:30	0:24	35	3	2	0	38+3	38
21	ZM365	19. Feb. 2008	8:49	19. Feb. 2008	9:20	0:31	29	3	2	0	38+4	38
22	ZM373	22. Feb. 2008	12:55	22. Feb. 2008	15:35	2:40	23	2	2	0	38+4	38
23	ZM443	4. Apr. 2008	8:49	4. Apr. 2008	9:10	0:21	25	1	1	1	38+4	38
24	ZM484	29. Apr. 2008	8:46	29. Apr. 2008	12:00	3:14	35	1	1	1	38+4	38
25	ZM532	10. Jun. 2008	11:09	10. Jun. 2008	12:20	1:11	23	1	1	1	38+4	38
26	ZM341	30. Jan. 2008	8:49	30. Jan. 2008	9:15	0:26	38	1	1	1	38+5	38
27	ZM344	1. Feb. 2008	9:58	1. Feb. 2008	10:30	0:32	37	1	1	1	38+5	38
28	ZM363	18. Feb. 2008	10:26	18. Feb. 2008	11:00	0:34	27	2	2	0	38+5	38
29	ZM489	1. Mai. 2008	8:34	1. Mai. 2008	12:00	3:26	22	1	1	1	38+5	38
30	ZM503	7. Mai. 2008	8:40	7. Mai. 2008	9:30	0:50	27	4	2	0	38+5	38
31	ZM513	20. Mai. 2008	8:40	20. Mai. 2008	9:15	0:35	36	1	1	1	38+5	38
32	ZM545	30. Jun. 2008	10:35	30. Jun. 2008	12:45	2:10	30	2	1	1	38+5	38
33	ZM548	6. Jul. 2008	10:35	6. Jul. 2008	12:00	1:25	29	1	1	1	38+5	38
34	ZM350	7. Feb. 2008	8:44	7. Feb. 2008	10:25	1:41	32	3	2	0	38+6	38
35	ZM351	7. Feb. 2008	11:00	7. Feb. 2008	11:50	0:50	32	3	3	0	38+6	38
36	ZM389	4. Mrz. 2008	8:40	4. Mrz. 2008	9:25	0:45	27	5	2	0	38+6	38
37	ZM519	26. Mai. 2008	13:37	26. Mai. 2008	14:45	1:08	30	2	2	0	38+6	38
38	ZM473	24. Apr. 2008	8:04	24. Apr. 2008	10:40	2:36	35	1	1	1	39+0	39
39	ZM352	8. Feb. 2008	8:40	8. Feb. 2008	9:15	0:35	39	2	1	1	39+1	39
40	ZM404	11. Mrz. 2008	8:39	11. Mrz. 2008	9:54	0:15	37	2	2	0	39+1	39

Abbildung 3: Datenbank (Ausschnitt)

3.3 Luminex-Bead-Technologie

Zur Analyse der Zytokin- und Chemokinkonzentrationen in den gewonnenen Blutproben wurde eine Multiplex-Analyse auf Basis der Luminex-xMAP-Technologie (Luminex Corporation, Austin, Texas) angewendet. Diese Technik erlaubt die simultane Analyse von bis zu 100 verschiedenen Molekülen [60] durch Nutzung von mikroskopisch kleinen Polystyrolpartikeln (sog. Mikrosphären oder Beads) die -analog zu ELISA- als Festphase der biochemischen Nachweisreaktion dienen.

Die Beads sind mit zwei in unterschiedlichen Wellenlängen (im roten und im infraroten Bereich) emittierenden Fluoreszenzfarbstoffen eingefärbt. Jeder Farbstoff wird in zehn unterschiedlichen Abstufungen verwendet, so dass 100 (10^2) unterscheidbare Permutationen existieren (Abbildung 4), welche jeweils für eine sogenannte Beadregion -also eine Population von gleichartigen Beads- stehen [34].

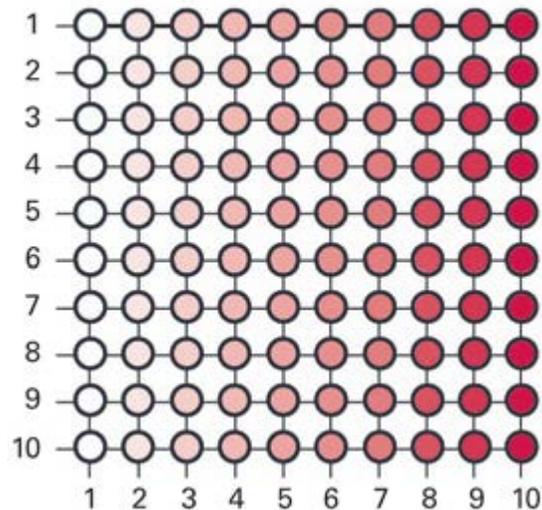


Abbildung 4: Darstellung der möglichen Beadpermutationen aus [34]

Jede Beadregion trägt auf der Oberfläche ein eigenes, spezifisches Nachweisreagenz (Abbildung 5) und repräsentiert so einen Einzeltest. Ein Beadmix, also eine Mischung verschiedener Beadregionen, ist die Grundlage der multiplexen Analyse.

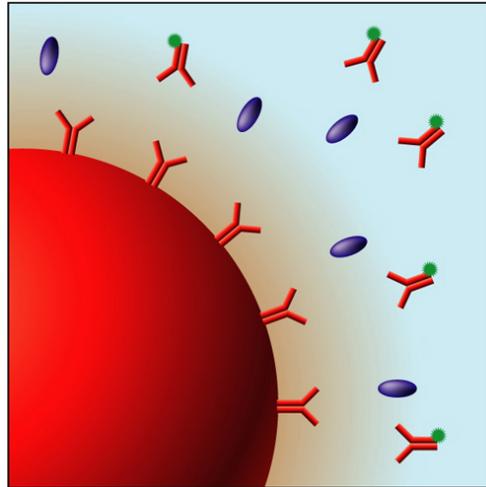


Abbildung 5: Bead mit spezifischem Nachweisreagenz, PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg

Die Messung der Analyte -also der nachzuweisenden Moleküle- erfolgt über die Bindung an das komplementäre Nachweisreagenz auf der Beadoberfläche (Abbildung 6), in einem zweiten Schritt wird ein Detektionsmolekül gebunden.

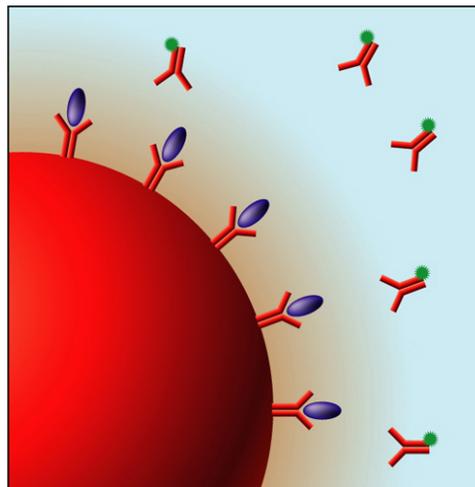


Abbildung 6: Bindung des Analyts an das spezifische Nachweisreagenz, PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg

Eine quantitative Bestimmung ist möglich, da die Bindung an das Nachweisreagenz von der Konzentration des Analyten in der Probe bestimmt wird. Das Detektionsmolekül hat

eine hohe spezifische Affinität zum nachzuweisenden Molekül und ist mit einem im grünen Wellenlängenbereich emittierenden Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt (Abbildung 7).

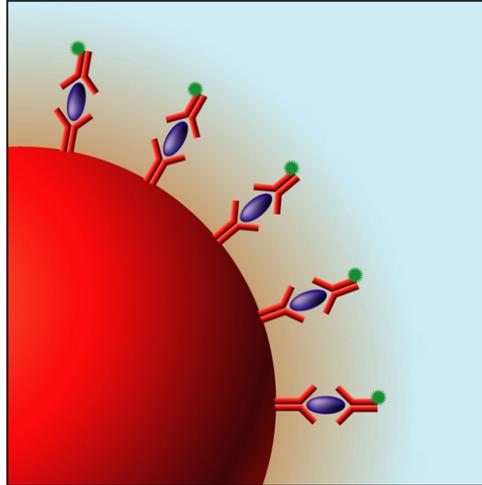


Abbildung 7: Bindung des Detektionsantikörpers an das Analyt, PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg

Durch die differenten Wellenlängenbereiche des Nachweisfarbstoffes und der Beadklassifikationsfarbstoffe können die Beadidentifikation und die Quantifizierung des nachzuweisenden Moleküls zeitgleich ablaufen.

3.4 Probengewinnung, Messung der Zytokinkonzentrationen

Unmittelbar nach Geburt wurde von jedem Neugeborenen Nabelschnurblut aus der Plazenta entnommen und in EDTA-Monovetten (Fa. Sarstedt) gesammelt. Die Proben wurden bei 4 °C gelagert und innerhalb eines Zeitraumes von maximal 4 Stunden nach Entnahme zentrifugiert. Das durch 10 Minuten Zentrifugation bei 2000 UPM gewonnene Serum wurde anschließend bis zur weiteren Bearbeitung bei -80 °C gelagert.

In dieser Arbeit wurden das „Premixed Milliplex MAP Human Cytokine/Chemokine Panel™“ Assaykit sowie das „Milliplex TGFβ1 Single Plex Kit™“ (Millipore Corp., Billerica, MA, USA) verwendet.

Die bestückten Assays wurden mit dem Luminex 100™ suspension array system (Luminex Corp., Austin, TX, USA) ausgewertet. Die quantitative Messung der Analyte erfolgt hier mittels Durchflusszytometrie:

Die zu messende Probe wird automatisch aus der Mikrotiterplatte entnommen und zur Messküvette geleitet. Dabei wird die Probe von einer Flüssigkeit ummantelt (sog. sheath fluid). Die Probe strömt laminar durch die Mantelflüssigkeit und wird so fokussiert (hydrodynamische Fokussierung), die Beads werden vereinzelt durch das laserbasierte Detektionssystem gespült. Die Detektion erfolgt über zwei Laser, die sowohl die Beads identifizieren als auch den quantitativen Nachweis der Moleküle ermöglichen (Abbildung 8).

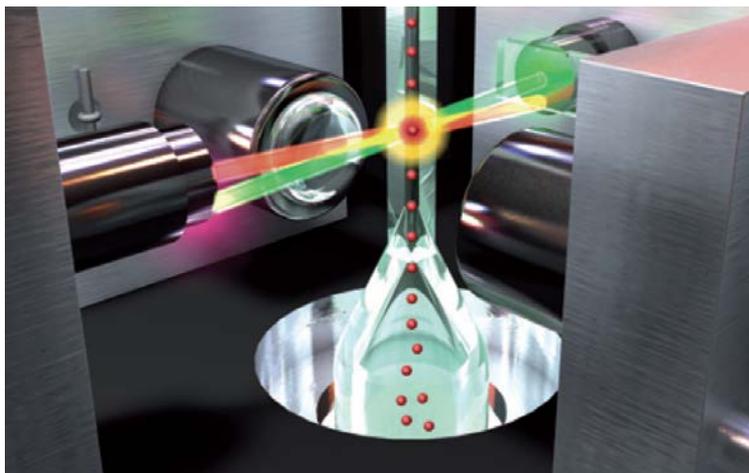


Abbildung 8: Hydrodynamische Fokussierung, Detektionssystem, aus [34]

Die Identifikation der Beads erfolgt durch eine Laserdiode, die Licht mit einer Wellenlänge von 635 nm emittiert und so die Fluoreszenzfarbstoffe der Beads anregt. Diese wiederum emittieren Licht mit Wellenlängen von 645 bis 669 nm (rot) und >712 nm (infrarot), das über Photodioden gemessen wird. Über die beiden Signale können -wie oben beschrieben- die Beads zu einer Beadregion zugeordnet werden.

Zusätzlich wird über Messung der Lichtstreuung in Seitwärtsrichtung die Partikelgröße bestimmt. So können Bead-Aggregate oder fluoreszierende Verunreinigungen von der Messung ausgeschlossen werden.

Die quantitative Messung der Analyte erfolgt über einen Yttrium-Argon-Germanium-Festkörperlaser (532 nm), der den Fluoreszenzfarbstoff des Detektionsmoleküls anregt. Dabei wird die Intensität des im Wellenlängenbereich zwischen 563 und 587 nm emittierten Lichtes durch den Einsatz von Photomultipliern, die die Sensitivität deutlich erhöhen, gemessen (Abbildung 9). Die Lichtintensität ist proportional zur gebundenen Analytmenge, durch Vergleich mit einer durch Messung verschiedener Standardkonzentrationen erstellten Eichkurve erfolgt die quantitative Bestimmung.

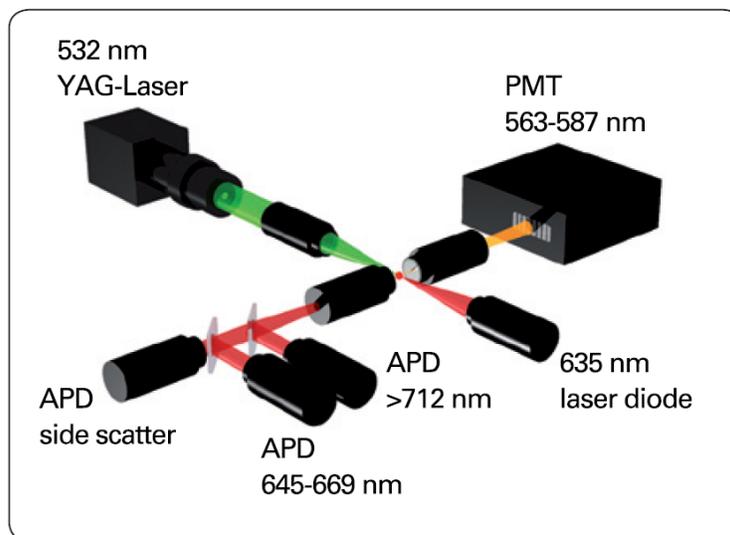


Abbildung 9: Laserdetektionssystem, aus [34]

In der vorliegenden Arbeit wurden alle Proben in einem Durchlauf im single-plate-Modus nach den Herstellervorgaben laut Handbuch gemessen. Die Nachweisgrenze lag bei allen Zytokinen bei 3,2 pg/ml.

In jeder Probe wurde die Konzentration von 20 Molekülen bestimmt:

- Interleukin-1 α (IL-1 α)
- IL-1 β
- IL-2
- IL-4
- IL-5
- IL-6
- IL-8
- IL-10
- IL-12p40
- IL-12p70
- IL-17
- Tumornekrosefaktor- α (TNF- α)
- TNF- β
- IL-1 Rezeptorantagonist (IL-1RA)
- Löslicher IL-2 Rezeptor α (sIL2-R α)
- Interferon- α 2 (IFN- α 2)
- IFN- γ
- interferon-gamma induced protein -10 (IP-10)
- granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)
- transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)

3.5 Mathematisch-statistische Prüfverfahren

Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten wurden mit dem Programm IBM SPSS Statistics 20 von IBM Corporation statistisch ausgewertet. Die enthaltenen Grafiken wurden ebenfalls mit diesem Programm erstellt, die Tabellen teilweise mit SPSS 20 und teilweise mit Microsoft Excel 2010 von Microsoft Corporation angelegt.

Im Zuge der statistischen Auswertung wurde zunächst eine Prüfung auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilks durchgeführt. Für kontinuierliche Variablen erfolgte bei Nachweis der Normalverteilung die statistische Auswertung mittels T-Test, andernfalls mittels Mann-Whitney-U-Test. Für kategoriale Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson bzw. bei erwarteten kleinen Häufigkeiten der exakte Test nach Fischer angewendet. Als statistisch signifikant wurden Ergebnisse mit einem Signifikanz-Wert $p \leq 0,05$ eingestuft. Bei multiplen Prüfungen wurde eine Bonferroni-Korrektur des Signifikanz-Wertes vorgenommen. Die Korrelationsanalysen wurden mittels Rangkorrelationanalyse nach Spearman durchgeführt. Alle Parameter, die sich in der univariaten Analyse bezüglich der Zytokinspiegel als signifikant herausstellten, wurden in einer multivariaten linearen Regressionsanalyse nochmals überprüft.

4. Ergebnisse

4.1 Geburtsmodus

In dieser Studie wurden 60 den Einschlusskriterien entsprechende Neugeborene untersucht. Von diesen wurden 25 (41,7 %) spontan geboren, 35 (58,3 %) ohne vorherige Wehentätigkeit per elektiver Sectio caesarea entbunden. Über den Geburtsmodus definiert wurden die Kinder prospektiv in 2 Gruppen eingeteilt (Spontangruppe und Sectiogruppe).

4.2 Alter der Mütter

Die Mütter der Sectiogruppe waren gegenüber der Spontangruppe signifikant jünger (28 Jahre [18 - 37] vs. 30 Jahre [23 - 41], $p < 0,029$) (Abbildung 10, Abbildung 11).

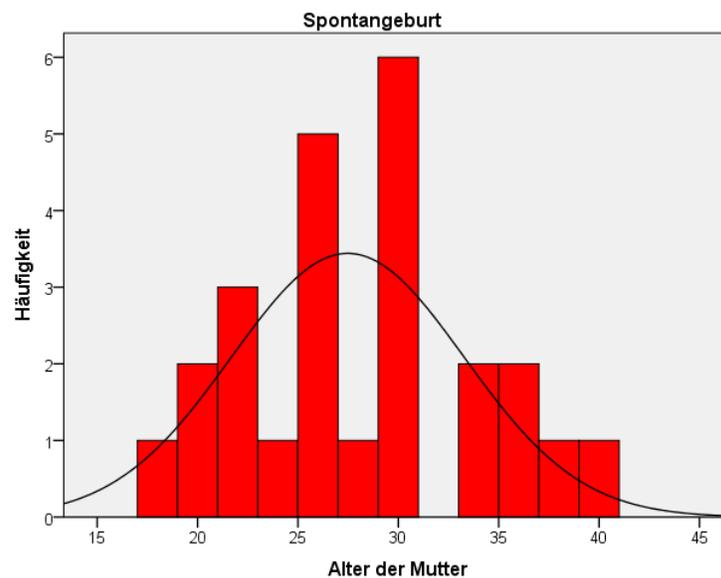


Abbildung 10: Alter der Mutter, Spontangeburt

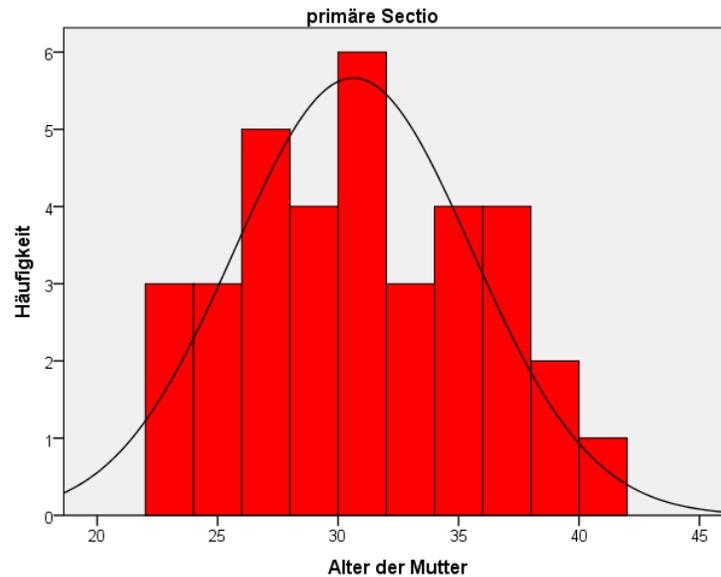


Abbildung 11: Alter der Mutter, primäre Sectio

4.3 Gravidität und Parität

Unter den Müttern waren 2 Gravida 5, 6 Gravida 4, 16 Gravida 3, 17 Gravida 2 sowie 19 Gravida 1, insgesamt ergaben sich 1 Parida 4, 11 Parida 3, 24 Parida 2 sowie 24 Parida 1.

Damit waren 40% der Mütter Primipara (Abbildung 12, Abbildung 13, prozentuale Verteilung).

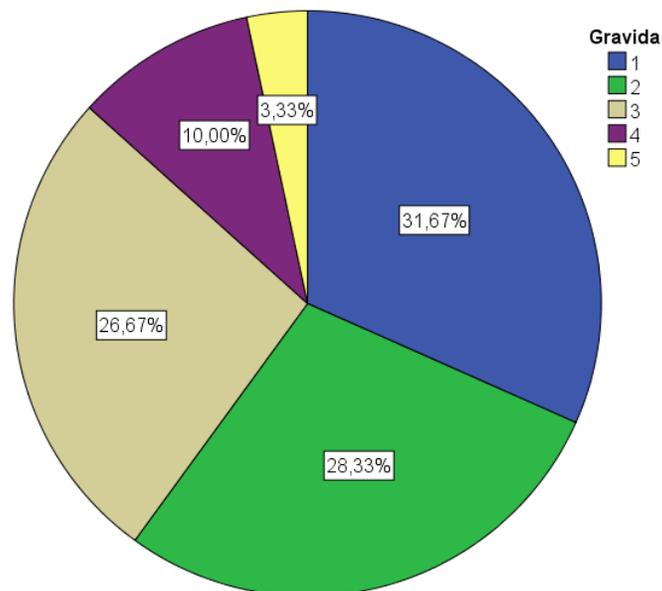


Abbildung 12: Gravidität, prozentuale Verteilung

n=60

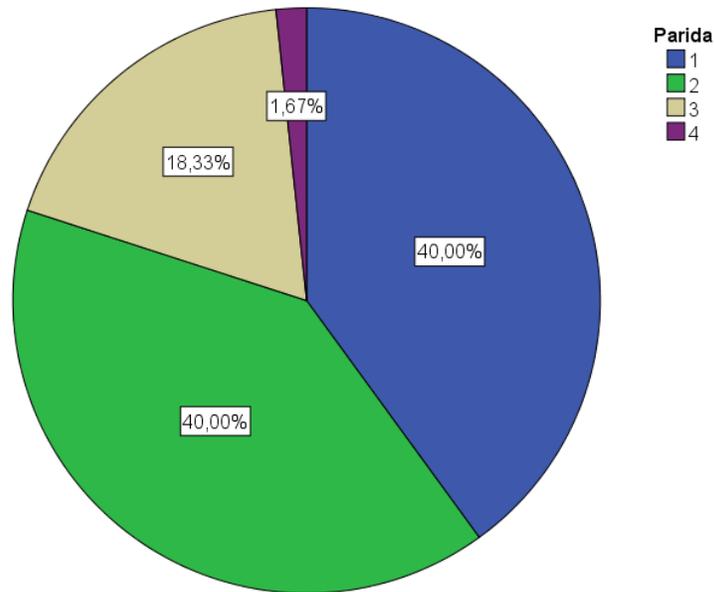


Abbildung 13: Parität, prozentuale Verteilung

Innerhalb der Sectiogruppe gab es 9 Primipara, in der Spontangruppe 15 Primipara, das entspricht 25,7% in der Sectiogruppe bzw. 60% in der Spontangruppe. Somit haben 37,5% der Primipara per elektiver Sectio entbunden, 62,5% spontan (Tabelle 2).

		primäre Sectio		Gesamt	
		Nein	ja		
Primipara	Nein	Anzahl	10	26	36
		% innerhalb von Primipara	27,8%	72,2%	100,0%
		% innerhalb von primäre Sectio	40,0%	74,3%	60,0%
	Ja	Anzahl	15	9	24
		% innerhalb von Primipara	62,5%	37,5%	100,0%
		% innerhalb von primäre Sectio	60,0%	25,7%	40,0%
Gesamt	Anzahl	25	35	60	
	% innerhalb von Primipara	41,7%	58,3%	100,0%	
	% innerhalb von primäre Sectio	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabelle 2: Kreuztabelle primäre Sectio * Primipara

4.4 Mütterliche Abstrichuntersuchungen, Plazentahistologie

Bei 56 von 60 Müttern (93,3%) wurden Abstrichuntersuchungen durchgeführt, eine histologische Untersuchung der Plazenta wird nicht routinemäßig veranlasst, daher erfolgte diese nur bei 3 von 60 Müttern (5%). Entsprechend den definierten Ausschlusskriterien waren diese Untersuchungen unauffällig.

4.5 Mütterliche CRP-Werte

Die CRP-Werte waren in den beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich ($p=0,307$), sie sind in Tabelle 3 dargestellt.

primäre Sectio		N	Mittelwert [mg/l]	Standardabweichung
CRP-Wert	Ja	35	4,669	4,0684
	Nein	25	5,876	4,9966

Tabelle 3: CRP-Werte nach Gruppen

4.6 Sectioindikation

Die Indikationen zur Sectio waren Wunsch der Mutter, Kindslage, vorangegangene Sectio, Makrosomie bzw. Missverhältnis sowie eine mütterliche Erkrankung (Z.n. Beckenringfraktur). Die Verteilung der Indikationen ist in Tabelle 4 dargestellt.

	Häufigkeit	Prozent
Wunsch der Mutter	8	22,9
Re-Sectio	14	40,0
Kindslage (Beckenendlage, Querlage)	9	25,7
Makrosomie/Missverhältniss	3	8,6
mütterliche Erkrankung	1	2,9

Tabelle 4: Verteilung der Sectioindikationen

4.7 Anästhesieformen

Die Sectiones fanden alle in Spinalanästhesie statt, bei den Spontangeburtten erhielten 16 (64 %) Frauen eine Periduralanästhesie (Unterschied signifikant, $p < 0,01$) (Abbildung 14).

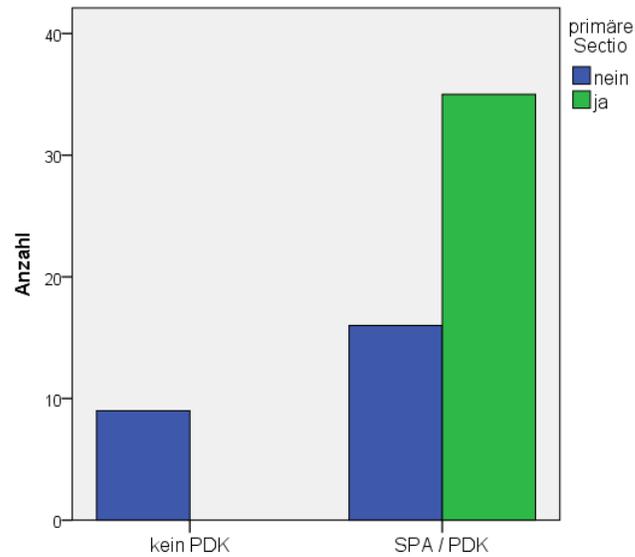


Abbildung 14: Anästhesieverfahren

4.8 Geschlechtsverteilung

Unter den per primärer Sectio entbundenen Kindern waren 20 männlich und 15 weiblich, entsprechend 57,1% und 42,9%. Spontan wurden 14 männliche und 11 weibliche Kinder, entsprechend 56% und 44%, entbunden (Abbildung 15). Die Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich des Auftretens männlichen Geschlechts nicht signifikant ($p=0,693$).

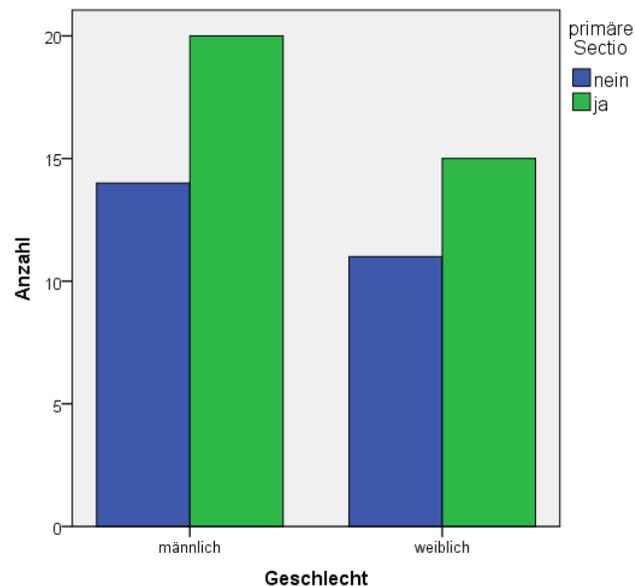


Abbildung 15: Geschlechtsverteilung beider Gruppen

4.9 Gestationsalter

Die per Sectio caesarea entbundenen Kinder hatten ein signifikant niedrigeres Gestationsalter als die spontan geborenen Kinder (38,5 Wochen [37,0 - 39,6] vs. 39,8 Wochen [37,9 - 42,4], $p < 0,001$) (Abbildung 16 bis Abbildung 18).

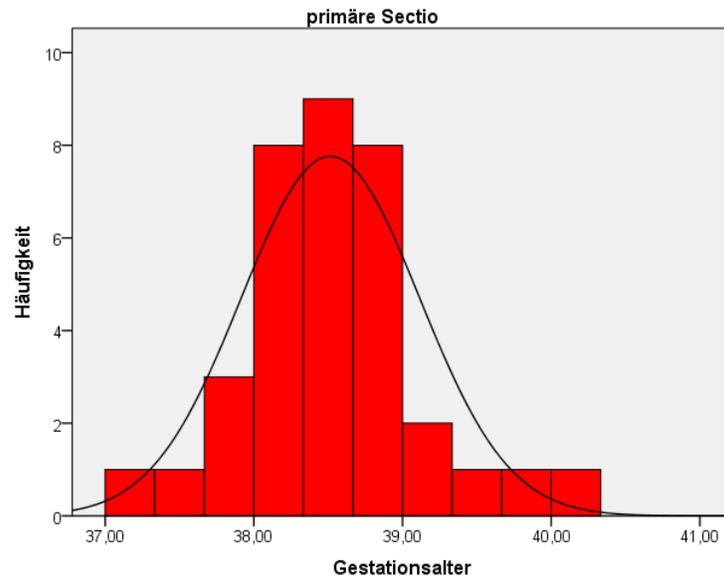


Abbildung 16: Gestationsalter, primäre Sectio

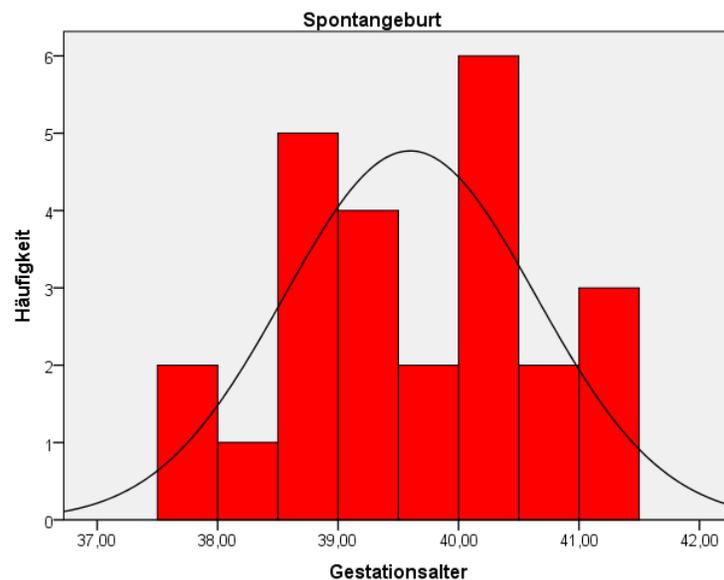


Abbildung 17: Gestationsalter, Spontangeburt

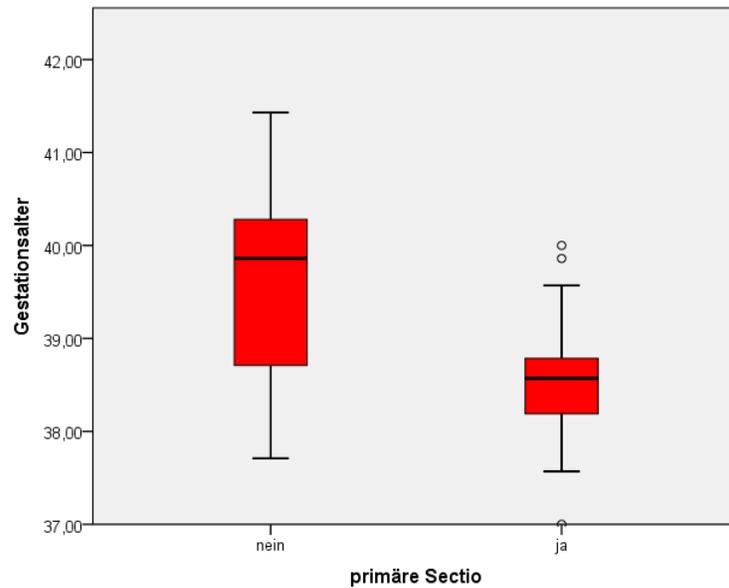


Abbildung 18: Gestationsalter, Gruppenvergleich

4.10 Geburtsgewicht

Das Geburtsgewicht unterschied sich zwischen den Spontan- und den Sectio-geburten nicht signifikant (3370 Gramm [2730-4340] vs. 3330 Gramm [2610-4200], $p=0,713$) (Abbildung 19 bis Abbildung 21).

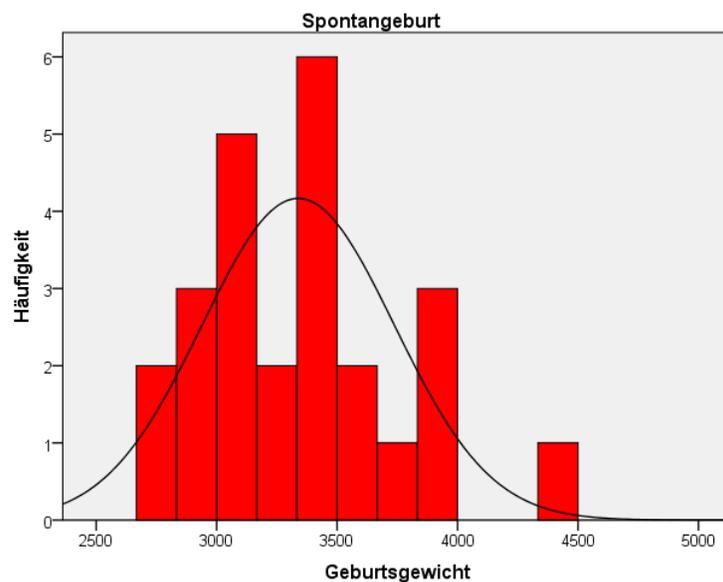


Abbildung 19: Geburtsgewicht, Spontangeburt

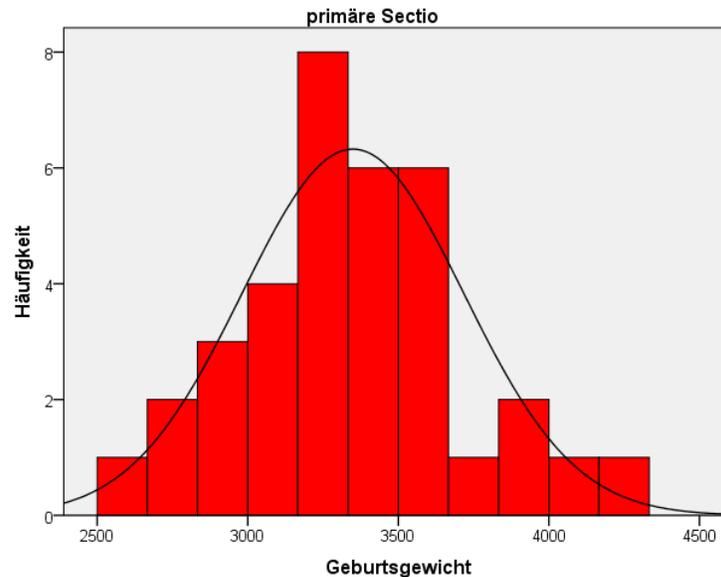


Abbildung 20: Geburtsgewicht, Sectio

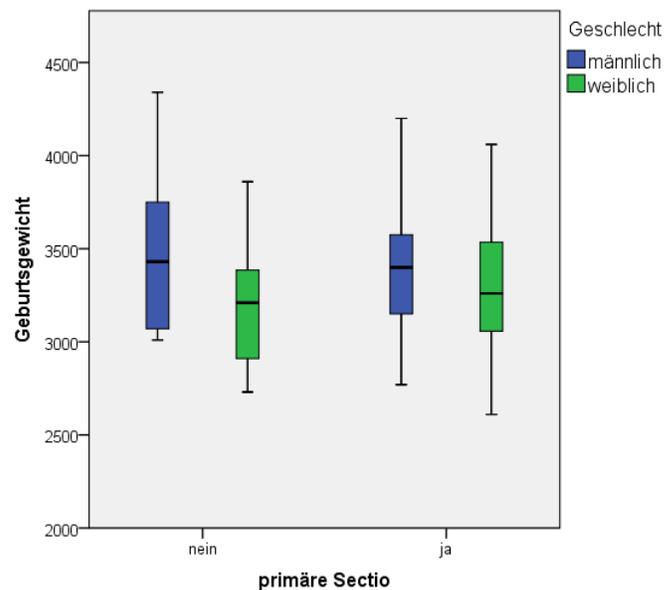


Abbildung 21: Geburtsgewicht, geschlechtergetrennt

4.11 APGAR-Scores, Nabelschnurarterien-pH

Die beiden Gruppen unterschieden sich im Hinblick auf den 5- und 10-Minuten-APGAR sowie den Nabelschnur-pH-Wert nicht signifikant voneinander ($p=0,19$ für 5-Minuten-APGAR, $p=0,61$ für 10-Minuten-APGAR und $p=0,62$ für Nabelschnur-pH-Wert). Deskriptive Statistik siehe Tabelle 5.

		APGAR5	APGAR10	Na-pH
Spontan- geburt	N	25	25	25
	Mittelwert	9,36	9,84	7,2896
	Median	9,00	10,00	7,3000
	Standardabweichung	,638	,374	,05849
	Minimum	8	9	7,13
	Maximum	10	10	7,35
Sectio	N	35	35	35
	Mittelwert	9,54	9,89	7,3057
	Median	10,00	10,00	7,3000
	Standardabweichung	,701	,323	,03958
	Minimum	7	9	7,18
	Maximum	10	10	7,36

Tabelle 5: 5- und 10-Minuten-APGAR, Nabelschnur-pH-Wert, Gruppenvergleich

In Tabelle 6 wurden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der bisher beschriebenen klinischen Daten zusammengefasst.

	SVD (n=25)	ECS (n=35)	P ^a
Alter der Mutter [Jahre]	28 (18-37)	30 (23-41)	<0,029*
Anästhesie [PDA/SPA] [n], (%)	16 (64)	35 (100)	<0,001*
Gestationsalter [Jahre]	39,8 (37,9-42,4)	38,5 (37,0-39,6)	<0,001*
Geburtsgewicht [Gramm]	3370 (2730-4340)	3330 (2610-4200)	0,71
Nabelschnur-pH-Wert	7,30 (7,13-7,40)	7,31 (7,18-7,36)	0,62
5-Minuten-APGAR	9 (8-10)	10 (7-10)	0,19
10-Minuten-APGAR	10 (9-10)	10 (9-10)	0,61
Männliches Geschlecht [n], (%)	13 (52)	20 (57)	0,69

^a Ergebnisse durch Mann-Whitney-U-Test oder Chi-Quadrat-Test

* signifikant für p<0,05

Tabelle 6: Zusammenfassung der klinischen Daten

4.12 Zytokine

4.12.1 Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur

Der Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur auf die gemessenen Zytokinkonzentrationen wurde vor Beginn der Studie durch Messungen mit Serum eines freiwilligen erwachsenen Probanden bestimmt. Hierzu wurden die Blutproben nach Abnahme einmal bei Raumtemperatur sowie einmal bei 4°C gelagert und nach 0, 1, 2, und 4 Stunden Lagerungszeit zentrifugiert und weiterverarbeitet.

Die so gewonnenen Proben wurden jeweils dreimal gemessen. Hierbei zeigte sich, dass weder die Lagerungszeit noch die Lagerungstemperatur bis zum Zentrifugieren einen signifikanten Einfluss auf die Zytokinkonzentrationen hat. Die jeweiligen Messwerte sind in Abbildung 22 bis Abbildung 31 mit der statistischen Auswertung dargestellt.

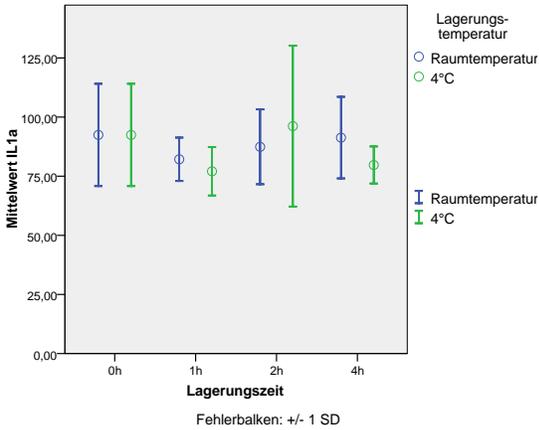


Abbildung 22: IL-1 α , Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,532$ für Raumtemperatur, $p=0,801$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,480$ für 1h, $p=0,513$ für 2h, $p=0,480$ für 4h)

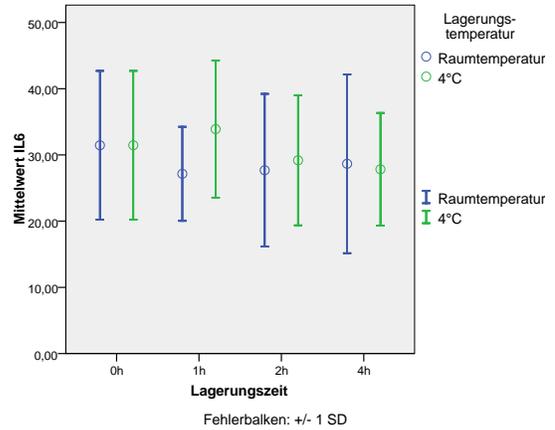


Abbildung 24: IL-6, Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,719$ für Raumtemperatur, $p=0,217$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,289$ für 1h, $p=0,827$ für 2h, $p=1,0$ für 4h)

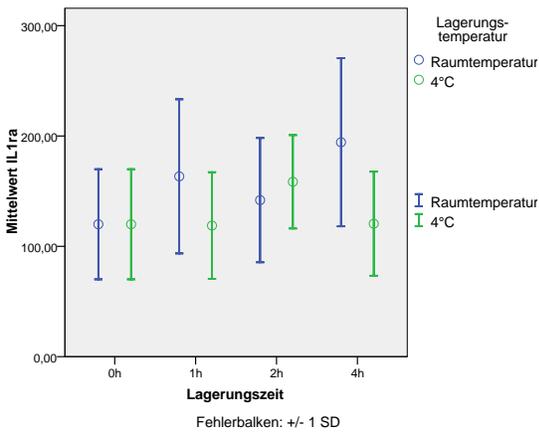


Abbildung 23: IL-1ra, Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,122$ für Raumtemperatur, $p=0,896$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,212$ für 1h, $p=0,275$ für 2h, $p=0,157$ für 4h)

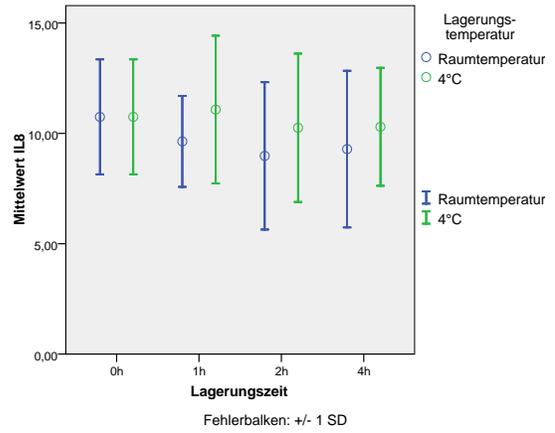


Abbildung 25: IL-8, Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,241$ für Raumtemperatur, $p=0,532$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,48$ für 1h, $p=0,513$ für 2h, $p=1,0$ für 4h)

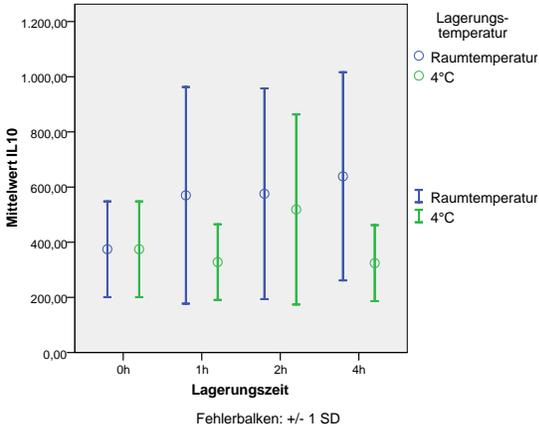


Abbildung 26: IL-10, Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,089$ für Raumtemperatur, $p=0,122$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,285$ für 1h, $p=0,513$ für 2h, $p=0,289$ für 4h)

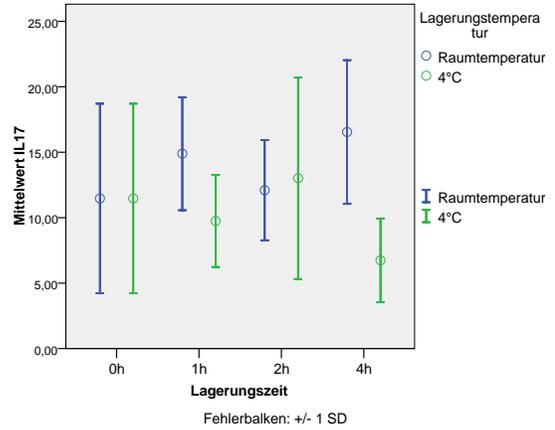


Abbildung 28: IL-17, Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,072$ für Raumtemperatur, $p=0,615$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,157$ für 1h, $p=0,513$ für 2h, $p=0,077$ für 4h)

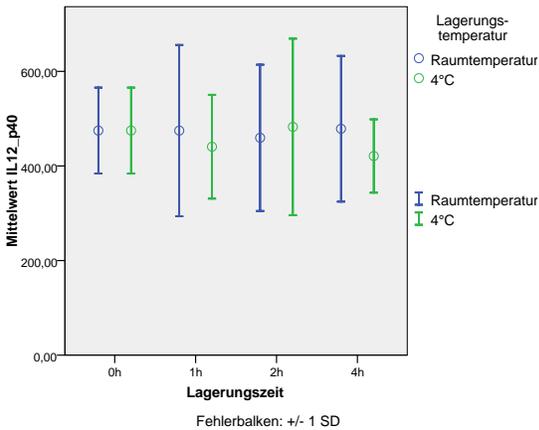


Abbildung 27: IL-12p40, Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,896$ für Raumtemperatur, $p=0,532$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=1,0$ für 1h, $p=0,827$ für 2h, $p=0,48$ für 4h)

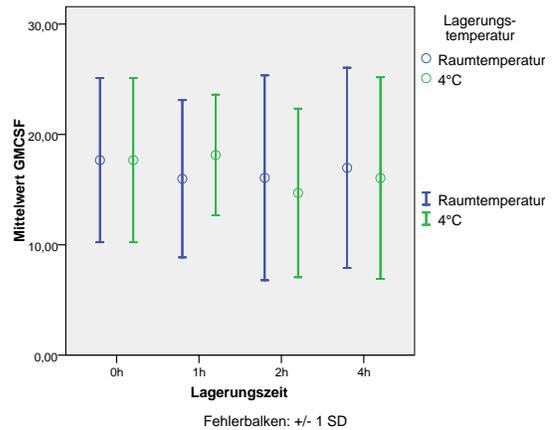


Abbildung 29: GM-CSF, Einfluss der Lagerungszeit und -temperatur (Friedman-Test: $p=0,460$ für Raumtemperatur, $p=0,801$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,289$ für 1h, $p=0,827$ für 2h, $p=0,48$ für 4h)

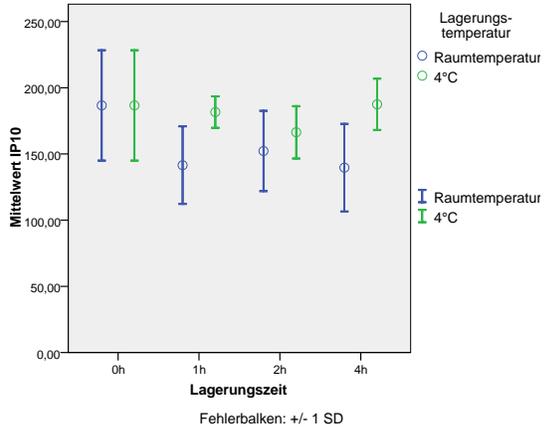


Abbildung 30: IP-10, Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur (Friedman-Test: $p=0,580$ für Raumtemperatur, $p=0,145$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,157$ für 1h, $p=0,275$ für 2h, $p=0,034$ für 4h)

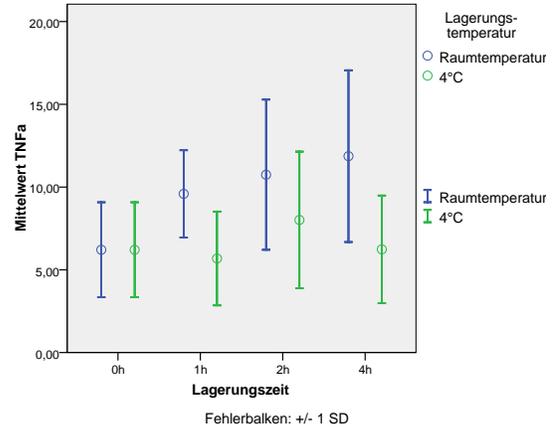


Abbildung 31: TNF- α , Einfluss der Lagerungszeit und –temperatur (Friedman-Test: $p=0,122$ für Raumtemperatur, $p=0,334$ für 4°C.; Mann-Whitney-U Test $p=0,077$ für 1h, $p=0,275$ für 2h, $p=0,157$ für 4h)

4.12.2 Intra-assay Variationskoeffizient

Der mittlere intra-assay Variationskoeffizient wurde durch die zweimalige Messung mit Serum aus einem Pool von Blutproben freiwilliger erwachsener Probanden bestimmt und lag zwischen 0% und 13,9% (Tabelle 7, die im Hauptkollektiv näher betrachteten Zytokine sind fett gedruckt).

Zytokin	Proben mit detektierbarem Zytokinspiegel >3,2 pg/ml [%]	Variationskoeffizient [%]
IL-1α	100	0,4
IFN-α2	100	0
IP-10	100	1,8
IL-8	100	1,9
sIL-2Rα	100	3,1
IL-10	100	4,4
TNF-α	100	5,1
IL-1RA	100	5,3
TGF-β1	100	6,1
IL-12p40	100	9,7
IL-6	100	9,8
GM-CSF	100	13,9
IL-1 β	0	-
IL-2	0	-
IL-4	0	-
IL-5	0	-
IL-12p70	0	-
IL-17	0	-
IFN- γ	0	-
TNF- β	0	-

Tabelle 7: Variationskoeffizient

4.12.3 Messbare Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut

Bei insgesamt 20 gemessenen Zytokinen waren die Konzentrationen von 7 Substanzen im Nabelschnurblut entweder unterhalb der Nachweisgrenze von 3,2 pg/ml, oder sie konnten nur sporadisch nachgewiesen werden (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IFN- γ , IL-12p70 sowie TNF- β , Nachweis bei < 60% der Proben). In der weiteren Analyse wurden daher nur 13 Zytokine näher betrachtet (in Tabelle 8 fett gedruckt). Die Nachweishäufigkeit der einzelnen Zytokine unterschied sich im Gruppenvergleich nicht signifikant (Tabelle 8).

	Gesamtkollektiv n = 60		ECS n = 35		SVD n = 25		p
IL-1 α	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
IL-8	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
IL-10	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
sIL-2R α	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
IFN- α 2	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
GMCSF	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
IP-10	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
TNF- α	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
TGF- β 1	100,0%	60	100,0%	35	100,0%	25	1,0
IL-1r α	98,3%	59	97,1%	34	100,0%	25	1,0
IL-12p40	78,3%	47	85,7%	30	68,0%	17	0,12
IL-6	71,7%	43	77,1%	27	64,0%	16	0,38
IL-17	63,3%	38	54,3%	19	76,0%	19	0,11
IL-4	36,7%	22	40,0%	14	32,0%	8	0,59
IFN- γ	21,7%	13	17,1%	6	28,0%	7	0,36
IL-2	18,3%	11	20,0%	7	16,0%	4	0,75
IL-12p70	8,3%	5	8,6%	3	8,0%	2	1,0
IL-1 β	5,0%	3	2,9%	1	8,0%	2	0,56
IL-5	1,7%	1	0,0%	0	4,0%	1	0,42
TNF- β	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	-

Tabelle 8: Nachweishäufigkeit der Zytokine, Gesamtkollektiv und getrennt nach Gruppen

4.12.4 Einfluss maternaler Variablen auf die Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut

Alter der Mutter

Tabelle 9 zeigt die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman zwischen dem Alter der Mutter und der jeweiligen Zytokinkonzentration. Aufgrund der multiplen Paarvergleiche ist das statistische Signifikanzniveau der Korrelationsanalyse nach Bonferroni auf $\alpha=0,05/13=0,0038$ korrigiert. Für die untersuchten Variablen bestehen keine signifikanten Korrelationen.

Zytokin	Alter der Mutter	
IL-1 α	Korrelationskoeffizient	,109
	Sig. (2-seitig)	,407
	N	60
IL-1ra	Korrelationskoeffizient	-,069
	Sig. (2-seitig)	,602
	N	60
sIL-2R α	Korrelationskoeffizient	-,188
	Sig. (2-seitig)	,151
	N	60
IL-6	Korrelationskoeffizient	,120
	Sig. (2-seitig)	,362
	N	60
IL-8	Korrelationskoeffizient	-,154
	Sig. (2-seitig)	,241
	N	60
IL-10	Korrelationskoeffizient	-,060
	Sig. (2-seitig)	,651
	N	60
IL-12p40	Korrelationskoeffizient	,061
	Sig. (2-seitig)	,646
	N	60
IL-17	Korrelationskoeffizient	-,053
	Sig. (2-seitig)	,689
	N	60
IFN- α 2	Korrelationskoeffizient	,107
	Sig. (2-seitig)	,429
	N	57
IP-10	Korrelationskoeffizient	,055
	Sig. (2-seitig)	,679
	N	60
GM-CSF	Korrelationskoeffizient	-,014
	Sig. (2-seitig)	,917
	N	59
TNF- α	Korrelationskoeffizient	,025
	Sig. (2-seitig)	,852
	N	60
TGF- β 1	Korrelationskoeffizient	-,090
	Sig. (2-seitig)	,504
	N	58

Tabelle 9: Korrelation des mütterlichen Alters mit der jeweiligen Zytokinkonzentration

Primipara

Tabelle 10 zeigt die deskriptive Statistik zum Einfluss der Primipara auf die jeweilige Zytokinkonzentration (Signifikanzgrenze nach Bonferroni korrigiert $\alpha=0,05/13=0,0038$). Der Primipara-Status zeigt keinen Einfluss auf die Zytokinspiegel.

Zytokin	Primipara	N	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	Standardfehler des Mittelwertes [pg/ml]	p
IL-1 α	nein	36	367,9108	218,56362	36,42727	0,85
	ja	24	431,9513	365,64066	74,63609	
IL-1ra	nein	36	100,921	76,125	12,6875	0,224
	ja	24	122,025	77,936	15,9086	
sIL-2R α	nein	36	613,9942	266,24732	44,37455	0,839
	ja	24	594,3325	261,75742	53,43101	
IL-6	nein	36	14,774	29,6036	4,9339	0,437
	ja	24	67,064	251,0078	51,2367	
IL-8	nein	36	24,419	23,5372	3,9229	0,898
	ja	24	19,885	7,1917	1,468	
IL-10	nein	36	33,2714	11,35089	1,89181	0,576
	ja	24	35,9517	16,3937	3,34635	
IL-12p40	nein	36	101,591	94,6168	15,7695	0,808
	ja	24	101,029	91,572	18,6921	
IL-17	nein	36	10,214	10,9146	1,8191	0,258
	ja	24	12,248	11,2194	2,2901	
IFN- α 2	nein	34	139,6476	64,15595	11,00265	0,221
	ja	23	129,2735	82,17982	17,13568	
IP-10	nein	36	726,276	374,8361	62,4727	0,667
	ja	24	771,126	595,1741	121,4894	
GM-CSF	nein	35	139,12	81,773	13,822	0,654
	ja	24	157,46	127,174	25,959	
TNF- α	nein	36	31,207	5,5533	0,9255	0,054
	ja	24	28,718	6,3224	1,2906	
TGF- β 1	nein	36	6250,0417	7192,94767	1198,82461	0,904
	ja	22	5736,3136	5930,91063	1264,47439	

Tabelle 10: Korrelation der Primipara mit den jeweiligen Zytokinkonzentrationen, deskriptive Statistik und Signifikanzwerte

Anästhesie

Tabelle 11 zeigt die deskriptive Statistik sowie den mittels Mann-Whitney-U-Test geprüften Zusammenhang zwischen der angewendeten Geburtsanästhesie und der jeweiligen Zytokinkonzentration ($\alpha=0,05/13=0,0038$ nach Bonferroni-Korrektur). Es bestehen keine signifikanten Zusammenhänge.

Zytokin	Anästhesie	N	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	Standardfehler des Mittelwertes [pg/ml]	p
IL-1 α	ohne	9	289,2267	211,16837	70,38946	0,07
	PDA / SPA	51	411,9329	294,41565	41,22644	
IL-1ra	ohne	9	109,337	86,1732	28,7244	0,95
	PDA / SPA	51	109,367	76,0967	10,6557	
sIL-2R α	ohne	9	469,5778	175,87926	58,62642	0,113
	PDA / SPA	51	630,2269	268,98414	37,66531	
IL-6	ohne	9	6,294	3,8077	1,2692	0,089
	PDA / SPA	51	40,877	173,7754	24,3334	
IL-8	ohne	9	16,872	4,4442	1,4814	0,185
	PDA / SPA	51	23,617	20,184	2,8263	
IL-10	ohne	9	31,0778	11,00312	3,66771	0,431
	PDA / SPA	51	34,9198	13,93757	1,95165	
IL-12p40	ohne	9	112,799	113,7208	37,9069	0,967
	PDA / SPA	51	99,349	89,5945	12,5457	
IL-17	ohne	9	12,652	15,4021	5,134	0,949
	PDA / SPA	51	10,74	10,1965	1,4278	
IFN- α 2	ohne	8	108,495	50,9627	18,01803	0,188
	PDA / SPA	49	139,8643	73,73005	10,53286	
IP-10	ohne	9	567,222	361,6302	120,5434	0,09
	PDA / SPA	51	775,45	484,0656	67,7827	
GM-CSF	ohne	8	120,07	83,492	29,519	0,445
	PDA / SPA	51	150,74	104,768	14,67	
TNF- α	ohne	9	27,81	7,3262	2,4421	0,12
	PDA / SPA	51	30,635	5,6524	0,7915	
TGF- β 1	ohne	9	7447,8667	5157,84148	1719,28049	0,162
	PDA / SPA	49	5799,3796	6951,69619	993,09946	

Tabelle 11: Korrelation der Geburtsanästhesie mit den jeweiligen Zytokinkonzentrationen, deskriptive Statistik

4.12.5 Einfluss neonataler Variablen auf die Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut

Geschlecht

Tabelle 12 zeigt die deskriptive Statistik und den Einfluss des kindlichen Geschlechts auf die jeweilige Zytokinkonzentration ($\alpha=0,05/13=0,0038$ nach Bonferroni-Korrektur). Es kann kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht des Kindes und dem gemessenen Zytokinspiegel im Nabelschnurblut nachgewiesen werden.

Gestationsalter, Geburtsgewicht, 5-Minuten-APGAR, Nabelschnur-pH-Wert

Tabelle 13 zeigt die Rangkorrelationsanalysen nach Spearman zwischen der Zytokinkonzentration und dem Gestationsalter, dem Geburtsgewicht, dem 5-Minuten-APGAR sowie dem Nabelschnurarterien-pH-Wert. Die Korrelation ist nach Bonferroni-Korrektur signifikant bei $\alpha=0,05/13=0,0038$). Für keine der untersuchten kindlichen Variablen zeigt sich eine signifikante Korrelation mit der Zytokinkonzentration.

Zytokin	Geschlecht	N	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	Standardfehler des Mittelwertes [pg/ml]	p
IL-1 α	männlich	34	356,0541	174,78052	29,97461	0,754
	weiblich	26	442,53	384,06673	75,32168	
IL-1ra	männlich	34	95,891	78,7602	13,5073	0,049
	weiblich	26	126,979	72,1105	14,142	
sIL-2R α	männlich	34	617,8126	288,78399	49,52604	0,783
	weiblich	26	590,8515	228,01226	44,71688	
IL-6	männlich	34	52,381	212,4808	36,4402	0,868
	weiblich	26	13,863	17,22	3,3771	
IL-8	männlich	34	25,584	23,923	4,1028	0,132
	weiblich	26	18,71	7,1921	1,4105	
IL-10	männlich	34	32,5656	11,83159	2,0291	0,162
	weiblich	26	36,6685	15,39701	3,0196	
IL-12p40	männlich	34	94,285	79,9824	13,7169	0,675
	weiblich	26	110,627	107,9186	21,1646	
IL-17	männlich	34	9,427	10,408	1,785	0,116
	weiblich	26	13,12	11,5731	2,2697	
IFN- α 2	männlich	32	127,2909	69,7733	12,33429	0,148
	weiblich	25	145,92	73,62435	14,72487	
IP-10	männlich	34	681,448	296,8422	50,908	0,671
	weiblich	26	826,297	628,5525	123,2693	
GM-CSF	männlich	33	129,55	57,071	9,935	0,526
	weiblich	26	168,2	138,299	27,123	
TNF- α	männlich	34	29,651	5,981	1,0257	0,596
	weiblich	26	30,943	5,9427	1,1655	
TGF- β 1	männlich	33	6026,6364	6636,51498	1155,26897	0,826
	weiblich	25	6092,856	6903,17542	1380,63508	

Tabelle 12: Korrelation des kindlichen Geschlechts mit den jeweiligen Zytokinkonzentrationen, deskriptive Statistik

Zytokin		Gestationsalter	Geburtsgewicht	Nabelschnur-pH-Wert	5-Minuten-APGAR
IL-1 α	Korrelationskoeffizient	-,185	,041	-,187	,162
	Sig. (2-seitig)	,158	,758	,152	,215
	N	60	60	60	60
IL-1ra	Korrelationskoeffizient	-,045	-,246	-,075	-,094
	Sig. (2-seitig)	,735	,058	,569	,477
	N	60	60	60	60
sIL-2R α	Korrelationskoeffizient	-,234	-,009	,189	,221
	Sig. (2-seitig)	,071	,943	,148	,089
	N	60	60	60	60
IL-6	Korrelationskoeffizient	-,009	-,045	-,334	,066
	Sig. (2-seitig)	,944	,735	,009	,618
	N	60	60	60	60
IL-8	Korrelationskoeffizient	,044	,139	-,014	-,205
	Sig. (2-seitig)	,740	,291	,914	,116
	N	60	60	60	60
IL-10	Korrelationskoeffizient	-,071	,026	-,152	,135
	Sig. (2-seitig)	,592	,842	,246	,302
	N	60	60	60	60
IL-12p40	Korrelationskoeffizient	-,277	-,246	-,019	-,019
	Sig. (2-seitig)	,032	,058	,883	,885
	N	60	60	60	60
IL-17	Korrelationskoeffizient	-,048	-,167	-,079	-,099
	Sig. (2-seitig)	,714	,203	,547	,451
	N	60	60	60	60
IFN- α 2	Korrelationskoeffizient	-,244	,079	,189	-,073
	Sig. (2-seitig)	,067	,558	,159	,591
	N	57	57	57	57
IP-10	Korrelationskoeffizient	-,214	,092	-,175	,190
	Sig. (2-seitig)	,101	,485	,181	,145
	N	60	60	60	60
GM-CSF	Korrelationskoeffizient	-,125	-,001	-,108	,184
	Sig. (2-seitig)	,346	,992	,416	,164
	N	59	59	59	59
TNF- α	Korrelationskoeffizient	-,311	-,076	-,130	,058
	Sig. (2-seitig)	,016	,562	,322	,659
	N	60	60	60	60
TGF- β 1	Korrelationskoeffizient	-,196	-,079	-,012	-,001
	Sig. (2-seitig)	,140	,556	,927	,993
	N	58	58	58	58

Tabelle 13: Korrelation von Gestationsalter, Geburtsgewicht, Nabelschnur-pH-Wert sowie 5-Minuten-APGAR mit der jeweiligen Zytokinkonzentration, univariate Korrelationsanalyse

4.12.6 Einfluss der Wehentätigkeit (Geburtsmodus) auf die Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut

Die gemessenen Zytokinkonzentrationen sind in Tabelle 14 nach Gruppen aufgeteilt dargestellt. Es sind sowohl die p-Werte der univariaten Analyse mittels Mann-Whitney-U-Test (signifikant bei $p < 0,0038$ nach Bonferroni-Korrektur) als auch die mittels Regressionsmodell errechneten p-Werte für jedes Zytokin angegeben. In der univariaten Analyse ist lediglich bei der TGF- β 1-Konzentration im Nabelschnurblut eine signifikante Korrelation mit dem Geburtsmodus zu erkennen. Die multivariate Regressionsanalyse bestätigt die Wehentätigkeit bei der unkomplizierten Schwangerschaft und Geburt als unabhängigen Einflussfaktor auf die TGF- β 1-Konzentration im Nabelschnurblut. Alle anderen untersuchten Zytokine zeigen keine Abhängigkeit von klinisch relevanten perinatalen Parametern.

	SVD (n=25)		ECS (n=35)		P ^a	P ^b
	Mittelwert [pg/ml]	95% CI [pg/ml]	Mittelwert [pg/ml]	95% CI [pg/ml]		
IL-1α	410	229-592	395	318-472	0,1	0,4
IL-6	23,9	4,1-43,8	45,9	27,8-119	0,81	0,72
IL-8	26,2	11,9-40,5	21,3	18,1-24,5	0,7	0,23
IL-10	37,2	29,2-45,1	33,4	29,7-37,9	0,94	0,89
IL-12p40	85,5	41,8-129	115	81,9-148	0,09	0,34
IL-17	14,8	9,2-20,5	10,1	6,3-13,7	0,13	0,29
IL-1RA	139	103-175	100	73-127	0,07	0,22
sIL-2Rα	535	404-667	673	588-758	0,17	0,06
IFN-α2	130	89-171	139	118-161	0,43	0,37
GM-CSF	163	99-227	139	111-168	0,91	0,84
IP-10	771	471-1068	744	615-873	0,22	0,64
TNF-α	28,6	25,9-31,3	31,6	29,6-33,7	0,07	0,06
TGF-β1	8580	5554-11606	4864	2471-7257	<0,0012*	<0,001*

^a Ergebnisse durch Mann-Whitney-U-Test

^b Ergebnisse durch lineares Regressionsmodell, log-transformierte Zytokinkonzentrationen als abhängige Variable mit Anpassung für mütterliches Alter, Geburtsmodus, Anästhesie zur Geburt, Gestationsalter, Geburtsgewicht, Geschlecht des Kindes, Nabelschnur-pH-Wert und 5-Minuten-APGAR

*signifikant bei $p < 0,0038$ nach Bonferroni-Korrektur ($\alpha = 0,05/13 = 0,0038$)

Tabelle 14: Gemessene Zytokinkonzentrationen, nach Gruppen

5. Diskussion

In dieser Studie wurden Zytokinprofile im Nabelschnurblut von gesunden, reifen Neugeborenen nach elektiver Sectio caesarea bzw. Spontangeburt verglichen.

Unsere Ergebnisse unterstützen die Auffassung, dass das fetale Zytokinprofil durch Wehentätigkeit bei der unkomplizierten Spontangeburt am Termin nicht beeinflusst wird - eine Ausnahme stellt hier TGF- β 1 dar.

Wehentätigkeit zur termingerechten Spontangeburt wurde vielfach mit einer inflammatorischen Aktivität und veränderten lokalen und systemischen Zytokinkonzentrationen assoziiert, Untersuchungen zu Zytokinprofilen im Nabelschnurblut kommen allerdings zu keinem eindeutigen Ergebnis. Im Gegensatz zu den meisten bisherigen Veröffentlichungen konnten wir keine signifikanten Veränderungen der Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut nach Spontangeburt im Vergleich zur Sectio caesarea feststellen. Andere Arbeitsgruppen bestimmten per ELISA verschiedene Zytokine nach ebenfalls unkomplizierten Schwangerschaften und konnten nachweisen, dass Wehentätigkeit und die termingerechte Spontangeburt hauptsächlich zu einer Aktivierung proinflammatorischer Zytokine (IL-1 β , IL-6, TNF- α und IFN- γ) führt [31, 36, 42].

Ähnliche Ergebnisse hinsichtlich erhöhter IL-6-Konzentrationen im Nabelschnurblut zeigten auch Marchini et al.; IL-1 β war allerdings in dieser Veröffentlichung nicht signifikant erhöht [32].

Unsere Ergebnisse sind eher vergleichbar mit den von Buonocore et al. berichteten Werten, hier wurden lediglich erhöhte IL-6-Konzentrationen im fetalen Blut gefunden, IL-1 β , TNF- α , IFN- γ und GM-CSF waren nicht wesentlich erhöht. Im mütterlichen Blut wurden allerdings erhöhte Konzentrationen von IL-1 β , IL-6 und IFN- γ gemessen [9].

Cicarelli und Mitarbeiter verglichen proinflammatorische Zytokine im mütterlichen und im fetalen Blut bezogen auf den Geburtsmodus; hier zeigten sich in keiner Konstellation Unterschiede in den Konzentrationen von IL-1 β , IL-8 und TNF- α [13].

Die Methode der Zytokinbestimmung könnte potentiell zu diesen differierenden Ergebnissen führen. In der vorliegenden Studie wurde die Luminex-xMAP-Technologie mit vorgefertigten Bead-Mixes genutzt, die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 3,2 pg/ml. Folglich konnten keine signifikanten Unterschiede in Konzentrationen unterhalb dieses Bereichs festgestellt werden. Die biologische Relevanz zirkulierender Zytokine in solch niedriger Konzentration ist allerdings unklar.

Die Mechanismen, die die Geburt und den Beginn der Wehen regulieren, sind sehr komplex. Die Abläufe der Wehentätigkeit beinhalten hochgradig voneinander abhängige physiologische Prozesse, die hauptsächlich durch Hormone und Zytokine, vor allem Prostaglandine und proinflammatorische Zytokine, vermittelt werden [39].

Es wird im Hinblick auf aktuelle Forschungsergebnisse immer wahrscheinlicher, dass inflammatorische Immunreaktionen eine zentrale Rolle im Mechanismus der Geburt und bei den kaskadierenden Abläufen der termingerechten Spontangeburt spielen.

Ablaufende inflammatorische Kaskaden und immunologische Veränderungen während der Spontangeburt wurden in der Zervix, im Myometrium, den chorioamniotischen Membranen und im Fruchtwasser erforscht; hier zeigte sich eine massive Zunahme von immunmodulatorischen Zellen in diesen Geweben, einhergehend mit einem deutlichen Anstieg der lokalen Synthese von Zyto- und Chemokinen [37].

Es ist allgemein anerkannt, dass Makrophagen der fetalen Membranen und der Plazenta sowie Lymphozyten und Deciduazellen die Hauptquelle der inflammatorischen Zytokine während der Geburt sind [5, 35, 46, 59, 63].

Die zentrale Rolle der lokalen inflammatorischen Reaktion im Myometrium und den chorioamniotischen Membranen während der Wehentätigkeit wurde auch durch Genexpressionsanalyse gezeigt. Tattersall et al. verglichen die Expression von Zytokin-mRNA in Myometriumproben von mehreren Lokalisationen vor und nach Beginn der termingerechten Wehentätigkeit. Hier zeigte sich in Proben aus den unteren Uterussegmenten eine vermehrte Genexpression für IL-1 β , IL-6 und IL-8 während der Geburt, allerdings nicht für TNF- α [58].

Haddad et al. analysierten Genexpressionsprofile in chorioamniotischen Membranen und im mütterlichen Blut von Frauen während der termingerechten Wehentätigkeit sowie ohne Wehentätigkeit. Sie konnten am Ende der Geburt eine akute Inflammation auf Basis der Genexpression in den chorioamniotischen Membranen nachweisen; histologisch zeigte sich allerdings kein Hinweis auf eine inflammatorische Reaktion. Diese Veränderungen wurden im mütterlichen Blut nicht nachgewiesen, was den Schluss nahelegt, dass es sich um eine streng lokalisierte Veränderung handelt [18].

Frühere Studien zeigten, dass der Geburtsmodus und vorhandene Wehentätigkeit die Zytokinkonzentrationen in mütterlichen und fetalen Kompartimenten separat beeinflussen [55]. Pacora et al. bestimmten die Konzentration von IL-18 simultan bei Mutter und Kind in Abhängigkeit von termingerechter Wehentätigkeit. Während die IL-18 Konzentration bei Wehentätigkeit im Fruchtwasser erhöht war, zeigten sich die Zytokinkonzentrationen im mütterlichen Blut sowie im Nabelschnurblut unverändert [38].

Neuere Ergebnisse von Gyarmati und Mitarbeiter bestätigen dieses Kompartimentmodell; es wurden die perinatalen Konzentrationen von insgesamt 17 Zytokinen und Wachstumsfaktoren im mütterlichen Serum per multiplexer Beadanalyse (Luminex-xMAP) bestimmt [17].

Vergleichbar mit unseren Ergebnissen sowie denen von Cicarelli et al. zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Zytokinprofilen in Abhängigkeit vom Geburtsmodus und vorhandener Wehentätigkeit [13].

Es gibt nur wenige Untersuchungen zur Plazentagängigkeit von Zytokinen. Frühere Untersuchungen zeigten, dass intakte fetale Membranen sowie die Plazenta zum Zeitpunkt der termingerechten Geburt einen Transfer von Zytokinen verhindern [26].

Nachdem Zytokine während der Wehentätigkeit -wie gezeigt- topisch ausgeschüttet werden, spiegeln die systemisch (mütterlich oder fetal) gemessenen Konzentrationen nicht zwingend das lokale Zytokinmilieu der Plazenta wieder.

In experimentellen Modellen zur Plazentagängigkeit konnte bisher keine Passage von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α , IL-1 α [64], IL-8 [43], IL-1 β , IL-6 [1], IL-4 und IL-13 [29] gezeigt werden; dies impliziert, dass die im Nabelschnurblut und im

Fruchtwasser nachgewiesene inflammatorische Reaktion fetalen Ursprungs sein könnte. Dem entgegen wurde in Tierversuchen gezeigt, dass TGF- β 1 sehr wohl plazentagängig ist [28, 33].

In der vorliegenden Studie war Wehentätigkeit lediglich mit einem Anstieg der Konzentration von TGF- β 1 im Nabelschnurblut verknüpft.

Transformierender Wachstumsfaktor β 1 ist ein multifunktionaler Wachstumsfaktor und wird im Rahmen der Schwangerschaft in verschiedenen Geweben (Plazenta, Zervix, Myometrium) und in fetalen Membranen exprimiert [11, 25].

TGF- β 1 ist in die frühen Abläufe der Implantation sowie die Plazentaentwicklung involviert [23]. Die Rolle von TGF- β 1 in den Abläufen der termingerechten Wehentätigkeit und Geburt sind dennoch unklar.

Immunohistochemische Untersuchungen zeigten, dass TGF- β 1 im Myometrium von Schwangeren ohne Wehentätigkeit im Vergleich zu Proben von Nichtschwangeren vermehrt vorliegt, im Rahmen der termingerechten Wehentätigkeit steigt die Konzentration weiter an. Dies suggeriert eine zentrale Rolle von TGF- β 1 bei der Regulation der Erregbarkeit und Kontraktilität des Uterus zum Geburtstermin [11, 19].

Weiter ist die Konzentration von TGF- β 1 im mütterlichen Plasma im Vergleich zu einer Kontrollgruppe während der Schwangerschaft erhöht; die höchsten Konzentrationen liegen in der weit fortgeschrittenen Schwangerschaft vor [40].

Es wurde ebenfalls gezeigt, dass TGF- β 1 die Prostaglandinproduktion durch intakte fetale Membranen anregt. Prostaglandine sind in die Induktion und Aufrechterhaltung von Wehen involviert [8].

Hydrokortison, Progesteron und Oxytocin, die als Regulatoren der Wehentätigkeit und Geburtsabläufe wichtig sind, modulieren ebenfalls die mRNA-Expression und Ausschüttung von TGF- β 1 durch fetale Membranen [65].

Entsprechend unserer Ergebnisse wurde in [3] gezeigt, dass die TGF- β 1 Konzentration im Nabelschnurblut reifer Neugeborener vom Geburtsmodus abhängig ist, mit signifikant

höheren Werten nach Spontangeburt. Zu einem vergleichbaren Ergebnis kommen auch Briana et al. [7].

In Zusammenschau dieser Ergebnisse scheint TGF- β 1 sowohl für die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft als auch für die Entwicklung des Myometriums während der Schwangerschaft und für die Induktion der Wehentätigkeit am Geburtstermin wichtig zu sein.

Die in unserer Studie erhobenen Daten sind aus mehreren Gründen als hochwertig zu betrachten: Die Daten spiegeln eine sehr gut charakterisierte Studienpopulation wieder, ebenfalls wurden mütterliche klinische Daten erfasst. Weiter fand eine differenzierte Betrachtung der potentiellen Studienteilnehmer mit einer Abklärung von anderen Gründen einer inflammatorischen Aktivität (komplizierte Schwangerschaft oder Geburt, perinatale Infektion, Chorioamnionitis, Asphyxie oder relevante mütterliche Medikation) und entsprechender Anwendung der Ausschlusskriterien statt. Ebenfalls wurden die Handhabung der Proben, die Vorbereitung und die Messung der Zytokine höchst akkurat und konsistent durchgeführt, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch unseren Prozess zu minimieren.

Die Probenentnahme wurde zur Vermeidung einer Verfälschung der gemessenen Werte direkt nach der Geburt vorgenommen, da frühere Studien einen Anstieg von IL-6 und anderen Akute-Phase-Proteinen bei spontangeborenen, gesunden Kindern innerhalb von 24-48 Stunden zeigten [32].

Keine der Serumproben wurde vor der Analyse anderweitig verwendet oder bearbeitet; durch die Messung im Single-Plate-Modus wurde eine Verfälschung durch Verwendung verschiedener Luminex-Assays verhindert.

Nach Durchführung einer Testreihe mit Blutproben erwachsener Freiwilliger wurde die Zeit bis zur Verarbeitung einer Probe auf maximal 4 Stunden festgelegt, um eine Verfälschung der Messung durch eventuell weiter ablaufende Stoffwechselforgänge oder chemische Reaktionen zu vermeiden. Ebenfalls wurde die optimale Lagerungsstrategie (Temperatur, Zeit bis zur Einlagerung) durch im Vorfeld durchgeführte Analysen festgelegt. Flower et al. untersuchten verschiedene Zytokine

nach unterschiedlich langen Lagerungszeiten bei 4°C; unser Vorgehen entspricht dem in dieser Studie vorgeschlagenen [14].

Viele Studien untersuchen Zytokinkonzentrationen im Nabelschnurblut in Abhängigkeit vom Geburtsmodus und Wehentätigkeit; die meisten beschränken sich aber auf einige festgelegte proinflammatorische Zytokine. Wie gezeigt ist eine Fülle von verschiedenen Zyto- und Chemokinen am Prozess der Geburt und Wehenauslösung beteiligt. Unsere Studie nutzt eine multiplexe beadbasierte Analyse um simultan die Konzentration von 20 Substanzen zu bestimmen und zeigt damit ein deutlicheres Bild der im Nabelschnurblut von reifen Neugeborenen zirkulierenden Zytokine in Abhängigkeit von Wehentätigkeit.

Unsere Studie definiert damit orientierende Normalwerte für diese Zytokine und kann weitere, vergleichende Studien vereinfachen.

Die Hauptlimitation unserer Studie ist sicher der fehlende Vergleich der Werte durch eine Messung von Zytokinen im mütterlichen Serum sowie im Fruchtwasser. Dies könnte die Regulation der feto-maternalen Zytokinexpression und die Kompartimentalisierung während des Prozesses der termingerechten Wehentätigkeit und Geburt besser beschreiben. Eine weitere Untersuchung in dieser Hinsicht sollte neben der Betrachtung eines größeren Kollektivs auch eine Bestimmung der Zytokinprofile im maternalen Blut und Gewebe sowie im Fruchtwasser umfassen.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass in der vorliegenden Studie lediglich bei einem von 20 gemessenen Zytokinen ein signifikanter Unterschied zwischen den nach Geburtsmodus aufgeteilten Gruppen nachweisbar war. Es muss in weiteren Studien untersucht werden, wie sich die Konzentrationen der Zytokine im maternalen Kompartiment verhalten. Des Weiteren muss die Rolle von TGF- β 1 bei der termingerechten Einleitung der Wehentätigkeit und der Geburt weiter analysiert werden.

6. Literatur

1. Aaltonen, R., Heikkinen, T., Hakala, K., Laine, K., Alanen, A., *Transfer of proinflammatory cytokines across term placenta*. *Obstet Gynecol*, 2005. 106(4): p. 802-7.
2. Balkwill, F. R. , Burke, F., *The cytokine network*. *Immunol Today*, 1989. 10(9): p. 299-304.
3. Balossini, V., Monzani, A., Rapa, A., Vivenza, D., Caristo, E., Oderda, G., *Interleukin-10 and transforming growth factor-beta1 in cord blood: relationship with paternal allergy and cesarean section*. *Acta Paediatr*, 2009. 98(5): p. 812-6.
4. Berger R., Garnier Y., *Die Frühgeburt: Pathogenese, Risikoselektion und präventive Maßnahmen*. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, 1999. 59: p. 45-56.
5. Bowen, J. M., Chamley, L., Keelan, J. A., Mitchell, M. D., *Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition*. *Placenta*, 2002. 23(4): p. 257-73.
6. Breckwold, et al., *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 5. überarbeitete Auflage ed2008: Georg Thieme Verlag.
7. Briana, D. D., Liosi, S., Gourgiotis, D., Boutsikou, M., Marmarinos, A., Baka, S., Hassiakos, D., Malamitsi-Puchner, A., *Fetal concentrations of the growth factors TGF-alpha and TGF-beta1 in relation to normal and restricted fetal growth at term*. *Cytokine*, 2012. 60(1): p. 157-61.
8. Brown, N. L., Alvi, S. A., Elder, M. G., Bennett, P. R., Sullivan, M. H., *The regulation of prostaglandin output from term intact fetal membranes by anti-inflammatory cytokines*. *Immunology*, 2000. 99(1): p. 124-33.
9. Buonocore, G., De Filippo, M., Gioia, D., Picciolini, E., Luzzi, E., Bocci, V., Bracci, R., *Maternal and neonatal plasma cytokine levels in relation to mode of delivery*. *Biol Neonate*, 1995. 68(2): p. 104-10.

10. Casey, M. L., Cox, S. M., Beutler, B., Milewich, L., MacDonald, P. C., *Cachectin/tumor necrosis factor-alpha formation in human decidua. Potential role of cytokines in infection-induced preterm labor.* J Clin Invest, 1989. 83(2): p. 430-6.
11. Chegini, N., Ma, C., Davis, J., Duff, P., Rosa, C., *Differential expression of transforming growth factor-beta 1 and transforming growth factor-beta receptors in myometrium of women with failed induction of labor, no labor, and preterm labor.* J Soc Gynecol Investig, 1999. 6(5): p. 258-63.
12. Chwalisz, K., Benson, M., Scholz, P., Daum, J., Beier, H. M., Hegele-Hartung, C., *Cervical ripening with the cytokines interleukin 8, interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha in guinea-pigs.* Hum Reprod, 1994. 9(11): p. 2173-81.
13. Cicarelli, L. M., Perroni, A. G., Zugaib, M., de Albuquerque, P. B., Campa, A., *Maternal and cord blood levels of serum amyloid A, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interleukin-8 during and after delivery.* Mediators Inflamm, 2005. 2005(2): p. 96-100.
14. Flower, L., Ahuja, R. H., Humphries, S. E., Mohamed-Ali, V., *Effects of sample handling on the stability of interleukin 6, tumour necrosis factor-alpha and leptin.* Cytokine, 2000. 12(11): p. 1712-6.
15. Geiser, T., *Inflammatorische Zytokine und Chemokine bei akuter, entzündlicher Lungenerkrankung.* Schweizerische medizinische Wochenschrift, 1999. 129(14): p. 540-546.
16. Goldenberg, R. L., Rouse, D. J., *Prevention of premature birth.* N Engl J Med, 1998. 339(5): p. 313-20.
17. Gyarmati, B., Beko, G., Szalay, B., Cseh, A., Vasarhelyi, B., Treszl, A., *Maternal cytokine balance on the third postpartum day is not affected by the mode of delivery after healthy pregnancies.* J Int Med Res, 2010. 38(1): p. 208-13.
18. Haddad, R., Tromp, G., Kuivaniemi, H., Chaiworapongsa, T., Kim, Y. M., Mazor, M., Romero, R., *Human spontaneous labor without histologic chorioamnionitis is characterized by an acute inflammation gene expression signature.* Am J Obstet Gynecol, 2006. 195(2): p. 394 e1-24.

19. Hatthachote, P., Morgan, J., Dunlop, W., Europe-Finner, G. N., Gillespie, J. I., *Gestational changes in the levels of transforming growth factor-beta1 (TGFbeta1) and TGFbeta receptor types I and II in the human myometrium.* J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(8): p. 2987-92.
20. Hirsch, E., Filipovich, Y., Mahendroo, M., *Signaling via the type I IL-1 and TNF receptors is necessary for bacterially induced preterm labor in a murine model.* Am J Obstet Gynecol, 2006. 194(5): p. 1334-40.
21. Husslein P, Egarter C, *Geburtseinleitung.* Geburtshilfe, ed. Schneider H, Husslein P, Schneider KTM2000, Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
22. Janeway CA, Travers P, *Die angeborene Immunität.* Immunologie 2002, Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag. 37-96.
23. Jones, R. L., Stoikos, C., Findlay, J. K., Salamonsen, L. A., *TGF-beta superfamily expression and actions in the endometrium and placenta.* Reproduction, 2006. 132(2): p. 217-32.
24. Kajikawa, S., Kaga, N., Futamura, Y., Kakinuma, C., Shibutani, Y., *Lipoteichoic acid induces preterm delivery in mice.* J Pharmacol Toxicol Methods, 1998. 39(3): p. 147-54.
25. Kauma, S., Matt, D., Strom, S., Eierman, D., Turner, T., *Interleukin-1 beta, human leukocyte antigen HLA-DR alpha, and transforming growth factor-beta expression in endometrium, placenta, and placental membranes.* Am J Obstet Gynecol, 1990. 163(5 Pt 1): p. 1430-7.
26. Kent, A. S., Sullivan, M. H., Elder, M. G., *Transfer of cytokines through human fetal membranes.* J Reprod Fertil, 1994. 100(1): p. 81-4.
27. Lengyel E., Pildner von Steinburg, E.S., *Die Physiologie der Zervixreifung.* Gynäkologe, 2001. 34: p. 708-714.
28. Letterio, J. J., Geiser, A. G., Kulkarni, A. B., Roche, N. S., Sporn, M. B., Roberts, A. B., *Maternal rescue of transforming growth factor-beta 1 null mice.* Science, 1994. 264(5167): p. 1936-8.

29. Lim, R. H. , Kobzik, L., *Transplacental passage of interleukins 4 and 13?* PLoS One, 2009. 4(3): p. e4660.
30. Loppnow, *Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen.* Der Internist, 2001. 42: p. 13-27.
31. Malamitsi-Puchner, A., Protonotariou, E., Boutsikou, T., Makrakis, E., Sarandakou, A., Creatsas, G., *The influence of the mode of delivery on circulating cytokine concentrations in the perinatal period.* Early Hum Dev, 2005. 81(4): p. 387-92.
32. Marchini, G., Berggren, V., Djilali-Merzoug, R., Hansson, L. O., *The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant.* Acta Paediatr, 2000. 89(9): p. 1082-6.
33. McLennan, I. S. , Koishi, K., *Fetal and maternal transforming growth factor-beta 1 may combine to maintain pregnancy in mice.* Biol Reprod, 2004. 70(6): p. 1614-8.
34. Multimetrix, *Multiplexe Analytik mit Bead-basierten Assays:* www.multimetrix.com.
35. Norman, J. E., Bollapragada, S., Yuan, M., Nelson, S. M., *Inflammatory pathways in the mechanism of parturition.* BMC Pregnancy Childbirth, 2007. 7 Suppl 1: p. S7.
36. Opsjln, S. L., Wathen, N. C., Tingulstad, S., Wiedswang, G., Sundan, A., Waage, A., Austgulen, R., *Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy.* Am J Obstet Gynecol, 1993. 169(2 Pt 1): p. 397-404.
37. Osman, I., Young, A., Ledingham, M. A., Thomson, A. J., Jordan, F., Greer, I. A., Norman, J. E., *Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term.* Mol Hum Reprod, 2003. 9(1): p. 41-5.
38. Pacora, P., Romero, R., Maymon, E., Gervasi, M. T., Gomez, R., Edwin, S. S., Yoon, B. H., *Participation of the novel cytokine interleukin 18 in the host response to intra-amniotic infection.* Am J Obstet Gynecol, 2000. 183(5): p. 1138-43.
39. Peltier, M. R., *Immunology of term and preterm labor.* Reprod Biol Endocrinol, 2003. 1: p. 122.

40. Power, L. L., Popplewell, E. J., Holloway, J. A., Diaper, N. D., Warner, J. O., Jones, C. A., *Immunoregulatory molecules during pregnancy and at birth*. J Reprod Immunol, 2002. 56(1-2): p. 19-28.
41. Pranay D. Khare, Meenakshi Khare, *Cytokines: Physiology and Clinical Relevance*.
42. Protonotariou, E., Chrelias, C., Kassanos, D., Kapsambeli, H., Trakakis, E., Sarandakou, A., *Immune response parameters during labor and early neonatal life*. In Vivo, 2010. 24(1): p. 117-23.
43. Reisenberger, K., Egarter, C., Vogl, S., Sternberger, B., Kiss, H., Husslein, P., *The transfer of interleukin-8 across the human placenta perfused in vitro*. Obstet Gynecol, 1996. 87(4): p. 613-6.
44. Romero, R., Brody, D. T., Oyarzun, E., Mazor, M., Wu, Y. K., Hobbins, J. C., Durum, S. K., *Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of parturition*. Am J Obstet Gynecol, 1989. 160(5 Pt 1): p. 1117-23.
45. Romero, R., Durum, S., Dinarello, C. A., Oyarzun, E., Hobbins, J. C., Mitchell, M. D., *Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis by human amnion*. Prostaglandins, 1989. 37(1): p. 13-22.
46. Romero, R., Espinoza, J., Goncalves, L. F., Kusanovic, J. P., Friel, L. A., Nien, J. K., *Inflammation in preterm and term labour and delivery*. Semin Fetal Neonatal Med, 2006. 11(5): p. 317-26.
47. Romero, R., Espinoza, J., Kusanovic, J. P., Gotsch, F., Hassan, S., Erez, O., Chaiworapongsa, T., Mazor, M., *The preterm parturition syndrome*. BJOG, 2006. 113 Suppl 3: p. 17-42.
48. Romero, R., Manogue, K. R., Mitchell, M. D., Wu, Y. K., Oyarzun, E., Hobbins, J. C., Cerami, A., *Infection and labor. IV. Cachectin-tumor necrosis factor in the amniotic fluid of women with intraamniotic infection and preterm labor*. Am J Obstet Gynecol, 1989. 161(2): p. 336-41.

49. Romero, R., Mazor, M., Manogue, K., Oyarzun, E., Cerami, A., *Human decidua: a source of cachectin-tumor necrosis factor*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1991. 41(2): p. 123-7.
50. Romero, R., Mazor, M., Tartakovsky, B., *Systemic administration of interleukin-1 induces preterm parturition in mice*. Am J Obstet Gynecol, 1991. 165(4 Pt 1): p. 969-71.
51. Romero, R., Mazor, M., Wu, Y. K., Sirtori, M., Oyarzun, E., Mitchell, M. D., Hobbins, J. C., *Infection in the pathogenesis of preterm labor*. Semin Perinatol, 1988. 12(4): p. 262-79.
52. Romero, R., Munoz, H., Gomez, R., Parra, M., Polanco, M., Valverde, V., Hasbun, J., Garrido, J., Ghezzi, F., Mazor, M., Tolosa, J. E., Mitchell, M. D., *Increase in prostaglandin bioavailability precedes the onset of human parturition*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 1996. 54(3): p. 187-91.
53. Romero, R., Wu, Y. K., Brody, D. T., Oyarzun, E., Duff, G. W., Durum, S. K., *Human decidua: a source of interleukin-1*. Obstet Gynecol, 1989. 73(1): p. 31-4.
54. Sadowsky, D. W., Novy, M. J., Witkin, S. S., Gravett, M. G., *Dexamethasone or interleukin-10 blocks interleukin-1beta-induced uterine contractions in pregnant rhesus monkeys*. Am J Obstet Gynecol, 2003. 188(1): p. 252-63.
55. Stallmach, T., Hebisch, G., Joller, H., Kolditz, P., Engelmann, M., *Expression pattern of cytokines in the different compartments of the fetomaternal unit under various conditions*. Reprod Fertil Dev, 1995. 7(6): p. 1573-80.
56. Stauber M., Weyerstahl T., *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 2. ed. MLP Duale Reihe 2005, Stuttgart: Thieme.
57. Steinborn, A., Kuhnert, M., Halberstadt, E., *Immunomodulating cytokines induce term and preterm parturition*. J Perinat Med, 1996. 24(4): p. 381-90.
58. Tattersall, M., Engineer, N., Khanjani, S., Sooranna, S. R., Roberts, V. H., Grigsby, P. L., Liang, Z., Myatt, L., Johnson, M. R., *Pro-labour myometrial gene expression: are preterm labour and term labour the same?* Reproduction, 2008. 135(4): p. 569-79.

59. Thomson, A. J., Telfer, J. F., Young, A., Campbell, S., Stewart, C. J., Cameron, I. T., Greer, I. A., Norman, J. E., *Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process*. Hum Reprod, 1999. 14(1): p. 229-36.
60. Vignali, D. A., *Multiplexed particle-based flow cytometric assays*. J Immunol Methods, 2000. 243(1-2): p. 243-55.
61. Voigt, M., Friese, K., Schneider, Kt M., *Kurzmitteilung zu den Perzentilenwerten für die Körpermaße Neugeborener*. Geburtshilfe Frauenheilkunde, 2002. 62: p. 274-276.
62. Winkler M., Rath W., *Zur Rolle von Zytokinen bei Weheninduktion, Zervixreifung und Blasensprung*. Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie, 1996. 200 Suppl 1: p. 1-12.
63. Young, A., Thomson, A. J., Ledingham, M., Jordan, F., Greer, I. A., Norman, J. E., *Immunolocalization of proinflammatory cytokines in myometrium, cervix, and fetal membranes during human parturition at term*. Biol Reprod, 2002. 66(2): p. 445-9.
64. Zaretsky, M. V., Alexander, J. M., Byrd, W., Bawdon, R. E., *Transfer of inflammatory cytokines across the placenta*. Obstet Gynecol, 2004. 103(3): p. 546-50.
65. Zicari, A., Ticconi, C., Realacci, M., Cela, O., Santangelo, C., Pietropolli, A., Russo, M. A., Piccione, E., *Hormonal regulation of cytokine release by human fetal membranes at term gestation: effects of oxytocin, hydrocortisone and progesterone on tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta 1 output*. J Reprod Immunol, 2002. 56(1-2): p. 123-36.

7. Publikationen

Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten wurden bisher auf internationalen Kongressen als Poster präsentiert sowie im Journal Of Perinatal Medicine, Official Journal Of The World Association Of Perinatal Medicine, publiziert.

Tutdibi, E. / Hunecke, A. / Monz, D. / Lindner, U. / Jacob, S. / Gortner, L.

Zytokinkonzentration im Nabelschnurblut reifer Neugeborener nach primärer Sectio im Vergleich zur Spontangeburt, 34. Jahrestagung der GNPI, 30.05.2008, Zürich, Schweiz

Tutdibi, E. / Hunecke, A. / Monz, D. / Jacob, S. / Schmidt, W. / Gortner, L.

Influence of Labor on Modulation of Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in Umbilical Cord Blood of Term Newborns, Pediatric Academic Societies Meeting, 02.-05.05.2009, Baltimore, Maryland, USA

Tutdibi, E. / Hunecke, A. / Monz, D. / Lindner, U. / Gortner, L.

Zytokinkonzentration im Nabelschnurblut reifer Neugeborener nach primärer Sectio im Vergleich zur Spontangeburt, 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin, 16.-19.09.2010, Potsdam

Tutdibi, E. / Hunecke, A. / Lindner, U. / Monz, D. / Gortner, L.

Levels of cytokines in umbilical cord blood in relation to spontaneous term labor, Journal Of Perinatal Medicine, Volume 40, Issue 5, Pages 527-532, ISSN 0300-5577, May 2012

8. Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater, Professor Dr. med. Ludwig Gortner, Direktor der Klinik für allgemeine Pädiatrie und Neonatologie des Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg, für die Überlassung des interessanten Themas.

Besonderer Dank gilt dem Betreuer meiner Arbeit, Dr. med. Erol Tutdibi, Funktionsoberarzt der Klinik für allgemeine Pädiatrie und Neonatologie des Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg, der diese Arbeit initiiert hat und der mich bei der Fertigstellung der Arbeit in jeder Hinsicht unterstützt hat.

Weiterhin danke ich Dr. rer. nat. Dominik Monz, Leiter des Forschungslabors der Klinik für allgemeine Pädiatrie und Neonatologie des Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg, für seine Mithilfe.

Ebenso gilt mein Dank allen Teilnehmern dieser Studie, den erstversorgenden Hebammen sowie den Mitarbeitern des Forschungslabors des Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg.

Besonderer Dank gilt auch meinen Eltern, die mir meine Ausbildung ermöglicht und mich immer unterstützt haben. Ebenso danke ich David Schmitt für seine unermüdliche Ermunterung zur Fertigstellung dieser Arbeit.

9. Lebenslauf

-zur elektronischen Veröffentlichung entfernt-