

**Zusammenhänge zwischen psychischen und immunologischen  
Veränderungen auf lokaler und systemischer Ebene während des  
Menstruationszyklus**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Bettina Veronika Scholz  
aus Langen

Gießen 2013

**Aus dem Institut für Medizinische Psychologie  
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**Leitung: Frau Prof. Dr. Renate Deinzer**

Gutachter: Frau Prof. Dr. R. Deinzer

Gutachter: Herr Prof. Dr. Dr. h.c. H.-R. Tinneberg

Tag der Disputation: 11.12.2013

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1. Der weibliche Zyklus .....	3
1.1.1. Östradiol.....	4
1.1.2. Progesteron und weitere Gestagene .....	5
1.2. Theorien zur Ätiologie des prämenstruellen Syndroms .....	5
1.3. Die Menstruation und die Rolle des Immunsystems.....	7
1.4. Zytokine.....	9
1.5. Zytokine, Stimmung und Verhalten .....	12
1.6. Zytokine, prämenstruelle Stimmung und prämenstruelles Verhalten .....	14
1.7. Zytokine und ihre Wirkung: lokal und systemisch .....	15
1.8. Fragestellung .....	16
1.8.1. Hauptfragestellung .....	17
1.8.2. Nebenfragestellung .....	17
2. Material und Methoden.....	18
2.1. Ethik und Einhaltung von Guidelines und publizierten Empfehlungen.....	18
2.2. Studienteilnehmer.....	18
2.2.1. Rekrutierung.....	18
2.2.2. Ein- und Ausschlusskriterien .....	19
2.3. Variablen .....	20
2.3.1. Psychische Befindlichkeit .....	20
2.3.2. Zytokinkonzentrationen in Serum und Zervixsekret .....	20
2.4. Kontrolle potentieller Störvariablen .....	24
2.4.1. Zirkadiane Rhythmik der Zytokinsekretion .....	24
2.4.2. Temporäre Einflüsse von Verhalten auf das Immunsystem .....	24
2.4.3. Einflüsse auf das lokale Zytokinmilieu.....	25
2.4.4. Allgemeiner körperlicher Gesundheitszustand .....	26
2.4.5. Einflüsse auf die psychische Befindlichkeit .....	27
2.4.6. Ovulationsprüfung und Zykluseinteilung .....	28
2.5. Untersuchungsablauf .....	28
2.5.1. Voruntersuchung .....	29
2.5.2. Messzeitpunkte.....	29
2.5.3. Verfahren bei Zyklusunregelmäßigkeiten.....	30

---

## Inhaltsverzeichnis

---

2.5.4. Ablauf eines Messzeitpunktes.....	31
2.5.5. Datenschutz.....	31
2.5.6. Maßnahmen zur Gewährleistung der Probandensicherheit.....	32
2.6. Statistische Auswertung .....	32
3. Ergebnisse.....	34
3.1. Test auf Normalverteilung.....	34
3.2. Gesamtstichprobe .....	34
3.3. Deskriptive Darstellungen Hormone.....	35
3.4. Veränderungen über den Zyklus .....	37
3.4.1. Psychische Veränderungen über den Zyklus .....	37
3.4.2. Veränderungen der systemischen Zytokine über den Zyklus .....	38
3.4.3. Veränderungen der lokalen, d. h. zervikalen Zytokine über den Zyklus ....	40
3.5. Hauptfragestellung: Zusammenhang von Stimmungsveränderungen und Veränderungen der lokalen Zytokinkonzentrationen .....	42
3.6. Nebenfragestellung: Zusammenhänge zwischen Entzündungs-mediatoren und psychischer Befindlichkeit zu jedem Messzeitpunkt .....	44
3.7. Nebenfragestellung: Zusammenhänge zwischen den lokalen und den systemischen Zytokinkonzentrationen .....	47
3.8. Exploratorische Datenanalysen - Zervikale Zytokinkonzentrationen in POMS- Subgruppen.....	47
4. Diskussion .....	56
4.1. Veränderungen über die Zeit .....	56
4.1.1. Psychische Befindlichkeit und Veränderungen über den Zyklus .....	56
4.1.2. Veränderungen der Zytokine über den Zyklus.....	57
4.1.3. Zusammenhang von psychischer Befindlichkeit und zervikalen Zytokinkonzentrationen .....	58
4.2. Limitationen der Studie .....	65
4.2.1. Fehlende Werte .....	65
4.2.2. Zyklusunregelmäßigkeiten und anovulatorische Zyklen .....	66
4.2.3. Fehlende Messung während der Menstruation .....	68
4.2.4. Uterin versus zervikal .....	68
4.2.5. Erfassung prämenstrueller Symptome .....	68
4.3. Gesamtdiskussion.....	69
5. Zusammenfassung .....	71

---

## Inhaltsverzeichnis

---

6. Summary.....	72
7. Abkürzungsverzeichnis.....	73
8. Abbildungsverzeichnis .....	75
9. Tabellenverzeichnis .....	77
10. Literaturverzeichnis .....	81
11. Anhang.....	95
12. Erklärung zur Dissertation.....	115
13. Danksagung .....	116

---

### 1. Einleitung

Obwohl bereits seit Jahrhunderten bekannt ist, dass Frauen in der prämenstruellen Phase ihres Zyklus unter einer Vielzahl von Beschwerden leiden, erfolgte die medizinische Anerkennung dieser Beschwerden als Krankheitsbild und die Erforschung möglicher Ursachen erst im zwanzigsten Jahrhundert (Frank, 1931; Greene, 1957).

Solche prämenstruellen Beschwerden äußern sich dabei sowohl auf psychischer als auch auf physischer Ebene und sind in ihrem zeitlichen Verlauf an den Menstruationszyklus gekoppelt. Ein Maximum der Symptome zeigt sich meist in den Tagen vor dem Einsetzen der Menstruationsblutung und sie klingen im Verlauf oder nach Ende der Blutung wieder vollständig ab, rezidivieren jedoch im nächsten Zyklus. Sie können zudem nicht durch eine andere somatische oder psychische Erkrankung oder durch Medikamenteneinnahme erklärt werden (Freeman, 2003; ACOG, 2000). Fast alle Frauen (90%) zeigen solche Symptome prämenstruell, der Krankheitswert ist aber von der Intensität der Beschwerden abhängig (Futterman et al., 2006; ACOG, 2000; Yonkers et al., 2008).

Je nach Ausprägung der Symptomatik unterscheidet man das „Prämenstruelle Syndrom“ (PMS), welches in der Internationalen Klassifikation der Krankheiten, 10. Revision (ICD 10), den Krankheiten des Urogenitalsystems zugehörig ist (N 94.3) oder die „Prämenstruelle Dysphorische Störung“ (PMDS), die in der vierten Ausgabe des Diagnostischen und Statistischen Handbuchs Psychischer Störungen (DSM-IV) unter den affektiven Störungen aufgelistet ist. Das PMS gilt dabei als die milde Symptomausprägung der PMDS, die eine Prävalenz von 5-8% aufweist (Deuster et al., 1999; Futterman et al., 2006+).

Die Zuordnung dieser Beschwerden zu den urogenitalen sowie den psychischen Erkrankungen zeigt, dass es sich bei prämenstruellen Symptomen um ein Mischbild psychischer und physischer Beschwerden handelt. Kardinalsymptom dieser Erkrankungen ist die Dysphorie, die im Wesentlichen durch depressive Verstimmung, grundloses Weinen, Angstzustände, Reizbarkeit, Wutausbrüche sowie sozialem Rückzug gekennzeichnet ist. Daneben können auch verschiedene körperliche Symptome wie eine Veränderung des Essverhaltens, Spannungsgefühle in den Brüsten und Kopf-, Rücken-, oder Unterleibsschmerzen auftreten (Deuster et al., 1999; Futterman et al., 2006; Freeman, 2003; Deinzer & Tinneberg, 2008).

Die Schätzungen zur Prävalenz des PMS schwanken stark zwischen den verschiedenen epidemiologischen Studien und betragen bis zu 80% (Woods et al., 1982; Johnson et al., 1988; Ramcharan et al., 1992; Campbell et al., 1997; Hylan et al., 1999). Aktuellere Forschungen gehen dagegen von einer Prävalenz von 20-40% aller Frauen im reproduktionsfähigen Alter aus (Futterman et al., 2006; ACOG, 2000). Die große Schwankungsbreite könnte zum einem der retrospektiven Ausrichtung der meisten Studien und dadurch bedingten Verzerrungen geschuldet sein, zum andern den (noch) fehlenden einheitlichen Diagnosekriterien und der damit erschwerten Diagnosestellung. Verschiedene Gruppierungen haben daher eigene diagnostische Kriterien entworfen, darunter auch das American College of Obstetricians and Gynecologists (2000). Da sich das Prämenstruelle Syndrom weder laborchemisch noch durch Hormonmessungen nachweisen lässt, handelt es sich dabei um eine rein klinische Diagnosestellung. Generell scheint eine genaue Ermittlung der Prävalenz des PMS auch deshalb erschwert, weil zwar viele Frauen prämenstruelle Symptome aufweisen, deswegen aber nicht bei einem Arzt vorstellig werden (Futterman et al., 2006; ACOG, 2000).

Wie stark prämenstruelle Symptome die Betroffenen in ihrem Alltag belasten können zeigte eine große Studie an amerikanischen, britischen und französischen Frauen. 30% aller Frauen mit stärkeren Beschwerden spürten Auswirkungen auf ihr Familienleben. 17% der Betroffenen gaben an, dass dies auch ihr weiteres Sozialleben beeinträchtigt und 14%, dass ihre Leistungsfähigkeit im Beruf eingeschränkt sei (Hylan et al., 1999). Diese Ergebnisse konnten in einer weiteren großen Studie (Halbreich et al., 2003a) bestätigt werden.

Nicht nur die Frauen selbst leiden unter den Auswirkungen der prämenstruellen Beschwerden, auch für die Gesellschaft ergeben sich negative Folgen. Studien in den USA zeigten, dass betroffene Frauen häufiger zu Alkohol oder zu Zigaretten greifen, deutlich öfter übergewichtig sind oder an Depression leiden. Dies verursacht eine deutliche Steigerung der Gesundheitskosten (Strine et al., 2005).

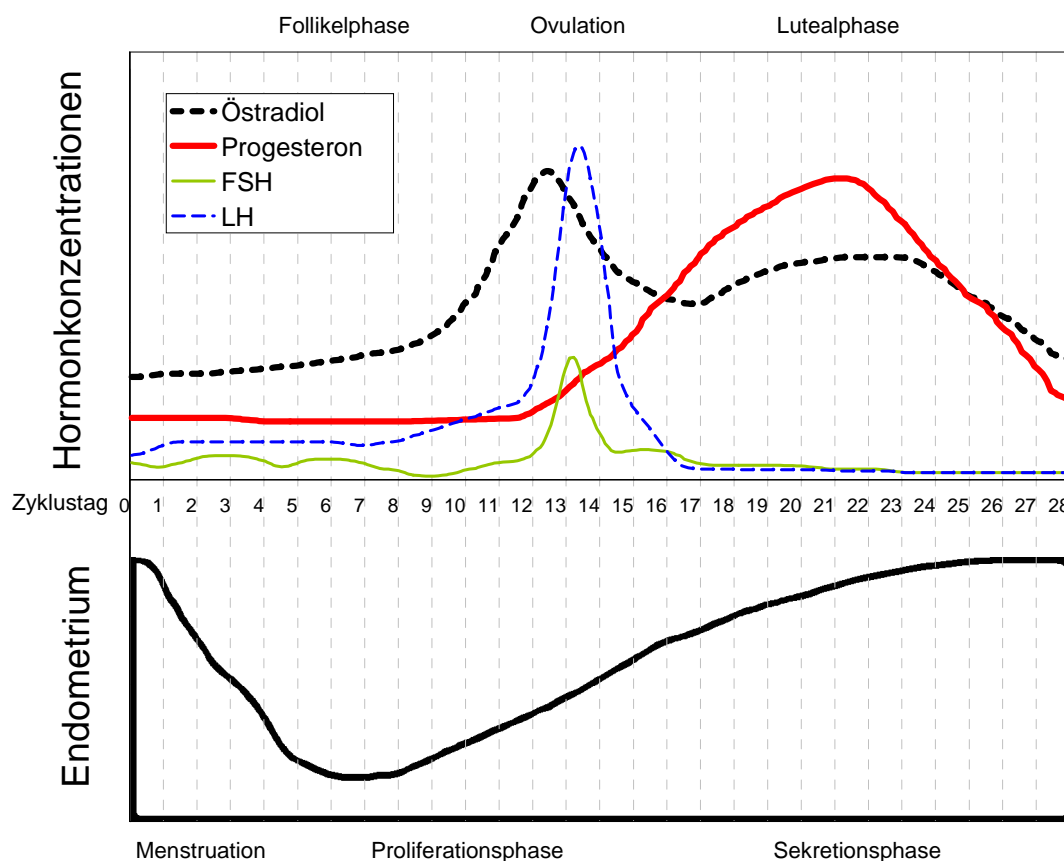
Die hohe Anzahl der Betroffenen und die gesellschaftlichen Auswirkungen verdeutlichen, wie wichtig die Erforschung der Ursachen prämenstrueller Symptome und die Entwicklung einer adäquaten Therapie ist. Theorien und Erklärungsansätze zu Ätiologie und Pathogenese gibt es einige, doch bislang liegen hierzu wenige gesicherte Erkenntnisse vor. Daher erfolgt die Behandlung bislang vor allem symptomorientiert. Sicher ist, dass das Auftreten der Beschwerden an den weiblichen Zyklus und den damit einhergehenden Hormonschwankungen gekoppelt ist (Deinzer & Tinneberg, 2008). Es

folgt daher zunächst eine Beschreibung des Menstruationszyklus und der damit einhergehenden hormonellen Veränderungen.

## 1.1. Der weibliche Zyklus

Die folgende Beschreibung des weiblichen Menstruationszyklus sowie die erstellte Abbildung 1 basiert auf der aktuell gängigen Lehrbuchliteratur (Klinke et al., 2005.; Stauber et al., 2005).

Der weibliche Zyklus besteht aus drei Phasen und beginnt mit dem ersten Tag der Menstruationsblutung. Die erste Phase ist die Follikelphase. Sie ist individuell von unterschiedlicher Dauer. Bei einem durchschnittlichen Zyklus (28 Tage) beträgt diese Phase 12 Tage. Der Follikelphase schließt sich die Ovulationsphase an. Diese entspricht bei einem 28 Tage Zyklus dem 13. bis 15. Tag. Die letzte Phase ist die Lutealphase, die der Ovulationsphase folgt und bis zum Einsetzen der nächsten Blutung andauert.



**Abbildung 1:** Hormonkonzentrationen (Östradiol, Progesteron, FSH und LH) und korrespondierender Auf- und Abbau des Endometriums im Verlauf eines durchschnittlichen 28 Tage Zyklus (Abbildung nach Klinke et al., 2005).



Mit Eintritt der Geschlechtsreife kommt es zu Beginn der Follikelphase, unter Einfluss des Gonadotropin-Releasing-Hormons (GnRH), zur Ausschüttung von follikelstimulierendem Hormon (FSH) aus der Hypophyse. Dieses Hormon bewirkt eine Heranreifung der Follikelzellen in den Ovarien, die mit der Produktion von Östrogenen in den Granulosazellen beginnen. Daraus entwickelt sich in der Regel eine dominante Eizelle. Diese steigert die Östrogenproduktion weiter, wodurch das Heranreifen weiterer Follikel inhibiert wird. Die zunehmenden Konzentrationen an Östrogenen bewirken über eine negative Rückkoppelung zunächst ein Absinken des FSH-Spiegels. Ein sehr hoher Östrogenspiegel führt dann jedoch zu einer positiven Rückkopplung mit Luteinisierendem Hormon (LH) und FSH und es kommt zu einem Peak in der FSH und LH-Konzentration. Diesem folgt 10-12 Stunden später die Ovulation. Danach sinken beide Konzentrationen auf Minimalwerte.

Hohe LH-Werte bewirken die Einleitung der Progesteronbildung. Während die Eizelle durch den Eileiter zum Uterus gelangt, bildet sich aus den im Ovar verbleibenden Granulosa- und Thekazellen das Corpus Luteum. Dieses produziert zunehmend Progesteron (Maximum Tag 7-8 nach Ovulation), wodurch sich das Endometrium auf die Einnistung der Eizelle vorbereitet. Es ist nun maximal aufgebaut. Kommt es jedoch nicht zur Befruchtung, versiegt die Progesteronbildung des Corpus luteum und es bildet sich zum Corpus albicans um. Dies führt zur Abstoßung der hoch aufgebauten Endometriumschleimhaut und die Menstruationsblutung wird eingeleitet.

Der weibliche Zyklus betrifft jedoch nicht nur Hypophyse, Ovar und Endometrium, sondern beeinflusst u.a. über die Veränderung der Östradiol- und Gestagenkonzentrationen den gesamten weiblichen Körper.

### **1.1.1. Östradiol**

Östradiol bewirkt, neben einer Proliferation des Endometriums, eine zunehmende Kontraktilität des Myometriums und eine erhöhte Sensitivität des Myometriums für das Hormon Oxytocin. Zusätzlich nehmen die Motilität und die luminale Sekretion des Eileiters zu und der Zervixkanal weitet sich. Die vaginale Sekretion wird gesteigert, was zu einer erhöhten Spinnbarkeit des Sekrets führt. Außerdem zeigen sich vaginal eine Zunahme der Superfizialzellen und des Karyopyknoseindex sowie eine vermehrte Glykogeneinlagerung.

Extragenital bewirken Östrogene zudem eine Zunahme der Darmmotilität, des Lungenvolumens und der Vitalkapazität sowie eine Stimulation der Osteoblasten am

Knochen, mit positivem Kalziummetabolismus. In Haut und Bindegewebe werden vermehrt Kollagen und Mucopolysaccharide gebildet und der Hautturgor nimmt zu. Im Zentralen Nervensystem scheinen Östrogene stimmungsaufhellend, antidepressiv und geringfügig libidofördernd zu wirken (Feige et al., 2001; Stauber et al., 2005).

### **1.1.2. Progesteron und weitere Gestagene**

Progesteron und andere Gestagene wirken dagegen allgemein eher katabol. Sie fördern die sekretorische Transformation des Endometriums und reduzieren die Kontraktilität des Myometriums. Außerdem nehmen die Motilität und die Sekretion der Tube ab. Vaginal findet eine Abschilferung der Superfizial- und Intermediärzellen, mit einer Abnahme des Karyopyknoseindex, statt. Zervikal zeigen sich eine Reduktion der visköse Schleimsekretion und eine Engstellung des Zervikalkanals.

Zentral wird durch Progesteron ein Anstieg der Körperkerntemperatur (um etwa 0,5°C) und eine leichte Sedierung hervorgerufen (Feige et al., 2001; Stauber et al., 2005; Klinker et al., 2005).

Wie in der Einleitung bereits angedeutet, werden prämenstruelle Symptome im Zusammenhang mit den beschriebenen hormonellen Veränderungen innerhalb des Zyklus betrachtet. Im folgenden Abschnitt werden entsprechende Theorien dazu zusammengefasst. Die Darstellung dieses theoretischen Hintergrunds und auch der Methoden erfolgt in Anlehnung an den Ethikantrag Nr. 109/08, Deinzer & Tinneberg, 2008, an dessen Erstellung ich mitgewirkt habe.

## **1.2. Theorien zur Ätiologie des prämenstruellen Syndroms**

Bislang standen vor allem die bereits genannten gonadalen Hormone Östrogen und Progesteron im Fokus der Forschungen zu Ätiologie und Pathogenese prämenstrueller Symptome. Sie lösen Ovulation und Menstruationsblutung aus, die erforderlich für das Auftreten der Beschwerden sind. Eine Übersicht über die bislang hierzu zusammengetragenen Befunde gibt Halbreich (2003). Es finden sich zwar keine direkten Unterschiede in den absoluten Konzentrationen von Progesteron und Östradiol zwischen Frauen mit und ohne PMS, es lassen sich aber häufigere Konzentrationsschwankungen im Zyklus betroffener Frauen nachweisen. Weiterhin zeigen sie höhere Östrogenspiegel in der Zyklusmitte sowie eine verminderte LH-

Konzentration. Auch ist die pulsatile Freisetzung von Progesteron und des LH verändert. Darüber hinaus stellen Ovulationshemmer und GnRH-Analoga eine effektive Behandlungsmethode dar, wobei einphasische Präparate (Kontrazeptiva mit konstanter Hormondosis ohne Anpassung an die Zyklusphase) eine höhere Wirksamkeit als an den Zyklus angepasste Bi- oder Triphasische Präparate zeigen. Progesteronanaloga sind dagegen ineffektiv (Halbreich, 2003; Yonkers et al., 2008). Östrogene führen außerdem über das Angiotensin-System zu einer erhöhten Wasserretention, was die körperlichen Beschwerden wie Wassereinlagerungen und Brustspannen erklären könnte. Zudem beeinflussen sie eine Reihe von Vorgängen im ZNS und verschiedene Neurotransmitter, die sich auf Stimmung und Verhalten auswirken können. Beispielsweise scheinen Östrogenschwankungen die Ausschüttung des Corticotropin-releasing Hormons (CRH) zu verändern. Niedrige Spiegel dieses Hormons spielen auch bei der atypischen und bei der saisonalen Depression eine Rolle. Da Östrogenschwankungen aber sowohl in der asymptotischen Follikulären Phase als auch in der symptomatischen Lutealphase auftreten, ist diese Erklärung nicht ausreichend. Außerdem haben alle menstruierenden Frauen solche Hormonschwankungen, jedoch zeigt nur ein Teil von ihnen Symptome (Halbreich, 2003). Ein Absinken des Progesteronspiegels wird ebenfalls als ursächlich für die Entstehung prämenstrueller Symptome diskutiert. Jedoch gibt es auch Patientinnen, bei denen Beschwerden bereits vor dem Progesteronabfall auftreten, womit auch diese Erklärung nicht zufriedenstellend ist (Yonkers et al., 2008).

Andere Studien gehen von einer ähnlichen Ätiologie von PMS / PMDS und affektiven Störungen aus. Dafür spricht neben den veränderten CRH-Spiegeln auch die prämenstruell erhöhte Prävalenz von Depressionen. Prämenstruelle Beschwerden treten gehäuft bei Frauen auf, die auch an anderen affektiven Störungen (Wochenbettdepression, Major Depressiv Disorder, Angststörungen oder saisonal affektiven Störungen) leiden. Eine genetische Disposition für diese Erkrankungen und eine gemeinsame Pathogenese ist daher anzunehmen (Bancroft et al., 1994; Halbreich, 2003). Außerdem scheint beim PMS, wie auch bei affektiven Erkrankungen, eine Beteiligung des serotonergen Systems wahrscheinlich. Frauen mit PMS weisen im Mittel geringere Konzentrationen dieses Neurotransmitters auf. Allerdings ist dies bereits in der asymptotischen Phase der Fall und liefert damit keine befriedigende Erklärung. Eine antidepressive Medikation durch selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (SSRI) scheint dennoch wirksam bei der Behandlung des PMS (Campagne & Campagne, 2007; Halbreich, 2003; Yonkers et al., 2008).

Zwillingsstudien und Mutter-Tochter-Studien zeigen auch einen genetischen Faktor für das Auftreten prämenstrueller Beschwerden auf (Halbreich, 2003; Yonkers et al., 2008; Jahanfar et al., 2011). Umwelt- und Lebensereignisse sowie psychosoziale Faktoren, z.B. Stress, haben ebenfalls einen Einfluss auf den Verlauf und das Ausmaß der Erkrankung. Gesprächs- und Entspannungstherapien sind daher bei der Behandlung erfolgreich. Eine Verbesserung der Beschwerden konnte auch durch kohlenhydratreiche und fettarme Ernährung sowie leichte körperliche Betätigung erreicht werden (Kroll et al., 2006; Campagne & Campagne, 2007).

Eine befriedigende Erklärung für die Erkrankungsursache kann aus all diesen Ansätzen jedoch nicht gewonnen werden. Ein alternativer Ansatz zur Erklärung der prämenstruellen Symptome liegt in zyklusbezogenen immunologischen Veränderungen, denn nicht nur die gonadalen Hormone weisen zyklische Schwankungen auf, sondern auch verschiedene immunologische Prozesse innerhalb der Gebärmutter (Critchley et al., 2001). So zeigt die Menses tatsächlich Charakterzüge einer inflammatorischen Reaktion. Diesbezügliche Befunde werden im nächsten Kapitel erläutert.

### **1.3. Die Menstruation und die Rolle des Immunsystems**

Bereits 1986 zeigten erste Studien, dass es zum Zeitpunkt der Menstruation unter anderem zu Ödembildung und einem Einstrom verschiedener immunkompetenter Zellen in das Endometrium kommt (Finn, 1986), insbesondere von Makrophagen, Neutrophilen, Eosinophilen, Granulozyten und natürlichen Killerzellen (NK-Zellen; Salamonsen et al., 1999; Kitaya et al., 2007). Diese Zellen sind dafür bekannt, dass sie untereinander über Botenstoffe (darunter auch Zytokine) miteinander kommunizieren. Daher überrascht es nicht, dass viele dieser Stoffe und weitere Entzündungsparameter prämenstruell im Endometrium in erhöhten Konzentrationen nachweisbar sind (Critchley et al., 2001; Kayisli et al., 2002).

Auch das Endometriumgewebe selbst scheint die Produktionsstätte einer Vielzahl von Immunparametern zu sein wie zum Beispiel Interleukin-1 (IL-1), IL-8 und Tumornekrose-Faktor alpha (TNF- $\alpha$ ), die unter der Kontrolle von Östrogenen und Progesteron stehen (Kelly et al., 2001; Brenner et al., 2002). Untersuchungen von Endometriumbiopsaten aus Hysterektomiepräparaten von Frauen in unterschiedlichen Zyklusphasen konnten eine prämenstruell erhöhte Genexpression für proinflammatorische Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-8, nachweisen (Wolff et

al., 2000). Diese Erkenntnisse stehen im Einklang mit Ergebnissen aus Studien an kultivierten Endometriumszellen, die eine erhöhte Genexpression von IL-1 $\beta$  (Frank, 1995) bzw. eine erhöhte Sekretion von IL-6 (Zepff, 2003) unter Hormonstimulierung fanden. Ähnliche Ergebnisse lieferten weitere, u.a. immunohistochemische, Untersuchungen an Hysterektomiepräparaten für TNF- $\alpha$  (Wolff et al., 1999) sowie die Analyse von Hypoxie an endometrialen Zellkulturen auf IL-6 (Wolff et al., 2002).

Zwei *in vivo* Studien konnten ebenfalls einen Zusammenhang zwischen der Aktivität des Immunsystems und dem Menstruationszyklus feststellen (Puder et al., 2006; O'Brien et al., 2007).

Die erste Studie untersuchte die Serumkonzentrationen von hoch sensitivem C-reaktivem Protein (hs-CRP) aus Blutproben von acht normal- und sieben übergewichtigen Frauen an mehreren Messzeitpunkten. Dabei zeigte sich ein zyklischer Verlauf des hs-CRP mit Höhepunkt in der späten Lutealphase. Veränderungen für TNF- $\alpha$  konnten jedoch nicht nachgewiesen werden (Puder et al., 2006).

Die zweite Studie untersuchte die Blutproben von sieben Männern im Vergleich zu 13 Frauen, die sich entweder in der Lutealphase oder in der frühen Follikelphase befanden, auf verschiedene Zytokine. Als Ergebnis zeigte sich, dass Frauen im Gegensatz zu Männern nicht nur generell höhere Spiegel an löslichem IL-6-Rezeptor und TNF- $\alpha$  aufweisen. Die Konzentrationen von IL-6-Rezeptor, TNF- $\alpha$  und IL-4 veränderten sich zudem im Verlauf des weiblichen Zyklus, mit signifikant höheren Werten in der Lutealphase im Vergleich zur folliculären Phase. Bei Männern traten dagegen keine nennenswerten Konzentrationsschwankungen auf. Auch eine signifikante Korrelation von TNF- $\alpha$  Konzentrationen mit dem Progesteronspiegel und von IL-4 mit dem Östrogenenspiegel wurde bei den Frauen festgestellt. Eine Veränderung von IL-6, IL-8 oder IL-10 fand sich in dieser Studie dagegen auch bei den Probandinnen nicht (O'Brien et al., 2007).

Nachdem nun die Veränderungen der Immunaktivität und damit auch von Zytokinen im weiblichen Zyklus aufgezeigt wurden, werden im folgenden Abschnitt das generelle Wirkprinzip dieser sowie die für diese Studie relevanten Zytokine vorgestellt.

### 1.4. Zytokine

Zytokine sind aufgrund ihrer elementaren Stellung im Immunsystem von besonderem Interesse und stehen im Mittelpunkt der vorliegenden Forschungsarbeit. Sie sind kleine Moleküle (meist Glykoproteine) unter 60 Kilodalton (kDa), oft auch deutlich kleiner. Sie werden von verschiedenen Zellen produziert und freigesetzt und wirken vorwiegend auf dieselben (autokrin) oder benachbarte Zellen (parakrin), seltener systemisch. Die Wirkungen der Zytokine sind oft pleiotrop, d. h. ein Zytokin ruft in mehreren Zellen verschiedene Wirkungen hervor sowie redundant, d. h. mehrere Zytokine rufen in einer Zelle die gleiche Wirkung hervor. Ein Zytokin kann die Produktion anderer einleiten oder hemmen (Speckmann et al., 2008). Je nach chemischen Aufbau und Funktion lassen sich verschiedene Zytokinklassen unterscheiden:

**Typ-I-Zytokine**, die eine Tertiärstruktur mit vier gebündelten  $\alpha$ -Helices aufweisen (auch Hämatopoetine genannt) und eine Januskinase für die Signaltransduktion verwenden; **Typ-II-Zytokine** mit einer Tertiärstruktur, bestehend aus sechs nicht gebündelten  $\alpha$ -Helices und ebenfalls einer Januskinase zur Signaltransduktion; **Interferone (INF)** (als Untergruppe der Typ-II-Zytokine); **Chemokine** (Zytokine mit chemotaktischer Wirkung und einer Größe von 8-10 kDa die über G-Protein-Rezeptoren wirken); sowie die **IL-1-**; **IL-17-**; die **TNF-** und die **TGF-** (Transforming Growth Factor) **Familien**.

Die für diese Studie relevanten Zytokine werden im Folgenden vorgestellt (siehe Speckmann et al., 2008).

**Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )** ist ein proinflammatorisches Zytokin (Größe der biologisch aktiven Form 17 kDa, Gesamtgröße 33 kDa) des angeborenen Immunsystems mit einer heterodimeren Form und der Immunglobulin- (Ig) Superfamilie zugehörig (Speckmann et al., 2008). Es wird vor allem in Makrophagen produziert, aber auch in neutrophilen Granulozyten und verschiedenen Endothelzellen. Diese Zellen sind gerade in der prä- und menstruellen Phase im Endometrium vermehrt vorhanden (Salamonsen et al., 1999). Auch das Endometrium selbst bildet IL-1 $\beta$ , vor allem in der spät-lutealen und frühen folliculären Zyklusphase (Kelly et al., 2001; Wolff et al., 2000). Es spielt sowohl beim sogenannten Sickness Behaviour (auf das unter 1.5. noch genauer eingegangen wird) als auch bei depressiven Patienten eine Rolle (Dantzer et al., 2007; Schiepers et al., 2005) und ist daher für diese Studie von besonderem Interesse. Seine Produktion

wird unter anderem durch Lipopolysaccharide (LPS) und TNF stimuliert. In niedrigen Dosen wirkt es vor allem lokal auf Endothelzellen und bewirkt dort eine Verbesserung der Leukozytenadhäsion, wodurch deren Rekrutierung erleichtert wird. Außerdem werden durch IL-1 $\beta$  neutrophile Granulozyten, periphere T-Zellen und reife B-Zellen zur Bildung von weiteren Zytokinen angeregt. Zusätzlich besitzt es eine proliferative Wirkung auf Neutrophile und B-Zellen (Speckmann et al., 2008). In hohen Dosen dagegen wirkt es endokrin über den Blutweg und ruft Fieber, die Bildung von Akut-Phase-Proteinen in der Leber und langfristig eine Kachexie hervor (Abbas et al., 2005).

**Interleukin-2 (IL-2)** ist ein Zytokin des erworbenen Immunsystems. Es ist ein Glykoproteinmonomer aus der Typ-I-Zytokinklasse mit einer Größe von 14-17 kDa. Es wird von T-Zellen gebildet und wirkt autokrin indem es die Synthese weiterer Zytokine in diesen Zellen anregt. Es ist ein Proliferationsfaktor für CD4-Zellen, verbessert die Differenzierung und die zytolytische Funktion von NK-Zellen und fördert das Wachstum und die Antikörperproduktion von B-Zellen. Außerdem besitzt es eine antiinflammatorische Wirkung durch Induktion der Apoptose von aktivierten T-Zellen und der Produktion und Entwicklung von T-Helferzellen (Abbas et al., 2005; Speckmann et al., 2008).

**Interleukin-4 (IL-4)** ist das Leitzytokin einer TH-2-Immunantwort des spezifischen Immunsystems und ebenfalls ein Typ-I-Zytokin. Es ist daher auch ein monomeres Glykoprotein mit einer Masse von 18-20 kDa. Es wird von aktivierten nativen CD4-positiven T-Zellen ausgeschüttet und fördert autokrin die Weiterentwicklung der Zelle zur TH-2-Zelle. Weiterhin bewirkt es einen Isotypen-Wechsel der B-Zellen zugunsten der IgE Produktion und es ist ein Wachstumsfaktor für Mastzellen. Damit spielt es eine wichtige Rolle in der Parasitenabwehr, aber auch bei der Entstehung von Allergien (Abbas et al., 2005; Speckmann et al., 2008). Die bereits beschriebene Studie von O'Brien et al. (2007) konnte schon eine Korrelation zwischen Östrogenspiegel und IL-4 nachweisen.

**Interleukin-6 (IL-6)** ist ein Zytokin des nativen und des erworbenen Immunsystems und auch ein Typ-I-Zytokin (Masse 21-26 kDa). Es wird von Phagozyten, Fibroblasten, Endothel und einer Reihe weiterer Zellen bei Kontakt mit Erregern oder Zytokinen wie IL-1 und TNF- $\alpha$  synthetisiert. Systemisch bewirkt es eine Synthese von Akut-Phase-Proteinen und die Steigerung der Produktion von neutrophilen Granulozyten im Knochenmark (Speckmann et al., 2008). Außerdem stimuliert es das Wachstum und

die Antigenproduktion von B-Zellen. IL-6 ist ein wichtiges Zytokin in der Ausbildung von Sickness Behaviour und ist bei depressiven Patienten erhöht (Schiepers et al., 2005; Anisman et al., 2005; Raison et al., 2006). Prämenstruell konnte bereits eine erhöhte Genexpression von IL-6 in Endometriumbiopsaten gemessen werden (Wolff et al., 2000). Diese Aspekte machen es besonders wichtig für diese Studie.

**Interleukin-8 (IL-8)** ist ein Chemokin und dem angeborenen Immunsystem zugehörig. Es wird vor allem von aktivierten Monozyten, aber auch von einer großen Anzahl weiterer Zellen nach Kontakt mit IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  oder pathogenen Erregern ausgeschüttet sowie nach Trauma oder Ischämie. Auch das Endometriumgewebe scheint hierzu in der Lage zu sein (Wolff et al., 2000). Seine Hauptwirkung ist lokaler Natur und besteht in der Chemotaxis und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten (Baggiolini et al., 1992). Zudem ist es ein Angiogenesefaktor indem es die Apoptose von Endothelzellen inhibiert. Außerdem spielt es eine Rolle beim Tumorwachstum. Tumorzellen selber sind in der Lage IL-8 zu produzieren (Li et al., 2003). Auch während der Menstruation spielt es eine wichtige Rolle für die Neutrophilenrekrutierung vor und während der Menses. Es wird daher prä- und menstruell vermehrt produziert und durch Progesteron inhibiert bzw. durch eine sinkende Progesteronkonzentration vermehrt ausgeschüttet (Kelly et al., 1994; Maybin et al., 2011). Darüber hinaus spielt es in der Pathologie von verschiedenen Autoimmunerkrankungen eine Rolle, die wiederum mit depressiven Erkrankungen assoziiert werden.

**Interleukin-10 (IL-10)** ist ein wichtiges antiinflammatorisches Zytokin (ein Typ-II-Zytokin von 17-21 kDa). Es wird von aktivierten Makrophagen und einigen nicht-lymphoiden Zellen gebildet und bewirkt über negatives Feedback eine Inhibierung der Makrophagen und ihrer IL-12 Produktion. Außerdem reduziert es die Expression von Major-Histocompatibility-Complex-(MHC)-II-Molekülen auf Makrophagen und dendritischen Zellen und reduziert dadurch auch die Wirkung von T-Zellen des adaptiven Immunsystems. Ebenso wird die Bildung verschiedener anderer Zytokine in Granulozyten gehemmt (Speckmann et al., 2008; Abbas et al., 2005).

**Interleukin-12 (IL-12)** ist das Zytokin des frühen angeborenen Immunsystems und ein wichtiges Bindeglied zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem. Zusätzlich ist es das Leitzytokin für eine TH-1 Immunantwort. Es gehört zur Gruppe der Typ-I-Zytokine und ist ein Heterodimer (75 kDa). IL-12 wird in mononuclearen Phagozyten und dendritischen Zellen nach Stimulation durch intrazelluläre Erreger,



Viren, LPS, antigenstimulierten T-Helfer-Zellen, oder IFN- $\gamma$  (aus NK- oder T-Zellen) gebildet. Es induziert die zellvermittelte Immunität, indem es eine Differenzierung von CD-4-Helferzellen in IFN- $\gamma$  produzierende TH-1-Zellen und die IFN- $\gamma$  Produktion in NK-Zellen hervorruft. Außerdem verbessert es die zytolytische Funktion von aktivierten NK-Zellen (Speckmann et al., 2008; Abbas, 2005).

**Interleukin-17 (IL-17)** ist das proinflammatorische Zytokin der erst kürzlich bekannt gewordenen TH-17 vermittelten Immunantwort aus der IL-17-Familie (15-20 kDa). TH-17 Zellen entstehen nach Stimulierung der nativen TH-4-Zelle mit IL-6 und TGF- $\beta$ . Sie werden in der Pathogenese verschiedenster Erkrankungen diskutiert, da IL-17 die Ausschüttung einer Reihe weiterer Zytokine aus verschiedensten Zellen induziert (u.a. IL-8, Monocyt chemoattractant Protein 1, Granulozyten (G) / Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender Faktor (GM-CSF), IL-6, Prostaglandin (PG) E-2 sowie IL-1 $\beta$  und TNF). Dadurch werden vor allem neutrophile Zellen angelockt und eine lokale Entzündung produziert, bei gleichzeitiger Unterdrückung einer TH-1- und TH-2-Antwort (Gaffen et al., 2006; van de Veerdonk et al., 2009; Yang et al., 2003; Zhao et al., 2010; Kunz et al., 2009).

Nachdem bei einigen der vorgestellten Zytokine bereits eine Verknüpfung mit der Psyche angedeutet wurde, wird im nächsten Kapitel dieser Zusammenhang zwischen Zytokinen, Stimmung und Verhalten genauer beleuchtet.

### **1.5. Zytokine, Stimmung und Verhalten**

Von einem Zusammenhang zwischen Entzündungsparametern, besonders den bereits genannten Zytokinen und der psychischen Befindlichkeit, weiß man seit etwa 20 Jahren (Dantzer & Kelly, 2007; Dunn et al., 2005). Dabei ist das Auftreten bestimmter Symptome wie Depressivität, Reizbarkeit und Interessensverlust, auch als „Sickness Behaviour“ bekannt, nicht zwangsläufig an das Vorhandensein einer Erkrankung gekoppelt, sondern kann auch unabhängig davon durch Zytokine ausgelöst werden (Dantzer & Kelley, 2007; Hopkins, 2007). Häufig genannt werden hier vor allem IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-10 und TNF- $\alpha$  (Anisman et al., 2005; Vollmer-Conna et al., 2004; Konsman et al., 2002; Dantzer et al., 2008; Howren et al., 2009). Die Symptome des Sickness Behaviours wie Lethargie, Somnolenz, Müdigkeit, Interessens- und Appetitverlust sowie verringerte Konzentrationsfähigkeit ähneln Symptomen, die auch bei Depressionen beschrieben werden. Daher werden auch hier Zytokine als ein Faktor

in der Pathogenese diskutiert (Leonard, 2001; Loftis et al., 2010). Tatsächlich konnte eine Reihe von Studien einen Zusammenhang zwischen Depressivität und Entzündungsparametern finden, der jedoch noch nicht hinreichend geklärt ist (Howren et al., 2009; Brummett et al., 2010; Suarez et al., 2003). So gibt es Studien, die erhöhte Spiegel an CRP, IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ ; TNF- $\alpha$  und weiteren Entzündungsmarkern in Zusammenhang mit negativer Stimmung bzw. Depressivität nachweisen konnten (Puder et al., 2006; Schiepers et al., 2005; Anisman et al., 2005; Raison et al., 2006; O'Brien et al., 2004; Howren et al., 2009; Holmes et al., 2011). Andere Studien konnten diesen Zusammenhang jedoch nicht bestätigen (Marques, 2007).

Des Weiteren besteht eine hohe Komorbidität zwischen einer Reihe von chronisch entzündlichen Erkrankungen und der Depression (Loftis et al., 2010). Dies zeigt sich unter anderem auch bei den kardiovaskulären Erkrankungen: depressive Patienten (Koutsouraki et al., 2011) haben ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und Depressivität erhöht die Morbidität und Mortalität herzkranker Patienten (Serrano et al., 2011; Suarez et al., 2003).

Ein weiteres Indiz für den Einfluss von Zytokinen auf das Befinden zeigt sich bei Patienten mit Immuntherapie, bei denen eine entzündungsfördernde Immunlage provoziert wird. Nebenwirkung dieser Therapie ist die Entstehung einer Depression bei einem hohen Prozentsatz der Patienten. Diese kann jedoch häufig durch selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI) gemindert oder geheilt werden (Capuron & Miller, 2004). Im Blut von Patienten, bei denen diese Therapie wirkungslos ist, lassen sich zudem erhöhte Konzentrationen von IL-6 und TNF- $\alpha$ , im Vergleich zu erfolgreich behandelten und gesunden Kontrollprobanden nachweisen (O'Brien et al., 2007b).

Dass wiederum ein Zusammenhang zwischen affektiven Störungen und dem prämenstruellen Syndrom besteht, wurde schon in Kapitel 1.2 erläutert.

In Anbetracht dieser Befunde stellt sich die Frage, ob und inwieweit möglicherweise inflammatorische Prozesse ursächlich für die Entstehung prämenstrueller Symptome sein könnten. Daher wird im folgenden Kapitel diese Verbindung genauer betrachtet.

### **1.6. Zytokine, prämenstruelle Stimmung und prämenstruelles Verhalten**

Es existieren bislang wenige Studien, die einen Zusammenhang zwischen Zytokinen und prämenstruellen Symptomen untersuchen.

Eine dieser Studien ist die bereits in Kapitel 1.3. erwähnte Studie von Puder et al. (2006). Dabei wurden die Konzentrationen von (hs-)CRP und TNF- $\alpha$  sowie von den Hormonen Östradiol und Progesteron in Blutproben von acht normal- und sieben übergewichtigen Frauen während der verschiedenen Phasen eines ihrer Menstruationszyklen gemessen. Diese Werte wurden mit dem „Daily Symptom Score“, korreliert, einem von den Autoren selbst entwickelten Fragebogen zur Messung prämenstrueller Beschwerden. Die erfassten Symptome beinhalteten a) Stimmung (Ängstlichkeit, Reizbarkeit, Depression, nervöse Anspannung, Stimmungsschwankung und das Gefühl von Kontrollverlust), b) Verhalten (Koordinierungsprobleme, Schlaflosigkeit, Verwirrung, Kopfschmerzen, Weinen und Müdigkeit), c) Schmerz (allg. Schmerzen, Krämpfe, Spannungen in der Brust) und d) physische Symptome (Heißhunger und Schwellungen). Außerdem wurde aus diesen vier Faktoren noch ein Gesamtscore gebildet.

Sowohl das hs-CRP als auch insbesondere die Symptome Stimmung, Verhalten und Schmerz veränderten sich signifikant über den Verlauf des Zyklus, mit einem Anstieg in der lutealen Zyklusphase. Des Weiteren zeigte sich eine signifikante Korrelation des Gesamtscores sowie der Einzelfaktoren Stimmung und Verhalten mit den gemessenen hs-CRP-Werten. Auch die einzelnen Symptome zeigten untereinander eine signifikante Korrelation. Eine Abhängigkeit des hs-CRP oder der einzelnen Symptome von den Hormonen Östrogen und Progesteron konnte dagegen nicht gefunden werden. Signifikante zyklische Veränderungen für TNF- $\alpha$  oder ein ähnlicher Zusammenhang zwischen TNF- $\alpha$  und dem Daily Symptom Score konnten ebenfalls nicht nachgewiesen werden (Puder et al., 2006).

Ein Nachteil dieser Studie ist, dass die Entzündungsparameter im Serum (systemisch) gemessen werden, der Entstehungsort der prämenstruellen Zytokine jedoch das Endometriumgewebe und ortsständige immunkompetente Zellen (lokal) sind. Es wird daher im Weiteren beleuchtet wie Zytokine ihre Wirkung entfalten.

### **1.7. Zytokine und ihre Wirkung: lokal und systemisch**

Entzündungsprozesse sind zunächst lokale Prozesse, die örtlich auf ein Gewebe begrenzt sind (Hopkins, 2007; Tracey, 2002). Dementsprechend agieren die genannten Zytokine und andere Botenstoffe des Immunsystems primär (in auto- bzw. parakriner Form) auf lokaler Ebene (Deinzer & Tinneberg, 2008). Auch die unter 1.3. beschriebenen zyklischen, immunologischen Veränderungen, prämenstruell gekennzeichnet durch einen massiven Anstieg proinflammatorischer Immunaktivität mit erhöhtem Einstrom bzw. lokaler Proliferation von unspezifischen Immunzellen und den daraus resultierendem Anstieg der Sekretion diverser Entzündungsmediatoren, beschränken sich zunächst auf lokale Prozesse innerhalb der Gebärmutter Schleimhaut. Es bleibt zu klären, wie diese lokal im Uterusbereich produzierten Immunbotenstoffe (insbesondere Zytokine) im Zentralen Nervensystem (ZNS) die psychischen Symptome auslösen können. Hierfür kommen zwei Wege in Betracht.

Zum einen besteht die Möglichkeit, dass die Zytokine über das Blutsystem und die Blut-Hirnschranke an ihren Zielort, das ZNS, gelangen. Dieser Weg ist jedoch sehr langsam. Zudem ist die Halbwertszeit von Zytokinen im Minutenbereich angesiedelt und es gibt eine hohe Anzahl zytokin-antagonisierender Faktoren im Blut. Dies erklärt, warum die gemessenen Blutkonzentrationen oft sehr niedrig oder gar nicht messbar sind und diese Art der Signalübertragung relativ ungenau ist (Marques et al., 2007).

Eine Alternative, zur schnelleren Kommunikation zwischen Peripherie und ZNS, besteht in der Aktivierung vagaler afferenter Nervenzellen durch von lokalen Zellen produzierte Zytokine (Gaillard, 2003) mit anschließender nervaler Weiterleitung der Informationen (Harrison et al., 2009). Diese Art der Signaltransduktion scheint unter anderem bei den Zytokinen IL-8, TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  zum Tragen zu kommen (Dantzer et al., 2000; 2004; 2008; Konsman et al., 2002; Marques et al., 2007). Auf diese Weise ist eine schnelle und exakte Statusmeldung im Rahmen eines lokalen Entzündungsgeschehens möglich, ohne dass weitere Systeme des Körpers mit einbezogen werden müssen (Quan, 2008). Studien weisen darauf hin, dass dieser Weg bei Entzündungsreaktionen vor allem für die Entstehung depressiver Verhaltensweisen maßgeblich ist, weniger jedoch für Fieber (Konsman et al., 2000).

Damit ist es denkbar, dass die Menses als lokaler, immunologischer Vorgang über die beschriebene nervale Weiterleitung an das ZNS psychische Reaktionen auslöst (Dantzer et al., 2008; Konsman et al., 2002). Daher wäre es wichtig, diese lokalen

Veränderungen auch zu erfassen, wenn es darum geht, einen Zusammenhang zwischen dem Menstruationszyklus als immunologischen Vorgang und psychischen Veränderungen herzustellen. Ideal wären hierfür wiederholte Probenentnahmen im Bereich des Endometriums. Dies wäre aber nur im Rahmen eines invasiven Eingriffes möglich, der selbst eine Veränderung der Immunlage hervorrufen würde. Auch ist ein solches Vorgehen im Rahmen einer messwiederholten Studie bei gesunden jungen Frauen aus ethischen Gründen nicht akzeptabel und daher ungeeignet.

Eine bessere Methode scheint dagegen die Probenentnahme aus dem tiefen Genitaltrakt, insbesondere cervicovaginal. Auch hier konnten bereits verschiedene Entzündungsparameter nachgewiesen werden, die möglicherweise selbst aus der Gebärmutter stammen oder den gleichen hormonellen Regelkreisen unterliegen (Bollen et al., 2008; Gargiulo et al., 2004; Kutteh et al., 1998; Kanai et al., 1997). Besonders geeignet scheint hierfür die Entnahme von Zervixsekret. Die Methode hierfür ist nur wenig invasiv und es zeigten sich bereits zyklische Schwankungen der Immunmediatoren (Hildesheim et al., 1999; Castle et al., 2002).

Keine der genannten Studien aber hat den Zusammenhang zwischen diesen lokalen, immunologischen, zyklischen Veränderungen und Stimmung bzw. prämenstruellen Symptomen bislang untersucht. Daher steht diese Thematik im Mittelpunkt dieser Studie.

### **1.8. Fragestellung**

Das Ziel dieser Studie ist es, einen besseren Einblick in die Zusammenhänge zwischen psychischen und immunologischen Veränderungen auf lokaler und systemischer Ebene während des Menstruationszyklus herzustellen. Die Verknüpfungen zwischen Immunsystem und Menstruationszyklus sowie zwischen Immunsystem und Psyche wurden weiter oben beschrieben. Sie machen eine Verbindung auch zwischen dem Immunsystem und den prämenstruellen Symptomen wahrscheinlich. Dennoch gibt es bis auf Puder et al. (2006) bislang nahezu keine Studie, die einen solchen Zusammenhang *in vivo* prüft.

Durch die Untersuchung der Assoziation einer prämenstruellen Stimmungsverschlechterung mit Veränderungen der lokalen und/oder systemischen proinflammatorischen Aktivität soll die Datenlage hierzu erweitert werden. Dies kann auch das Verständnis der Zusammenhänge zwischen immunologischen und psychischen

Veränderungen im Allgemeinen verbessern. Innovativ ist hierbei, dass solche Zusammenhänge hier erstmals am Menschen, auch in Bezug auf lokale immunologische Veränderungen, messwiederholt untersucht werden, während in vorangegangenen Studien dies bislang lediglich in Bezug auf systemische Veränderungen erfolgt ist.

Dem grundlagenwissenschaftlichen Charakter der Fragestellung entsprechend bleibt damit zunächst das Prämenstruelle Syndrom (PMS), als klinische Störung mit Krankheitswert sensu ICD 10 im Hintergrund. Vielmehr sollen hier zunächst die Veränderungen im Verlauf des (regelhaften) Zyklus allgemein untersucht werden. Die Zielgruppe der Untersuchung sind daher junge gesunde Frauen mit regelmäßigem Zyklus, unabhängig von einer PMS-Diagnose.

Nebenfragestellungen ergeben sich u.a. aus der Tatsache, dass in dieser Studie dieselben Immunparameter sowohl lokal als auch systemisch erfasst werden.

### **1.8.1. Hauptfragestellung**

Geprüft wird die Hypothese, dass Veränderungen der Stimmung zum Zyklusende mit Veränderungen der lokalen, d. h. zervikalen inflammatorischen Aktivität (abgebildet durch die zervikalen Konzentrationen der Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17) assoziiert sind. Erwartet wird, dass mit zunehmender Verschlechterung der Stimmung auch ein umso stärkerer Anstieg der Zytokine beobachtbar sein wird.

### **1.8.2. Nebenfragestellung**

Weiterhin wird untersucht, ob sich auch zu jeweils einem Messzeitpunkt Zusammenhänge zwischen Entzündungsmediatoren (sowohl lokal als auch systemisch) und psychischer Befindlichkeit beobachten lassen und ob ein Zusammenhang zwischen lokalen und systemischen Entzündungsmediatoren besteht.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Ethik und Einhaltung von Guidelines und publizierten Empfehlungen**

Vor Beginn der Rekrutierung wurde die Zustimmung der Ethikkommission Gießen eingeholt. Das positive Ethikvotum erfolgte am 18.09.2008 (Aktenzeichen 109/08).

Alle Probandinnen wurden vor ihrer Teilnahme ausführlich sowohl schriftlich als auch mündlich über die Art und Durchführung der Studie und der Probenentnahmen und über mögliche Risiken durch die Probenentnahmen aufgeklärt. Diese Risiken waren aufgrund der nur gering invasiven Methode der Probengewinnung minimal und ohne langfristig gesundheitsbeeinträchtigende Folgen (Deinzer & Tinneberg, 2008).

### **2.2. Studienteilnehmer**

Studienteilnehmer waren 67 gesunde, junge Frauen im Alter von 20-40 Jahren.

#### **2.2.1. Rekrutierung**

Die Rekrutierung erfolgte über Aushänge in verschiedenen Universitätsgebäuden der Universität Gießen sowie über eine Internetanzeige im „Marburger und Gießener Magazin Express“. Diese Aushänge bzw. die Anzeige enthielten bereits erste Hinweise auf die Fachrichtung der Studie, den voraussichtlichen Zeitaufwand, das Ausschlusskriterium hormonelle Verhütung sowie die Aufwandsentschädigung in Höhe von 80 Euro. Als zusätzlicher Anreiz wurde darauf verwiesen, dass sich die Probandinnen auf Wunsch die Ergebnisse der Voruntersuchung (gynäkologischer Ultraschall, Chlamydienabstrich) mitteilen lassen konnten.

Potentielle Probandinnen wurden dazu aufgerufen, sich telefonisch oder per Email im Forschungssekretariat des Instituts für Medizinische Psychologie der Universität Giessen zu melden und bei bestehendem Teilnahmewunsch ihre Telefonnummer zu hinterlassen. Sie wurden daraufhin telefonisch kontaktiert und erhielten mit Hilfe eines Telefonprotokolls standardisierte Informationen bezüglich des zeitlichen Studienablaufes, der Art der Probenentnahmen und der Aufwandsentschädigung. Außerdem wurden die Ein- und Ausschlusskriterien anamnestisch in diesem Gespräch überprüft. Bei Erfüllen der Kriterien und Teilnahmewunsch der Probandin wurde ein Termin für die Voruntersuchung vereinbart.

### 2.2.2. Ein- und Ausschlusskriterien

Die Ein- und Ausschlusskriterien ergeben sich aufgrund der studienspezifischen Anforderungen an den menstruellen Zyklus (vorhanden, ovulatorisch, regelmäßig, nicht durch hormonelle Kontrazeption beeinflusst) und durch Faktoren, die geeignet sind, die Psyche oder die Immunaktivität unabhängig vom Menstruationszyklus nachhaltig zu beeinflussen. Folgende Ein- bzw. Ausschlusskriterien wurden angewandt, nachdem sie über ein standardisiertes anamnestisches Interview erfragt wurden:

#### **Einschlusskriterien:**

- Alter: 20 bis 40 Jahre
- regelmäßiger Zyklus (anamnestisch erfragt)
- vaginaler pH-Wert von 4,0 – 4,7 (Normbereich) bei Erstuntersuchung (Ausschluss eventueller vaginaler Infektionen)
- unauffällige Urinanalyse (mittels Urinstick) hinsichtlich Bakterien, Leukozyten, Eiweiß und Hämoglobin
- unauffälliger Vaginalultraschall (Sicherstellung normgerechter Gebärmutter und Eierstöcke)
- Bereitschaft zum Verzicht auf Geschlechtsverkehr während des Untersuchungszeitraumes d. h. mindestens drei Tage vor einer Probenentnahme
- Ovulatorischer Zyklus (anhand von Hormonprofilen im Anschluss an die Untersuchung festgestellt, siehe 2.4.6.)

#### **Ausschlusskriterien:**

- hormonelle Kontrazeption in einem Zeitraum von weniger als drei Monaten vor Beginn der Studie
- akute Infekte
- aktuelle oder bis sechs Monate zurückliegende Einnahme immunmodulatorischer Substanzen (z. B. Immunstimulanzien, Immunsuppressiva, Psychopharmaka)
- aktuelle bzw. zurückliegende neurologische Erkrankungen
- aktuelle Behandlung psychischer/psychiatrischer Erkrankungen
- Impfungen bis zwei Monate vor Studie und während Studiendauer
- Rauchen von mehr als fünf Zigaretten pro Tag
- aktuelle Schwangerschaft
- chronische Erkrankungen und Erkrankungen des endokrinen Systems, sofern sie temporäre Veränderungen des Immunsystems hervorrufen können



### 2.3. Variablen

#### 2.3.1. Psychische Befindlichkeit

Für die Messung der psychischen Befindlichkeit wurde die deutsche Kurzversion des „Profile of Mood States“ (POMS) Fragebogens eingesetzt.

Die deutsche Kurzversion des POMS umfasst insgesamt 35 Items, wobei jedem Item 0-6 Punkte zugeordnet werden können. Daraus werden vier Skalen erstellt, die Missmut (7 Items, u.a. zornig, gereizt, schlecht gelaunt, verärgert), Müdigkeit (7 Items, u.a. lustlos, müde, erschöpft), Tatendrang (7 Items, u.a. schwungvoll, tatkräftig, munter) und Niedergeschlagenheit (14 Items, u.a. verzweifelt, traurig, hilflos, hoffnungslos) erfassen (Sacham, 1983; Biehl & Landauer, 1975; McNair et al., 1971).

#### 2.3.2. Zytokinkonzentrationen in Serum und Zervixsekret

Zur Prüfung der inflammatorischen Aktivität wurden die unter 1.4. bereits vorgestellten Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17 lokal und systemisch bestimmt.

##### Probenentnahme Serum

Die Messung der hämatogenen Zytokine erfolgte zu jedem Messzeitpunkt mit Hilfe einer venösen Blutentnahme, die gemäß den medizinischen Standards durchgeführt wurde. Hierfür wurden Butterflysicherheitskanülen (Safety-Multifly-Sets) verwendet und jeweils zwei Serum-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) á 10 ml befüllt. Diese Monovetten wurden unmittelbar nach jeder Entnahme für 10 Minuten bei 3500 g (Erdbeschleunigung) mit einer „Hettich Universal 1200“-Zentrifuge (Max. 4000 / min) und einem Einsatz für 4 × 100 g zentrifugiert. Direkt im Anschluss wurde das gewonnene Serum zu je 1 ml in Eppendorfgefäße (Protein Lobind für 1,5 ml; Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) aliquotiert und bei -80°C bis zur endgültigen Auswertung tiefgefroren.

Die endgültigen Auswertungen der Serumproben erfolgten zusammen mit den entsprechenden zervikalen Proben im Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Gießen und werden weiter unten unter „Biochemische Analysen“ erläutert.

##### Probenentnahme Zervixsekret

Analog zu den hämatogenen Zytokinen wurden die gleichen Zytokine (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17) auch lokal im Zervixsekret gemessen. Diese Messung erfolgte entsprechend einer Methode, die bereits in mehreren Studien

beschrieben wurde (Crowley-Nowick et al., 1997; Hildesheim et al., 1998; 1999; Rohan et al., 2000). Um zervikales Sekret zu gewinnen, wurde entsprechend dieser Studien zunächst wie bei einem gynäkologischen Vorsorgeabstrich ein zweiblättriges Spekulum vaginal eingeführt und die Portio eingestellt. Die Sammlung des Zervixsekrets erfolgte dann über kleine, stark saugfähige, dreieckige Schwämmchen (Merocel-Schwämmchen, Medtronic Ophthalmics, Technomed Technology Baesweiler, Deutschland), die mit Hilfe einer langen, anatomischen Pinzette und ohne Berührung der Vaginalwände, direkt in die zervikale Öffnung, druckfrei eingeführt wurden. Anschließend verblieb jedes Schwämmchen für eine Minute in dieser Position, um Zervixsekret aufnehmen zu können. Danach wurde es entfernt, in ein Eppendorfgefäß (Protein Lobind für 1,5 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) gegeben und auf Eis gelagert. Anschließend wurde der Vorgang mit einem zweiten Schwämmchen wiederholt.

Das erste Schwämmchen diente dabei der Entfernung von älterem Zervikalschleim, um sicherzustellen, dass nur frisches Sekret vom zweiten Schwämmchen aufgenommen wurde. Nur dieses zweite Schwämmchen wurde dann für die weitere Analyse verwendet. Somit wurden gleiche, standardisierte, lokale Untersuchungsbedingungen für alle Probandinnen und alle Messzeitpunkte geschaffen.

### **Probenaufbereitung Zervixsekret**

Beide Schwämmchen wurden unmittelbar nach Entnahme in den beschriebenen Eppendorfgefäßen gelagert. Diese waren bereits in der Vorbereitungsphase (also vor Probenentnahme) mittels einer Präzisionswaage (AT261 DeltaRange von Mettler Toledo 60 g) gewogen worden, um das Leergewicht der Gefäße zu bestimmen. Im Anschluss wurden die Proben in den Gefäßen erneut mit dieser Waage gewogen (Gesamtgewichtsbestimmung) und danach bis zur weiteren Analyse bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

Das Wiegen war notwendig, um durch Abzug des Leergewichts vom Gesamtgewicht, das Gewicht von Schwamm und aufgenommenem Sekret zu ermitteln. Davon wurde dann das Mittelgewicht von zehn trockenen Schwämmchen (0,06 g) abgezogen, um so das reine Sekretgewicht zu berechnen. Dieses Vorgehen entspricht dem vorangegangener Studien (Panicker et al., 2007; Lieberman et al., 2008; Hildesheim et al., 1999). Unter Verwendung dieses Sekretgewichts konnte dann, wie in vorherigen Studien (Lieberman et al., 2008; Rohan et al., 2000; Hildesheim et al., 1999; 1998), ein

Dilutionsfaktor folgendermaßen errechnet werden: 
$$\frac{(\text{Sekretgewicht} + \text{Puffergewicht})}{\text{Sekretgewicht}}$$

Das reine Sekretgewicht war aus den vorher beschriebenen Berechnungen bekannt. Das Gewicht des Puffers wurde mittels Multiplikation von Puffervolumen und Pufferdichte berechnet:  $0,250 \text{ ml Puffer} \times 1,005 \text{ g/ml (Dichte des Puffers)} = 0,25125 \text{ g}$ .

Über diesen Dilutionsfaktor wurden später die endgültigen Zytokinkonzentrationen ermittelt (vgl. hierzu auch Abschnitt Biochemische Analysen).

### **Probenextraktion Zervixsekret**

Nach Beendigung aller Probenentnahmen wurde für die weitere Analyse der zervikalen Zytokinkonzentrationen das eingefrorene Sekret aus den Schwämmchen extrahiert.

Dafür wurden diese in 250  $\mu\text{l}$  Puffer (bestehend aus 50  $\mu\text{M}$  HEPES (pH 7,5), 150  $\mu\text{M}$  NaCl, 1  $\mu\text{M}$  EDTA, 25  $\mu\text{M}$  EGTA 0,1  $\mu\text{M}$   $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 1  $\mu\text{M}$  NaF, 0,1% Tween 20, 10% Glycerol und 1% (3 $\mu\text{g}$ ) FCS) für 16 Stunden bei 4°C inkubiert (siehe Lieberman et al., 2008). Im Anschluss wurden die Proben in Filtergefäßen (Costar® Spin-X® Centrifuge Tube Filters, Porengröße 0,22  $\mu\text{m}$ ; Corning Incorporate, New York, USA) für 15 Minuten bei 4° und 16000 g (Erdbeschleunigung) zentrifugiert (Eppendorfzentrifuge „5804R“). Jeweils 3  $\mu\text{l}$  des daraus erhaltenen Lysats wurden zur Bestimmung potentieller Blutkontaminationen auf Siemens Hemastix (REF 2816A; Skaleneinteilung: none / trace / + / ++ / +++ / makro) pipettiert (Lieberman et al, 2008; Hildesheim et al., 1998; 1999). Anschließend wurde das restliche Lysat vollständig in Proben á 100  $\mu\text{l}$  aliquotiert und wieder bei -80°C bis zur biochemischen Analyse tiefgefroren.

### **Biochemische Analysen der Zervix- und Serumproben**

Die biochemischen Analysen zur Bestimmung der Zytokinkonzentrationen wurden im Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Gießen durchgeführt. Hierfür wurden die Proben aus Serum und Zervixsekret gemeinsam auf einer Platte, mittels BioPlex-8-Plex-Assays (Human Custom Multiplex Antibody Bead Kit, Catalog N: LCP0008, vormals Invitrogen jetzt LifeSciences, Carlsbad, USA), entsprechend der Herstellerempfehlung an einem Luminex-Gerät (BioPlex 100, Bio Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) unter Erstellung von Standardkurven ausgewertet. Von jeder Probe wurden zwei Replikate in zweifacher Verdünnung erstellt und das endgültige Ergebnis aus dem Mittelwert dieser, unter Berücksichtigung der Verdünnung, berechnet.

Zur Analyse der Zytokinkonzentrationen waren gemäß den Vorgaben des Herstellers folgende Arbeitsschritte notwendig:

Zuerst wurde das im Assay mitgelieferte Konzentrat (20-fach) der „Working wash solution“ mittels destillierten Wassers auf eine einfache Konzentration verdünnt. Anschließend wurden die Standards erstellt. Hierfür wurden diese mit 0,5 ml „Assay Diluent“ aus dem Kit sowie 0,5 ml des unter „Probenaufbereitung“ beschriebenen Puffers bestückt und dann die Standardreihe mit einer 1:3 Verdünnung (150 µl + 150 µl „Assay Diluent“ +150 µl Puffer) erstellt.

Danach wurde die „anti-cytokine bead stock solution“ vorbereitet, indem sie eine Minute kräftig durchmischt und mittels „Working wash solution“ auf eine Konzentration von 1:11 verdünnt wurde. Es folgte die Vorbereitung der 96-Well-Platte indem sie mit „Working wash solution“ befeuchtet und abgesaugt wurde.

Dann wurden 25 µl der vorbereiteten und erneut durchmischten „anti-cytokine bead solution“ in die Wells pipettiert und dieses anschließend zweimal mit „Working wash solution“ gewaschen, das heißt es wurden 175 µl „Working wash solution“ in die Wells gegeben, alles 30 Sekunden inkubiert und die Flüssigkeit anschließend abgesaugt.

Daraufhin wurden 50 µl Inkubationspuffer in alle Wells vorgelegt, dann 100 µl (verdünnter) Standard in die Standard-Well-Reihe, 50 µl Puffer + 50 µl „Assay Diluent“ in den Blank Well und 50 µl „Assay Diluent“ mit 50 µl der zu messenden Proben in die Proben-Wells geben. Anschließend wurde die Platte bei 500-600 rpm für zwei Stunden auf dem Schüttler inkubiert. Als nächstes folgte ein dreimaliger Waschvorgang (wie bereits beschrieben).

Danach wurde die „Detection Antikörper Arbeitslösung (Biotinilated)“ 1:11 mittels „Biotin Diluent“ verdünnt und 100 µl hiervon in alle Wells pipettiert. Anschließend wurde die Platte erneut eine Stunde geschüttelt und dann wieder zweimal mit 175 µl „Working wash solution“ gewaschen.

Es folgte die Zugabe von 100 µl „Streptavidine-Phycoerythrine-Lösung“ (die zuvor mittels „Streptavidine-RPE-Diluent“ auf 1:11 verdünnt worden war) in alle Wells. Danach wurde die Platte erneut am Schüttler für 30 Minuten inkubiert und dreimal gewaschen.

Zum Abschluss wurden noch einmal 100 µl der „Working wash solution“ in alle Wells pipettiert, diese am Schüttler für drei Minuten (500-600 rpm) inkubiert und unmittelbar im Anschluss mittels BioPlex 100 gemessen. Dieses Vorgehen entspricht den Vorgaben des Herstellers. Die daraus ermittelten Werte der Serumproben wurden dann unmittelbar für die statistische Auswertung verwendet, die Werte der zervikalen Proben

wurden dagegen noch, wie weiter oben bereits erläutert, mit einem Dilutionsfaktor multipliziert, um die endgültigen Konzentrationen zu erhalten.

### **2.4. Kontrolle potentieller Störvariablen**

Das Immunsystem kann sehr empfindlich auf verschiedenste Reize reagieren und auch das psychische Befinden kann durch äußere Einflüsse verändert werden. Es wurden daher verschiedene Maßnahmen ergriffen, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch diese Störfaktoren möglichst zu minimieren und zu kontrollieren. Eine davon war die Anwendung der unter 2.2.2. bereits beschriebenen Ein- und Ausschlusskriterien, darüber hinaus waren jedoch noch weitere Kontrollmaßnahmen notwendig.

#### **2.4.1. Zirkadiane Rhythmik der Zytokinsekretion**

Dass die Zytokinausschüttung (ebenso wie die Kortisolsekretion) tageszeitlichen Schwankungen unterliegt, ist bereits hinlänglich bekannt (Cutolo et al., 2003; 2006; Vgontzas et al., 2005; Bergmann & Deinzer, 2008). Sie zeigt maximale Konzentrationen in den Nachtstunden, die zum Morgen hin abfallen, während zugleich der Cortisolspiegel ansteigt. In der Mittagszeit erfolgt eine leichte Erhöhung der Zytokinspiegel mit einem Plateau in den Nachmittagsstunden, dem erst am Abend ein erneuter Anstieg folgt. Um zu vermeiden, dass durch diese Tagesschwankungen die Untersuchungsergebnisse beeinflusst werden, wurden alle Probenentnahmen nachmittags zwischen 16 und 19 Uhr und bei jeder einzelnen Probandin immer zur gleichen Uhrzeit durchgeführt (Deinzer & Tinneberg, 2008).

#### **2.4.2. Temporäre Einflüsse von Verhalten auf das Immunsystem**

Auch verschiedene Verhaltensweisen, insbesondere Rauchen, können das Immunsystem und damit die Zytokinsekretion (auch zervikal) beeinflussen (Lieberman et al., 2008; Ohsawa et al., 2005; Halvorsen et al., 2007; Hastie et al., 2008). Daher wurden Probandinnen, die mehr als fünf Zigaretten täglich rauchten, von der Studie ausgeschlossen (siehe auch 2.2.2). Ebenso können Sport, Alkoholkonsum Nahrungsaufnahme, Koffein und Teein sowie der Schlaf kleine, temporäre Änderungen der Immunitätslage bewirken (Suzuki et al., 2002; Kasapis et al., 2005; Surghiyama et al., 2001; Ritter et al., 2005; Szabo et al., 2007; Crews et al., 2006; Main et al., 2010; Bird et al., 2008). Um solche Störfaktoren zu vermeiden, erhielten die Probandinnen

daher Instruktionen und Verhaltensregeln, die sie vor jeder Probenentnahme beachten sollten.

So wurden sie dazu instruiert, ab 24 Stunden vor jedem Termin keinen Alkohol mehr zu sich zu nehmen und keine sportlichen Betätigungen durchzuführen. Weiterhin wurden sie gebeten, ab vier Stunden vor jedem Termin nicht mehr zu schlafen, zu essen, zu rauchen und keine koffein- bzw. teeinhaltenen Getränke zu sich zu nehmen.

### **2.4.3. Einflüsse auf das lokale Zytokinmilieu**

Um störende Einflüsse auf das lokale Zytokinlevel, vor allem durch lokale Infektionen (Lieberman et al., 2008), zu minimieren und zu kontrollieren, wurde an einem Voruntersuchungstermin ein Abstrich auf Chlamydien durchgeführt. Dieser wurde am Institut für medizinische Mikrobiologie der Universität Gießen mittels PCR-Verfahren ausgewertet. Positiv getestete Probandinnen (n= 1) wurden ausgeschlossen. Zusätzlich wurde von jeder Probandin eine Urinprobe mittels Urinstick (Roche Combur 10 Test M Cobas) auf Anzeichen einer möglichen Harnwegsinfektion (Leukozyten, Hämoglobin, Eiweiß, Nitrit) untersucht. Auch hier führten positive Ergebnisse zum Studienausschluss.

Des Weiteren wurde bei dem Voruntersuchungstermin ein vaginaler Ultraschall durchgeführt. Hierdurch wurde sichergestellt, dass keine sichtbaren Veränderungen an Gebärmutter oder Eierstöcken vorlagen, die sich störend hätten auswirken können. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden der entsprechenden Probandin auf Wunsch mitgeteilt.

Da es durch Geschlechtsverkehr zu Irritationen der Vaginalschleimhaut und damit zu Veränderungen im lokalen Zytokinmilieu im Vaginal- und Cervicalbereich kommen kann (Jiwakanon et al., 2011; Madej et al., 2012), wurden die Probandinnen instruiert, ab drei Tage vor jeder Probenentnahme hierauf vollständig zu verzichten.

Zusätzlich wurden sowohl bei dem Voruntersuchungstermin als auch bei allen weiteren Untersuchungsterminen im unmittelbaren Anschluss an die Probenentnahme bzw. dem Ultraschall ein Hygieneabstrich durchgeführt und der pH-Wert erfasst, um eine akute genitale Infektion mit Einfluss auf das Zytokin- und das mikrobakterielle Milieu erkennen zu können (Cauci et al., 2003). Dieser Abstrich wurde unter Verwendung von Spekula mit einem „Nerbe Plus Dacron Tupfer mit Amies-Transportmedium“ von der Portiooberfläche entnommen. Anschließend wurde er dem Institut für medizinische Mikrobiologie Gießen zugeschickt, das damit Kulturen auf speziellen Nährmedien

angelegte, zeitnah auswertete und das Ergebnis an die Studienleitung übermittelte. Nach Entfernung der Spekola wurde anhand der darauf zurückgebliebenen Sekretreste der pH-Wert mittels „pH indicator strip (Messbereich pH 4,0-7,0)“ der Firma Merck abgelesen und notiert.

### **2.4.4. Allgemeiner körperlicher Gesundheitszustand**

Ein reduzierter Gesundheitszustand und verschiedenste Medikamente oder Impfungen können sowohl systemische als auch lokale Zytokinspiegel verändern (Minić et al., 2009; Brydon et al., 2009).

Um diese Störfaktoren auszuschließen, wurden daher mögliche aktuelle oder chronische Erkrankungen sowie eine derzeitige oder kürzlich zurückliegende Medikamenteneinnahme oder Impfung anamnestisch erfragt und im positiven Falle anhand der Ein- und Ausschlusskriterien weiterverfahren. Probandinnen, die zum Zeitpunkt ihrer Voruntersuchung an einem temporären Infekt litten, wurden erst bei Beschwerdefreiheit im nächsten Zyklus eingeschlossen. Probandinnen, die an chronischen Erkrankungen litten, die temporäre Veränderungen des Immunsystems verursachen können, wurden nicht in die Studie eingeschlossen.

Zusätzlich wurde bei jeder Probandin beim Voruntersuchungstermin das C-reaktive Protein (CRP) bestimmt (siehe auch 2.5. Untersuchungsablauf), um eine akute oder chronische Entzündung auszuschließen. Dies erfolgte über eine venöse Blutentnahme, identisch der unter 2.3.2. vorgeschriebenen Methode. Die Serumproben wurden mittels PEG (Polyethylenglycol) -verstärktem immun-turbidimetrischem Assay nach Heidelberger und Kendall, in den Modifikationen von Hellsing (Heidelberger & Kendall, 1935 a; b; c; Hellsing, 1972), im Zentrallabor der Universität Gießen ausgewertet. Verwendet wurde dafür das System Adiva 1650 / 1800 von Bayer. Die angegebene Methode erfasst einen Messbereich von 0,5 – (19,5 – 20,5) mg/dl. Hierbei wird mittels Antiseren eine Antigen-Antikörper-Komplexbildung hervorgerufen und der Niederschlag turbidimetrisch bei 340 nm und 694 nm gemessen.

Im Falle einer akut notwendigen Medikamenteneinnahme, einer akuten Erkrankung oder sonstiger gesundheitlicher Beschwerden im Untersuchungszeitraum wurden die Probandinnen gebeten, die Studienleitung darüber zu informieren, um diese Effekte bei der Datenauswertung berücksichtigen zu können.

Im mehreren Studien konnte zudem der Einfluss des Body Mass Index (BMI) auf die inflammatorische Aktivität nachgewiesen werden (Shelton & Miller, 2010; 2011;

Benson et al., 2009; Hamer et al., 2009; Puder et al., 2006). Daher wurde der BMI jeder Teilnehmerin erfasst, um dies bei der Datenauswertung berücksichtigen zu können.

Psychischer Stress kann ebenfalls die Immunaktivität beeinflussen (Mahbub et al., 2011; Brydon et al., 2009). Daher wurde zu Studienbeginn mittels eines Fragebogens zu chronischem Stress (TICS; siehe hierzu 2.4.5.) ermittelt, ob und wie weit die Probandinnen aktuell oder kürzlich psychisch belastet waren. Da einige psychische Erkrankungen mit veränderten Zytokinspiegeln assoziiert sind, wurden diese anamnestisch erfragt und somit kontrolliert bzw. führten bei Erfüllen der Ausschlusskriterien zum Studienabbruch.

### **2.4.5. Einflüsse auf die psychische Befindlichkeit**

Chronischer Stress kann das psychische Befinden beeinflussen (Agid et al., 2000; Dalla et al., 2011; Brydon et al., 2009). Um solche Einflüsse zu kontrollieren, wurde daher am Voruntersuchungstermin von den Probandinnen das Trierer Inventar zum chronischen Stress (TICS) ausgefüllt. Dieser Fragebogen misst die „persönlichen Bewertungen von Belastungen“ (Schulz et al., 2004). Er bezieht sich dabei auf den Zeitraum der letzten drei Monate. Für die statistische Auswertung wurde die „Screening Scala zum chronischen Stress“ (SSCS, Schulz et al., 2004) verwendet. Diese wird aus insgesamt 12 Items des TICS gebildet, die aus den fünf Unterskalen chronische Besorgnis, arbeitsbezogene und soziale Überlastung, Überforderung und Mangel an sozialer Anerkennung entnommen sind (Schulz et al., 2004).

Um Verzerrungen und äußere Einflüsse während der Messung der psychischen Befindlichkeit zu vermeiden, wurden Probandinnen mit aktueller psychiatrischer Erkrankung/Therapie und/oder mit aktueller oder zurückliegender neurologischer Erkrankung ausgeschlossen. Auch Probandinnen, die sich aktuell in Psychotherapeutischer Behandlung befanden oder antidepressive Medikamente einnahmen, wurden nicht zur Teilnahme an der Studie zugelassen. Eine zurückliegende psychische Erkrankung oder Behandlung wurde erfragt und festgehalten (n= 3) und somit kontrolliert.



### **2.4.6. Ovulationsprüfung und Zykluseinteilung**

Der menstruelle Zyklus ist die Grundlage der psychischen und inflammatorischen Veränderungen. Zudem ist eine Ovulation notwendig, um eine sichere Beurteilung der Zyklusphase und damit auch eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Probandinnen zu ermöglichen. Daher wurden bei allen Probandinnen zu jeder Messung die Hormone Progesteron, Östradiol, FSH und LH bestimmt. Dafür wurden an jedem Messzeitpunkt, von den für die systemischen Zytokinmessung vorgesehenen Serumproben, je 2 ml Serum abgenommen und bei -20°C gelagert. Nach Abschluss der Studie wurden diese dann dem Diagnostikzentrum Ulm unter der Leitung von Privatdozent Dr. med. Susa zugesandt. Dort wurden die Proben mittels Mikropartikel Immunoassay (MIA) für die quantitative Bestimmung von Östradiol 2 (E2), LH, FSH und Progesteron auf einem Architect-Plus-Analysegerät (Architect-Plus-ci8200, Abbott GmbH, Wien) ausgewertet. Anschließend wurden die Hormonverläufe von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Rudolf Tinneberg und Herrn Dr. med. Frank Oehmke, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Universität Gießen, analysiert und über die jeweiligen Maxima von Östradiol, FSH und LH sowie des lutealen Progesteronanstiegs das Vorhandensein einer Ovulation überprüft. Nur Probandinnen mit einer nachgewiesenen Ovulation wurden in die weitere Datenanalyse eingeschlossen.

### **2.5. Untersuchungsablauf**

Die Studie wurde durchgeführt in enger Zusammenarbeit des Instituts für Medizinische Psychologie der Universität Gießen unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Renate Deinzer und der Betreuung von Frau Dr. Ulrike Weik, dem Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Gießen unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Trinad Chakraborty und Mitarbeit von Herrn Dr. Svetlin Tchatalbachev und der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Gießen und Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Rudolf Tinneberg und der Mitarbeit von Herrn Dr. med. Frank Oehmke.

Alle Termine der Probandinnen fanden in den Räumen der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe Gießen statt und alle gynäkologischen Untersuchungen und Probenentnahmen wurden von Herrn Dr. med. Frank Oehmke durchgeführt oder fanden unter seiner Supervision statt.

### **2.5.1. Voruntersuchung**

Mit allen interessierten, potentiellen Probandinnen wurde nach der ersten telefonischen Kontaktaufnahme, sofern die hierbei anamnestisch erfragten Ein- und Ausschlusskriterien (siehe 2.2.2.) dies zuließen, ein Termin für die Voruntersuchung festgelegt. Bei diesem Voruntersuchungstermin wurde die Probandin zuerst schriftlich über den Inhalt der Studie sowie die Art und die Risiken der Probenentnahmen aufgeklärt. Anschließend erfolgte ein Aufklärungsgespräch auf Grundlage der schriftlichen Aufklärung. Hierbei wurde der Probandin die Möglichkeit gegeben, Fragen zu stellen. Des Weiteren wurden die Teilnahmebedingungen und die Verhaltensregeln für die Probenentnahmen besprochen. Außerdem konnte die Probandin vermerken, ob sie im Falle eines auffälligen Untersuchungsergebnisses davon Kenntnis erhalten möchte.

Nach freiwilliger Einwilligung zur Studienteilnahme mittels Unterschrift wurde jeder Teilnehmerin ein Zahlencode zugewiesen, um die Daten zu pseudonymisieren (siehe hierzu auch Kapitel 2.5.5.). Anschließend wurden die bereits telefonisch erfragten Ein- und Ausschlusskriterien in einem anamnestischen Interview erneut überprüft, die durchschnittliche Zykluslänge ermittelt und die Ergebnisse schriftlich festgehalten.

Danach erfolgte eine standardisierte Einweisung für die Bearbeitung des Fragebogens zum chronischem Stress (TICS) (siehe auch 2.4.5.), der im Anschluss von den Probandinnen ausgefüllt wurde. Es folgte die Blutentnahme für die Bestimmung des CRPs (vgl. hierzu auch 2.4.4.) und die Abgabe einer Mittelstrahlurinprobe (vgl. auch 2.4.3.) durch die Probandin. Zum Abschluss des ersten Termins wurde die gynäkologische Einganguntersuchung mit Ultraschall, Chlamydienabstrich und vaginaler pH-Wert-Messung, wie unter 2.4.3. beschrieben, durchgeführt. Abschließend wurden die Probandinnen dazu instruiert, am ersten Tag ihrer nächsten Menstruation die Studienleitung telefonisch zu kontaktieren.

### **2.5.2. Messzeitpunkte**

Am ersten Tag der der Voruntersuchung folgenden Menstruationsblutung (dies entspricht dem ersten Zyklustag) kontaktierten die Probandinnen, wie angeleitet, die Studienleitung und die weiteren Termine wurden, in Abhängigkeit von der erwarteten Blutungs- und Zykluslänge, festgesetzt. In Abbildung 2 ist eine Übersicht über die zeitliche Abfolge der fünf Messzeitpunkte (MZP) Follikulär, Ovulation und Luteal 1-3, bezogen auf einen 28 Tage Zyklus dargestellt.

Wie aus der Abbildung ersichtlich, erfolgte der erste Termin (Follikulär) in einem Zeitraum von ein bis vier Tagen nach dem vollständigen Ende dieser Blutung. Der zweite Termin (Ovulation) fand am Zeitpunkt der berechneten Ovulation oder an einem der beiden Tage danach, also zur Zyklusmitte, statt. Der dritte Termin (Luteal 1) wurde für den neunten oder achten, der vierte Termin (Luteal 2) für den vierten bis sechsten und der letzte Termin (Luteal 3) für den dritten bis ersten Tag, vor der nächsten erwarteten Menses, festgelegt. Bei erneutem Einsetzen der Menstruationsblutung und damit Beginn des nächsten Zyklus wurde die Studienleitung von der Versuchsteilnehmerin telefonisch darüber informiert, so dass die genaue Zykluslänge bestimmt werden konnte.

	Zyklus im Untersuchungszeitraum																											
Tag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Zyklusphase	follikulär													Ovulation	luteal													
Messzeitpunkte								1								2						3				4	5	
								(1-4 Tage nach Menses)								Zyklusmitte						(9-8 Tage vor Menses)				(6-4 Tage vor Menses)	(3-1 Tage vor Menses)	

**Abbildung 2:** Graphische Darstellung des zeitlichen Ablaufs der fünf MZP (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3), dargestellt für einen 28 Tage Zyklus: 1. MZP Follikulär, 1-4 Tage nach Ende der Menses; 2. MZP Ovulation; 3-5. MZP Luteal 1-3 (9-8, 6-4 bzw. 3-1 Tage vor der erwarteten nächsten Menses) (aus Deinzer & Tinneberg, 2008).

### 2.5.3. Verfahren bei Zyklusunregelmäßigkeiten

In den Fällen (n= 6), in denen sich die dem Untersuchungszyklus folgende Menstruationsblutung verzögerte, wurden nach dem letzten Termin zusätzliche Termine für weitere Probenentnahmen vereinbart und zwar so lange, bis die nächste Regelblutung einsetzte. Daher wurden bei vier Probandinnen insgesamt sechs und bei zwei insgesamt sieben Messungen durchgeführt. Für die statistische Auswertung wurden bei diesen Probandinnen der erste sowie die vier letzten Messzeitpunkte verwendet. Da der Abstand von Ovulation zu Blutung (nicht jedoch die follikuläre Phase) konstant ist, wurde so sichergestellt, dass die Entnahmezeitpunkte mit denen der Probandinnen mit normal langem Zyklus vergleichbar sind. Auch die genaue Analyse

und Zykluseinteilung mittels der gemessenen Hormonkonzentrationen der einzelnen Probandinnen bestätigte die Richtigkeit dieses Verfahrens. Im Falle einer vorzeitigen Blutung (n= 11) mit nur vier möglichen Messungen (da nach der vierten Messung bereits die Blutung einsetzte) zeigte die Analyse der Hormonkonzentrationen eine fehlende Messung zum Zeitpunkt der Ovulation, d. h. das Progesteron war schon deutlich angestiegen. Daher wurde in diesen Fällen der zweite Messzeitpunkt (Ovulation) statistisch als dritter Messzeitpunkt (Luteal 1), der dritte (Luteal 1) als vierte (Luteal 2) und der vierte als fünfter Messzeitpunkt (Luteal 3) gewertet. So wurde sichergestellt, dass von jeder Probandin Proben aus der folliculären Phase und aus der Lutealphase gewonnen wurden. Alle Messungen erfolgten, wie oben bereits erwähnt, zwischen 16 und 19 Uhr und für jede Probandin jeweils zu einer konstanten Uhrzeit.

### **2.5.4. Ablauf eines Messzeitpunktes**

Der Ablauf einer Messung war für alle Messzeitpunkte identisch. Zunächst wurden vor dem Eintreffen der Probandin sämtliche Materialien, Eis für die Kühlung der Proben und die beschrifteten Probengefäße bereitgelegt und die leeren Gefäße für die Probenentnahme des Zervixsekrets gewogen und das Gewicht notiert.

Nach Eintreffen der Probandin erhielt sie zuerst eine Einweisung für die Bearbeitung des POMS-Fragebogens (siehe 2.3.1.) und füllte diesen aus. Anschließend erfolgte die Entnahme des Zervixsekrets in der in 2.3.2. beschriebenen Art und Weise. Danach wurden der Hygieneabstrich und die Messung des pH-Wertes durchgeführt (wie unter 2.4.3. beschrieben).

Es folgte die Entnahme der Blutproben für die Hormon- und die systemische Zytokinbestimmung (siehe hierzu 2.4.6. bzw. 2.3.2.). Zum Abschluss suchte die Probandin die Toilette auf, um eine Urinprobe abzugeben (2.4.3.), übergab diese der Versuchsleitung und verließ danach den Untersuchungsraum wieder.

### **2.5.5. Datenschutz**

Zur Sicherung des Datenschutzes wurde jeder Teilnehmerin nach Unterschrift der Einverständniserklärung im Rahmen der Voruntersuchung eine Nummer zugewiesen und alle Proben, Materialien und sämtliche Unterlagen wie Fragebögen und Untersuchungsprotokolle mittels des Nummerncodes pseudonymisiert. Nur in dieser pseudonymisierten Form wurden die Proben an die beteiligten Institute zwecks Weiterverarbeitung weitergegeben. Die daraus gewonnenen (pseudonymisierten) Daten

wurden für die Bearbeitung und Auswertung in die passwortgeschützten Rechner des Institutes für Medizinische Psychologie der Universität Gießen eingegeben.

Die Einverständniserklärungen, die als einzige Unterlagen personenbezogene Angaben enthalten sowie der Schlüssel für die Pseudonymisierung lagern in Papierform eingeschlossen im Institut für Medizinische Psychologie der Universität Giessen, in einem zugangsgeschützten Raum mit limitierter Zugangsberechtigung. Sämtliche schriftlichen Originaldaten werden ebenfalls in Papierform in diesem Raum aufbewahrt. Somit wurden keine persönlichen Daten der Probandinnen in einer zentralen Datenbank gespeichert. Die Probandinnen wurden vor Studienbeginn ausführlich über den Umgang mit ihren Angaben aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis für eine Weitervermittlung und Veröffentlichung der pseudonymisierten Daten ab.

### **2.5.6. Maßnahmen zur Gewährleistung der Probandensicherheit**

Zur Gewährleistung der Probandensicherheit wurden alle medizinischen Eingriffe nach höchstem Standard durchgeführt. Im Falle eines pathologischen Befundes des vaginalen Ultraschall, des Hygiene- oder Chlamydienabstrichs oder des Urinsticks, wurden die Probandinnen davon in Kenntnis gesetzt, sofern sie in der Einverständniserklärung den Wunsch hierzu angegeben hatte. Den Betroffenen wurde die Empfehlung gegeben einen Facharzt aufzusuchen.

## **2.6. Statistische Auswertung**

Für die statistische Auswertung erfolgte zunächst die Testung auf Normalverteilung der Daten mittels des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungs-Tests. Nicht normalverteilte Daten wurden vor weiteren Analysen log-transformiert.

Zur Überprüfung, ob die immunologischen Parameter sowie die psychische Befindlichkeit signifikante Schwankungen über den Zyklus aufweisen, wurden Varianzanalysen mit Messwiederholung (fünf Messzeitpunkte) durchgeführt. Aufgrund potentieller Zusammenhänge zwischen Zytokinkonzentrationen und dem BMI wurde diese Variable in ersten Analysen als Kovariate mit aufgenommen. Das gleiche gilt für die Blutkontamination, die 60% der Schwämmchen betraf. Diese Prüfung ergab keinerlei Effekte des BMIs sowie der Blutkontamination, so dass die endgültigen Analysen ohne diese Kovariaten durchgeführt wurden. Im Folgenden werden Greenhouse-Geisser korrigierte Statistiken zusammen mit dem partiellen  $\eta^2$  als Maß für

die Effektstärke angegeben. Da sich Varianzanalysen als relativ stabil auch bei nicht vollständigem Einhalten der Verteilungsannahme gezeigt haben (Rudolf und Müller, 2004), eignen sie sich hier (unter Verwendung von logarithmierten Werten), trotz der in Ausnahmefällen nicht vorhandenen Normalverteilung der Variablen nach Logarithmierung.

Die Zytokinkonzentrationen wiesen eine Reihe fehlender Werte auf (siehe Ergebnisse). Aufgrund der Tatsache, dass Messwiederholungsanalysen nur diejenigen Fälle mit einbeziehen können, die einen vollständigen Datensatz aufweisen, wurde ein Imputationsverfahren angewandt, um den Ausfall von Versuchspersonen möglichst gering zu halten. Dabei wurden diese fehlenden Werte mit dem unteren Detektionslimit (Konzentration des geringsten Standards) geteilt durch die Wurzel von 2 ersetzt. Dieses Vorgehen wird von Schisterman et al. (2006) als Imputationsverfahren für log-transformierte Daten empfohlen und entspricht einem konventionellen Ansatz im Umgang mit fehlenden Werten (siehe auch Boomsma et al., 2009).

Zur Prüfung der Hauptfragestellung, ob und inwieweit Veränderungen der Stimmung (Zunahme der Skala Niedergeschlagenheit, Müdigkeit und Missmut bzw. Abnahme der Skala Tatendrang) zum Zyklusende mit Veränderungen der Konzentrationen der Zytokine einhergehen, wurden zunächst die Differenzwerte zwischen Messzeitpunkt fünf und Messzeitpunkt drei für die Zytokinkonzentrationen und die POMS-Skalen gebildet. Danach wurde über die Berechnung von Rangkorrelationen nach Spearman mit dem Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient (Spearman's rho ( $\rho$ )) der Zusammenhang dieser Veränderung überprüft.

Zur Prüfung der Nebenfragestellungen nach Zusammenhängen zwischen Entzündungsmediatoren (lokal und systemisch) und psychischer Befindlichkeit und zwischen lokalen und systemischen Entzündungsmediatoren selbst (zu den einzelnen Messzeitpunkten) wurden die einzelnen Zytokine im Blut und im Zervixsekret zu jeweils einem Messzeitpunkt mit sich selbst bzw. mit den entsprechenden POMS-Skalen, ebenfalls mittels Rangkorrelationen nach Spearman, korreliert.

Bei allen folgenden Methoden ist das Signifikanzniveau ( $p$ ) auf  $\alpha \leq 0,05$  (5%) festgelegt, Werte  $\leq 0,01$  gelten als hoch signifikant, bei Werten  $< 0,1$  aber  $> 0,05$  wird von einem Trend gesprochen. Es soll hier darauf hingewiesen werden, dass aufgrund des Pioniercharakters dieser Studie auf eine  $\alpha$ -Fehlerkorrektur bei multiplen Testungen verzichtet wird.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Test auf Normalverteilung

Zunächst wurde die Normalverteilung aller gemessenen Variablen mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungs-Tests überprüft. Dieser fiel in nahezu allen Fällen signifikant bis hoch signifikant ( $p \leq 0,05$  (5%) bzw.  $\leq 0,01$ ) aus. Es zeigte sich eine linkssteile Verteilung der Zytokine, Hormone und POMS-Skalen. Zur weiteren Datenanalyse wurden die Daten logarithmiert, wodurch die linkssteile Verteilung in eine Normalverteilung überführt werden konnte.

#### 3.2. Gesamtstichprobe

Insgesamt meldeten sich 198 interessierte Frauen zur potentiellen Studienteilnahme, um weitere Informationen bezüglich des Studienablaufes zu erhalten. Von diesen waren acht Personen auch nach wiederholten Versuchen telefonisch nicht zu erreichen. Nach einem telefonischen Gespräch wurde mit 87 der verbleibenden Frauen ein möglichst zeitnaher Termin für die Voruntersuchung vereinbart. Die häufigsten Gründe, warum eine Aufnahme in die Studie bei den anderen Interessentinnen nicht möglich war, waren:

- Einnahme hormoneller Kontrazeptiva (n= 23)
- Teilnahme nach weiteren Informationen nicht mehr erwünscht (n= 23)
- zeitlich nicht möglich (n= 21)
- Zyklusunregelmäßigkeiten (n= 15)
- Vorerkrankungen, die zum Ausschluss führten (n= 14)
- Einschlusskriterien werden nicht erfüllt (n= 6)
- sonstige (n= 1)

Von den 87 Probandinnen mit einem Vortermine konnten jedoch weitere 20 Teilnehmerinnen nicht in die Studie aufgenommen werden, weil:

- sie nicht zum vereinbarten Termin erschienen und auch telefonisch nicht mehr erreichbar waren (n= 7)
- die danach erwartete Monatsblutung nicht termingerecht einsetzte (n= 5)
- sie akut oder chronisch erkrankt waren (n= 3)
- sie nach dem Aufklärungsgespräch keine Teilnahme mehr wünschten (n= 3)
- aus privaten Gründen eine Teilnahme an der Studie zeitlich nicht mehr möglich war (n= 2)

Insgesamt nahmen damit 67 freiwillige, gesunde Teilnehmerinnen an der Studie teil. Von diesen mussten jedoch 18 Probandinnen, wegen anovulatorischer Zyklen oder starker Zyklusschwankungen, von der Datenauswertung ausgeschlossen werden (siehe auch 2.4.6.). Somit wurden für die statistischen Auswertungen letztlich die Daten von 49 Probandinnen verwendet.

Der Altersdurchschnitt lag bei dieser Stichprobe bei 24,47 Jahren, mit einer Standardabweichung (SD) von 3,60, einem Minimum (Min) von 20 Jahren und einem Maximum (Max) von 40 Jahren. Das Alter weist damit eine linkssteile Verteilung auf (Schiefe = 1,780). Der durchschnittliche BMI betrug 22,03 (SD = 2,364; Schiefe = 0,891) und der Mittelwert des TICS-Scores lag bei 18,04 (SD = 7,303; Schiefe = 0,478; (vgl. hierzu auch Tabelle 16 im Anhang).

Insgesamt drei Probandinnen waren früher wegen psychischer Erkrankungen in Behandlung gewesen, vier Probandinnen haben eine chronische Erkrankung und zehn Probandinnen leiden gelegentlich unter Heuschnupfen, zeigten jedoch während des Untersuchungszeitraums keine Symptome.

### **3.3. Deskriptive Darstellungen Hormone**

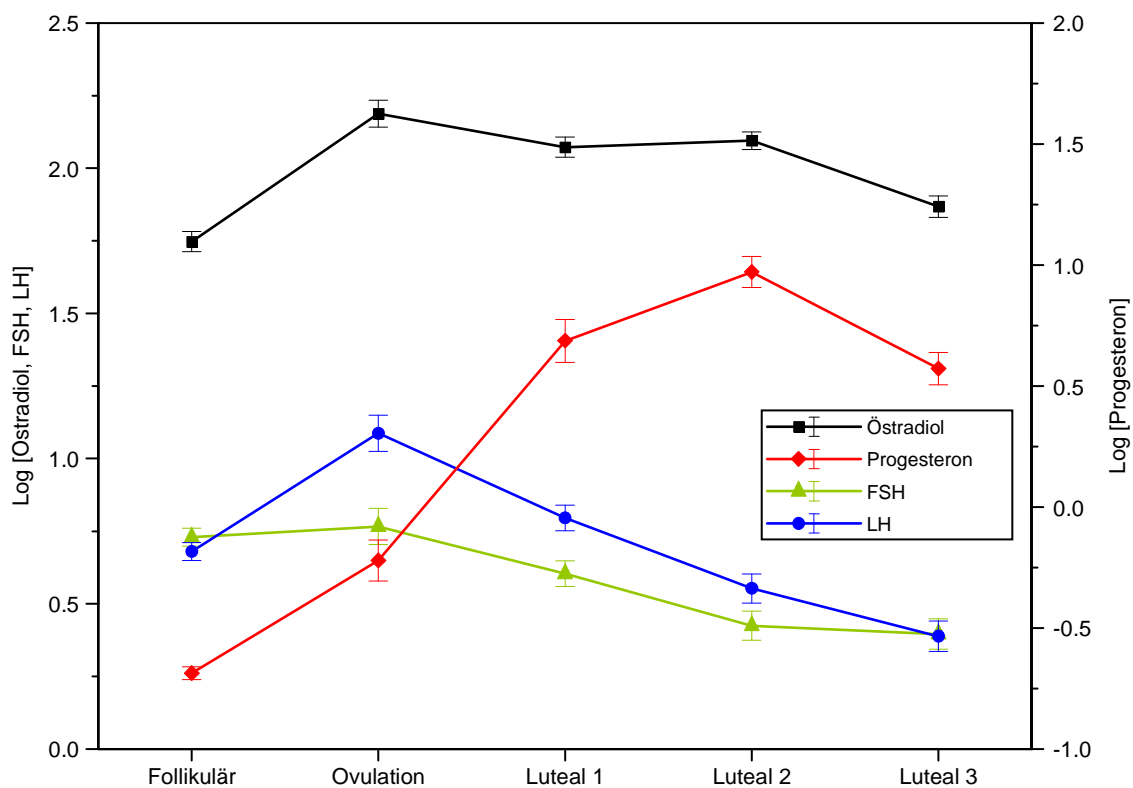
Im Folgenden werden die Ergebnisse der Messungen der Hormone Östrogen, Progesteron, LH und FSH deskriptiv dargestellt. Die graphischen Darstellungen zeigen Mittelwerte (M) und Standardfehler (SE) der Mittelwerte der logarithmierten (und damit normalverteilten) Daten. Median und Interquartilabstände der (nicht normalverteilten) Absolutwerte sowie die jeweiligen Stichprobengrößen (N) sind im Anhang dargestellt.



### 3. Ergebnisse

In Abbildung 3 sind die Mittelwerte und Standardfehler der logarithmierten Konzentrationen für die vier Hormone Östradiol, Progesteron, FSH und LH in ihrem zeitlichen Verlauf wiedergegeben. Mediane und interquartile Ränge der erfassten absoluten Konzentrationen aller Hormone zeigt die Tabelle 17 im Anhang.

Der Verlauf der einzelnen Hormone zeigt erwartungsgemäß die typische Form des Menstruationszyklus: bei Östradiol, FSH und LH mit höchsten Werten zur Ovulation (2. MZP), FSH und LH direkt danach abfallend, Östradiol dagegen auf einem Plateau verharrend. Progesteron hat dagegen die höchsten Konzentrationen am 4. Messzeitpunkt, also luteal.



**Abbildung 3:** Mittelwerte und Standardfehler der logarithmierten Konzentrationen von FSH, LH, Östradiol und Progesteron im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3. N=49 für die Messzeitpunkte Follikulär, und Luteal 1-3; N=38 für den Messzeitpunkt um die Ovulation, da 11 Probandinnen eine vorzeitige Blutung aufwiesen (siehe auch 2.5.3.).

### 3.4. Veränderungen über den Zyklus

Zunächst wurde geprüft, ob sich für die erfassten Parameter signifikante Veränderungen über den Zyklus nachweisen lassen. Hierfür wurden Varianzanalysen mit Messwiederholung (siehe 2.6.) durchgeführt.

#### 3.4.1. Psychische Veränderungen über den Zyklus

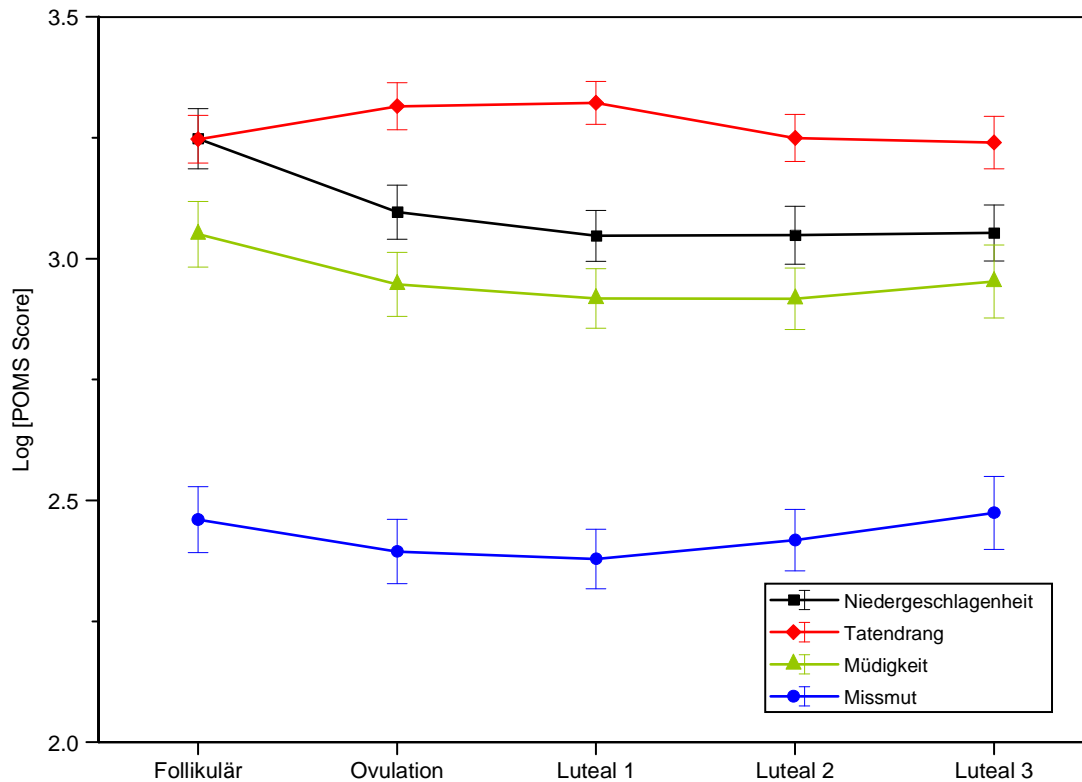
Um die zyklusassoziierten Veränderungen hinsichtlich der psychischen Parameter zu untersuchen, wurden Varianzanalysen für die POMS-Skalen berechnet. Aufgrund der linkssteilen Verteilung der Rohdaten wurden hierfür die logarithmierten Werte verwendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1:** Zeiteffekte in den POMS-Skalen Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3.

	<b>N</b>	<b>F-Wert (df<sub>z</sub>/df<sub>n</sub>)</b>	<b>η<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
<b>Niedergeschlagenheit</b>	38	1,256 (4/140)	0,035	0,293
<b>Tatendrang</b>	38	<b>3,009 (4/140)</b>	<b>0,079</b>	<b>0,034</b>
<b>Müdigkeit</b>	38	0,906 (4/140)	0,025	0,457
<b>Missmut</b>	38	0,642 (4/140)	0,018	0,622

Signifikante Werte sind fett markiert.

Eine deskriptive Darstellung des zeitlichen Verlaufs der vier POMS-Skalen (Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut) findet sich in Abbildung 4. Die absoluten Werte aller Studienteilnehmerinnen finden sich im Anhang in Tabelle 18.



**Abbildung 4:** Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten POMS-Skalen (Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut) im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3. N=49 für die Messzeitpunkte Follikulär, und Luteal 1-3; N=38 für den Messzeitpunkt um die Ovulation, da 11 Probandinnen eine vorzeitige Blutung aufwiesen (siehe auch 2.5.3.).

### 3.4.2. Veränderungen der systemischen Zytokine über den Zyklus

Tabelle 2 zeigt die Detektionsraten der systemischen Zytokinkonzentrationen. In die Messwiederholungsanalyse (vgl. Tabelle 3), zur Prüfung potentieller zeitlicher Veränderungen, gingen wie unter 2.6. beschrieben auch imputierte Werte ein, jedoch nur für diejenigen Frauen, die bereits vorher an mindestens drei Messzeitpunkten gültige Werte aufwiesen. Lagen bereits vorab weniger gültige Messungen vor, wurden die Probandinnen ausgeschlossen. Die 11 Probandinnen mit vorzeitiger Blutung (und daher nur vier Messzeitpunkten) konnten ebenfalls nicht in diese Datenanalyse eingeschlossen werden. Daher ist die Stichprobengröße für jedes Zytokin unterschiedlich und geringer als die Gesamtstichprobe.

### 3. Ergebnisse

**Tabelle 2:** Detektionsraten der systemischen Zytokine in % zu den einzelnen Messzeitpunkten.

	<b>Follikulär</b>	<b>Ovulation</b>	<b>Luteal 1</b>	<b>Luteal 2</b>	<b>Luteal 3</b>
<b>IL-1</b>	65	58	67	63	63
<b>IL-2</b>	86	79	78	73	78
<b>IL-4</b>	84	79	80	78	80
<b>IL-6</b>	65	76	67	61	55
<b>IL-8</b>	88	89	86	82	84
<b>IL-10</b>	84	76	78	76	76
<b>IL-12</b>	92	89	90	88	90
<b>IL-17</b>	73	76	76	71	78

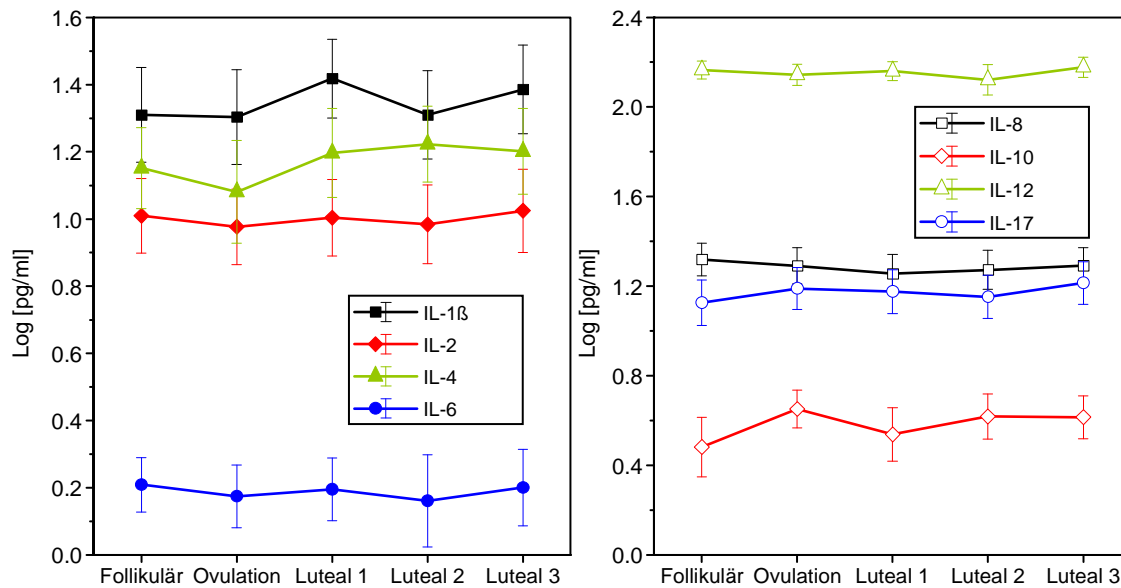
Die Angaben in % bezieht sich auf die Gesamtstichprobengröße (N= 49 für die Messzeitpunkte Follikulär und Luteal 1-3 und N= 38 für den Messzeitpunkt um die Ovulation).

Die Ergebnisse der Varianzanalyse für die hämatogenen Zytokine sind im Folgenden in Tabelle 3 und Abbildung 5 aufgeführt. Abbildung 5 stellt Mittelwerte und Standardfehler der systemisch gemessenen, log-transformierten Zytokine der entsprechenden Probandinnen dar.

**Tabelle 3:** Zeiteffekte in den systemischen Zytokinen im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3.

	<b>N</b>	<b>F-Wert (df<sub>z</sub>/df<sub>n</sub>)</b>	<b>η<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
<b>IL-1</b>	24	0,616 (4/92)	0,026	0,600
<b>IL-2</b>	29	0,158 (4/112)	0,006	0,907
<b>IL-4</b>	27	0,921 (4/104)	0,034	0,412
<b>IL-6</b>	25	0,104 (4/96)	0,004	0,952
<b>IL-8</b>	33	0,866 (4/128)	0,026	0,443
<b>IL-10</b>	28	2,193 (4/108)	0,075	0,122
<b>IL-12</b>	34	1,009 (4/132)	0,030	0,365
<b>IL-17</b>	30	0,644 (4/116)	0,022	0,552

### 3. Ergebnisse



**Abbildung 5:** Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten Konzentrationen der systemischen Interleukine 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 17 im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3 für die Probandinnen, die in die Messwiederholungsanalyse eingingen.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, zeigen sich keinerlei signifikante Effekte der Zeit auf den Konzentrationsverlauf der systemischen Zytokine. Betrachtet man die graphische Darstellung, so sieht man dementsprechend auch nur geringe Konzentrationsschwankungen der gemessenen Zytokine, im zeitlichen Verlauf über die fünf Messzeitpunkte. Die Mediane und Interquartilabstände der Absolutwerte für diese Auswertungen finden sich im Anhang in Tabelle 19.

#### 3.4.3. Veränderungen der lokalen, d. h. zervikalen Zytokine über den Zyklus

Ähnlich wie die systemisch gemessenen Zytokine, zeigen auch die im Zervixsekret erfassten Zytokinkonzentrationen eine linkssteile Verteilung und weisen eine Reihe von fehlenden Werten auf. Daher werden zunächst die Detektionsraten (Tabelle 4) dargestellt, die zugehörigen absoluten Konzentrationen und Stichprobengrößen finden sich im Anhang in Tabelle 20.

### 3. Ergebnisse

**Tabelle 4:** Detektionsraten der zervikalen Zytokine in % zu den einzelnen Messzeitpunkten.

	Follikulär	Ovulation	Luteal 1	Luteal 2	Luteal 3
<b>IL-1</b>	90	76	80	76	76
<b>IL-2</b>	90	95	88	78	86
<b>IL-4</b>	73	66	59	55	61
<b>IL-6</b>	100	97	100	92	98
<b>IL-8</b>	100	95	100	92	98
<b>IL-10</b>	100	95	100	90	98
<b>IL-12</b>	100	87	96	84	92
<b>IL-17</b>	92	76	88	80	69

Die Angaben in % bezieht sich auf die Gesamtstichprobengröße (N= 49 für die Messzeitpunkte Follikulär und Luteal 1-3 und N= 38 für den Messzeitpunkt um die Ovulation).

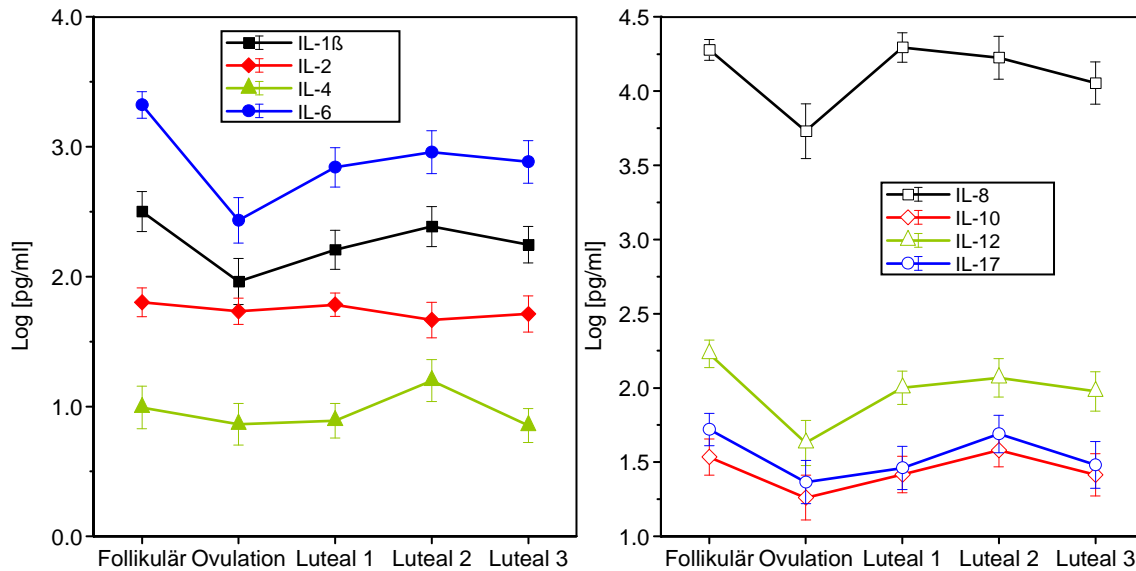
Um zu prüfen, ob sich bei den zervikalen Zytokinen signifikante Veränderungen über den Zyklus nachweisen lassen, wurden auch hier Varianzanalysen mit Messwiederholung durchgeführt. Auch hierbei wurden bei Probandinnen mit mindestens drei gültigen Messwerten fehlende Konzentrationen unterhalb des Detektionslimits ersetzt (siehe 2.6.), Probandinnen mit weniger Messwerten wurden von der Datenauswertung ausgeschlossen. Die 11 Probandinnen mit vorzeitiger Blutung sowie fünf Probandinnen, bei denen die Menge des gewonnenen Sekretes an einigen Messzeitpunkten für die Analyse zu gering war, wurden ebenfalls ausgeschlossen. Die Ergebnisse der Varianzanalysen finden sich in der folgenden Tabelle (Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Zeiteffekte in den zervikalen Zytokinen im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3.

	N	F-Wert (df <sub>z</sub> /df <sub>n</sub> )	η <sup>2</sup>	p
<b>IL-1</b>	29	2,126 (4/112)	0,071	0,108
<b>IL-2</b>	35	0,861 (4/136)	0,025	0,472
<b>IL-4</b>	24	1,034 (4/92)	0,043	0,377
<b>IL-6</b>	33	<b>4,928 (4/140)</b>	<b>0,133</b>	<b>0,002</b>
<b>IL-8</b>	33	<b>2,987 (4/128)</b>	<b>0,085</b>	<b>0,043</b>
<b>IL-10</b>	33	2,054 (4/128)	0,060	0,113
<b>IL-12</b>	33	<b>4,675 (4/128)</b>	<b>0,127</b>	<b>0,005</b>
<b>IL-17</b>	31	<b>2,168 (4/120)</b>	<b>0,067</b>	<b>0,091</b>

Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert.

Abbildung 6 zeigt die Mittelwerte und den Standardfehler der acht zervikal gemessenen Zytokinkonzentrationen der entsprechenden Probandinnen, im zeitlichen Verlauf über die fünf Messzeitpunkte. Die Mediane und Interquartilabstände der absoluten Werte finden sich im Anhang in Tabelle 20.



**Abbildung 6:** Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten, zervikalen Konzentrationen der Interleukine 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 17 im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3 für die Probandinnen, die in die Messwiederholungsanalyse eingingen.

### 3.5. Hauptfragestellung: Zusammenhang von Stimmungsveränderungen und Veränderungen der lokalen Zytokinkonzentrationen

Im Folgenden wurde geprüft, ob Veränderungen der Stimmung zum Zyklusende mit Veränderungen der lokalen Konzentrationen der Zytokine assoziiert sind. Wie unter 2.6. beschrieben, wurden dazu Rangkorrelationen der jeweiligen Differenzwerte berechnet. Wie aus Tabelle 6 ersichtlich, zeigen sich keine signifikanten Zusammenhänge der jeweiligen Differenzen.

### 3. Ergebnisse

**Tabelle 6:** Zusammenhänge zwischen psychischen Veränderungen und Veränderungen in den zervikalen Zytokinkonzentrationen, jeweils in der zweiten Zyklushälfte.

		$\Delta$ NIED	$\Delta$ TAT	$\Delta$ MÜD	$\Delta$ MISSM
$\Delta$ IL1- $\beta$	$\rho$	0,011	-0,112	0,168	-0,091
	p	0,955	0,548	0,367	0,625
	N	31	31	31	31
$\Delta$ IL-2	$\rho$	-0,190	0,006	0,055	-0,223
	p	0,267	0,973	0,752	0,192
	N	36	36	36	36
$\Delta$ IL-4	$\rho$	0,074	-0,294	0,346	-0,264
	p	0,749	0,196	0,124	0,247
	N	21	21	21	21
$\Delta$ IL-6	$\rho$	-0,247	0,063	-0,194	-0,218
	p	0,107	0,686	0,206	0,155
	N	44	44	44	44
$\Delta$ IL-8	$\rho$	0,046	-0,065	-0,009	-0,096
	p	0,767	0,674	0,953	0,536
	N	44	44	44	44
$\Delta$ IL-10	$\rho$	-0,003	-0,094	0,194	-0,256
	p	0,985	0,544	0,207	0,093
	N	44	44	44	44
$\Delta$ IL-12	$\rho$	-0,223	0,027	-0,019	-0,237
	p	0,167	0,868	0,907	0,141
	N	40	40	40	40
$\Delta$ IL-17	$\rho$	-0,025	-0,049	0,231	-0,247
	p	0,890	0,788	0,203	0,172
	N	32	32	32	32

$\Delta$ =Differenz zwischen Messzeitpunkt „Luteal 3“ und Messzeitpunkt „Luteal 1“;  $\rho$ =Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient; p=Signifikanz; N=Stichprobengröße.



### 3.6. Nebenfragestellung: Zusammenhänge zwischen Entzündungsmediatoren und psychischer Befindlichkeit zu jedem Messzeitpunkt

Die Nebenfragestellung nach Zusammenhängen zwischen Entzündungsmediatoren und psychischer Befindlichkeit zu jeweils einem Messzeitpunkt, wurde mit Hilfe von Korrelationsberechnungen nach Spearman von im Blut bzw. im Zervixsekret gemessenen Zytokinen mit den entsprechenden POMS-Skalen überprüft.

Die Ergebnisse für die lokalen Entzündungsparameter sind in den folgenden Tabellen (7 bis 11) dargestellt. Insbesondere zum Messzeitpunkt „Follikulär“, d. h. unmittelbar nach der Menstruation, bestehen positive Zusammenhänge zwischen Müdigkeit und zervikalem IL-1 $\beta$  und IL-17 sowie schwach auch für IL-4, IL-10 und IL-12. Außerdem zeigt IL-17 einen hochsignifikanten negativen Zusammenhang mit Tatendrang sowie einen schwächeren positiven Zusammenhang mit Niedergeschlagenheit und Missmut. Auch Niedergeschlagenheit und IL-1 $\beta$  zeigen eine positive Korrelation. Ebenso gibt es zum Zeitpunkt der Ovulation einen schwachen negativen Zusammenhang zwischen Tatendrang und IL-2 sowie positiv zwischen Müdigkeit und IL-17. Zu allen weiteren Messzeitpunkten (Luteal 1-3) zeigen sich lediglich schwache Zusammenhänge zwischen Entzündungswerten und Psyche.

**Tabelle 7:** Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Follikulär“.

		IL-1 $\beta$	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-17
<b>NIED</b>	$\rho$	<b>0,326</b>	-0,150	0,050	0,034	0,156	0,166	0,120	<b>0,311</b>
	p	<b>0,025</b>	0,310	0,759	0,817	0,291	0,258	0,417	<b>0,038</b>
	N	47	48	40	48	48	48	48	45
<b>TAT</b>	$\rho$	-0,195	0,110	-0,038	0,070	-0,012	-0,156	-0,084	<b>-0,445</b>
	p	0,188	0,458	0,814	0,638	0,936	0,291	0,568	<b>0,002</b>
	N	47	48	40	48	48	48	48	<b>45</b>
<b>MÜD</b>	$\rho$	<b>0,415</b>	0,077	<b>0,265</b>	0,205	0,091	<b>0,280</b>	<b>0,241</b>	<b>0,496</b>
	p	<b>0,004</b>	0,603	<b>0,098</b>	0,162	0,539	<b>0,054</b>	<b>0,099</b>	<b>0,001</b>
	N	47	48	40	48	48	48	48	45
<b>MISSM</b>	$\rho$	0,116	-0,264	0,177	-0,192	0,022	0,073	0,059	<b>0,265</b>
	p	0,438	0,069	0,274	0,192	0,883	0,620	0,691	<b>0,078</b>
	N	47	48	40	48	48	48	48	45

$\rho$ =Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient; p=Signifikanz; N=Stichprobengröße. Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert.

### 3. Ergebnisse

**Tabelle 8:** Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Ovulation“.

		IL1-β	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-17
<b>NIED</b>	ρ	-0,031	-0,001	-0,136	-0,184	-0,071	-0,191	0,012	-0,089
	p	0,856	0,997	0,483	0,268	0,670	0,252	0,943	0,612
	N	36	38	29	38	38	38	38	35
<b>TAT</b>	ρ	0,105	<b>-0,280</b>	-0,049	0,069	0,008	-0,042	-0,026	-0,060
	p	0,543	<b>0,088</b>	0,801	0,681	0,960	0,801	0,878	0,733
	N	36	38	29	38	38	38	38	35
<b>MÜD</b>	ρ	0,237	0,231	-0,038	0,053	0,019	0,250	0,259	<b>0,303</b>
	p	0,165	0,163	0,846	0,752	0,908	0,130	0,116	<b>0,077</b>
	N	36	38	29	38	38	38	38	35
<b>MISSM</b>	ρ	-0,036	-0,107	-0,335	-0,187	0,041	-0,163	-0,058	-0,187
	p	0,837	0,524	0,076	0,262	0,809	0,328	0,729	0,283
	N	36	38	29	38	38	38	38	35

ρ=Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient; p=Signifikanz; N=Stichprobengröße. Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert.

**Tabelle 9:** Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Luteal 1“.

		IL1-β	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-17
<b>NIED</b>	ρ	0,144	-0,042	0,080	0,069	0,189	-0,017	0,116	0,079
	p	0,362	0,777	0,663	0,642	0,198	0,907	0,438	0,611
	N	42	48	32	48	48	48	47	44
<b>TAT</b>	ρ	0,109	-0,096	-0,266	<b>-0,246</b>	-0,091	-0,117	-0,060	-0,047
	p	0,490	0,518	0,141	<b>0,092</b>	0,540	0,429	0,690	0,760
	N	42	48	32	48	48	48	47	44
<b>MÜD</b>	ρ	-0,056	-0,278	0,012	0,010	-0,064	-0,079	-0,114	-0,114
	p	0,723	0,056	0,947	0,944	0,668	0,595	0,444	0,462
	N	42	48	32	48	48	48	47	44
<b>MISSM</b>	ρ	0,057	-0,336	-0,188	0,031	0,050	-0,083	0,005	-0,022
	p	0,722	0,019	0,302	0,833	0,734	0,573	0,972	0,888
	N	42	48	32	48	48	48	47	44

ρ=Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient; p=Signifikanz; N=Stichprobengröße. Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert.

### 3. Ergebnisse

**Tabelle 10:** Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Luteal 2“.

		IL1- $\beta$	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-17
<b>NIED</b>	$\rho$	0,131	0,161	-0,089	0,041	-0,009	0,030	0,068	0,001
	p	0,414	0,281	0,635	0,787	0,951	0,840	0,657	0,996
	N	41	47	31	47	47	47	45	41
<b>TAT</b>	$\rho$	0,312	0,200	0,426	0,116	-0,090	0,079	0,083	0,028
	p	0,047	0,178	0,017	0,436	0,548	0,595	0,587	0,861
	N	41	47	31	47	47	47	45	41
<b>MÜD</b>	$\rho$	-0,089	-0,214	-0,294	0,004	0,047	-0,026	0,099	0,113
	p	0,578	0,150	0,109	0,978	0,756	0,863	0,516	0,481
	N	41	47	31	47	47	47	45	41
<b>MISSM</b>	$\rho$	0,032	0,053	0,168	-0,016	0,009	0,045	0,122	0,044
	p	0,844	0,724	0,366	0,913	0,951	0,763	0,425	0,783
	N	41	47	31	47	47	47	45	41

$\rho$ =Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient; p=Signifikanz; N=Stichprobengröße. Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert.

**Tabelle 11:** Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Luteal 3“.

		IL1- $\beta$	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-17
<b>NIED</b>	$\rho$	0,054	0,053	0,113	-0,070	0,139	0,090	0,072	0,054
	p	0,737	0,727	0,519	0,639	0,352	0,547	0,634	0,737
	N	41	46	35	47	47	47	46	41
<b>TAT</b>	$\rho$	0,042	0,010	-0,209	0,103	-0,015	-0,059	0,206	0,042
	p	0,793	0,947	0,229	0,491	0,922	0,695	0,169	0,793
	N	41	46	35	47	47	47	46	41
<b>MÜD</b>	$\rho$	0,103	-0,047	0,226	0,158	0,044	<b>0,252</b>	0,133	0,103
	p	0,523	0,756	0,192	0,287	0,768	<b>0,088</b>	0,376	0,523
	N	41	46	35	47	47	47	46	41
<b>MISSM</b>	$\rho$	-0,042	-0,143	0,182	-0,030	0,174	0,105	0,084	-0,042
	p	0,795	0,344	0,294	0,840	0,242	0,481	0,578	0,795
	N	41	46	35	47	47	47	46	41

$\rho$ =Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient; p=Signifikanz; N=Stichprobengröße. Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert.

Im Blut sind dagegen nahezu keine Korrelationen zwischen Zytokinen und psychischer Befindlichkeit zu finden. Lediglich für IL-12 und Tatendrang zum Zeitpunkt der Ovulation ( $\rho = 0,359$ , Signifikanz = 0,037, N = 34) sowie zum Messzeitpunkt Luteal 2 für IL-4 und Niedergeschlagenheit ( $\rho = 0,412$ , p = 0,010, N = 38), IL-8 und Niedergeschlagenheit ( $\rho = 0,339$ , p = 0,032, N = 40) und IL-8 und Missmut ( $\rho = 0,342$ ,

Signifikanz = 0,031, N = 40) zeigen sich Korrelationen (siehe hierzu auch Tabelle 22, Tabelle 23, Tabelle 24, Tabelle 25 und Tabelle 26 im Anhang).

#### **3.7. Nebenfragestellung: Zusammenhänge zwischen den lokalen und den systemischen Zytokinkonzentrationen**

Zur Klärung, ob ein Zusammenhang zwischen den lokalen und systemischen Entzündungsparametern besteht, wurden die einzelnen Zytokine im Blut mit den entsprechenden Zytokinen im Zervixsekret, zu einem Messzeitpunkt, korreliert. Aufgrund der nicht gegebenen Normalverteilung wurden dafür Rangkorrelationen nach Spearman eingesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 27, Tabelle 28, Tabelle 29, Tabelle 30 und Tabelle 31 im Anhang dargestellt. Es zeigt sich nur für IL-1 am ersten MZP sowie für IL-8 am fünften MZP ein signifikanter, negativer Zusammenhang (IL-1 am 1. MZP:  $\rho = -0.454$ ;  $p = 0.015$ ; IL-8 am 5. MZP:  $\rho = -0.362$ ;  $p = 0.022$ ). Für zervikales und hämatogenes IL-12 besteht dagegen ein positiver Zusammenhang am zweiten MZP (IL-12 am 2. MZP:  $\rho = 0.432$ ;  $p = 0.017$ ). Ansonsten zeigen sich keinerlei Zusammenhänge zwischen den zervikal und den hämatogen gemessenen Entzündungsparametern.

#### **3.8. Exploratorische Datenanalysen - Zervikale Zytokinkonzentrationen in POMS-Subgruppen**

Zur weiteren Analyse der Daten wurde eine Unterteilung der Probandinnen für jede der vier POMS-Skalen durchgeführt, in eine Gruppen, die in der zweiten Zyklushälfte in der psychischen Befindlichkeit keine oder positive Veränderungen (Wert „Luteal 3“  $\leq$  Wert „Luteal 1“) aufweist und eine Gruppe mit negativen Veränderungen (Wert „Luteal 3“  $>$  Wert „Luteal 1“). Im Folgenden werden die Ergebnisse der Varianzanalysen mit Messwiederholung mit den Subgruppen als Zwischenfaktor für die jeweiligen POMS-Skalen dargestellt. Die Gruppengrößen für die verschiedenen Zytokine und POMS-Skalen finden sich in Tabelle 21 im Anhang.

**POMS-Skala Niedergeschlagenheit**

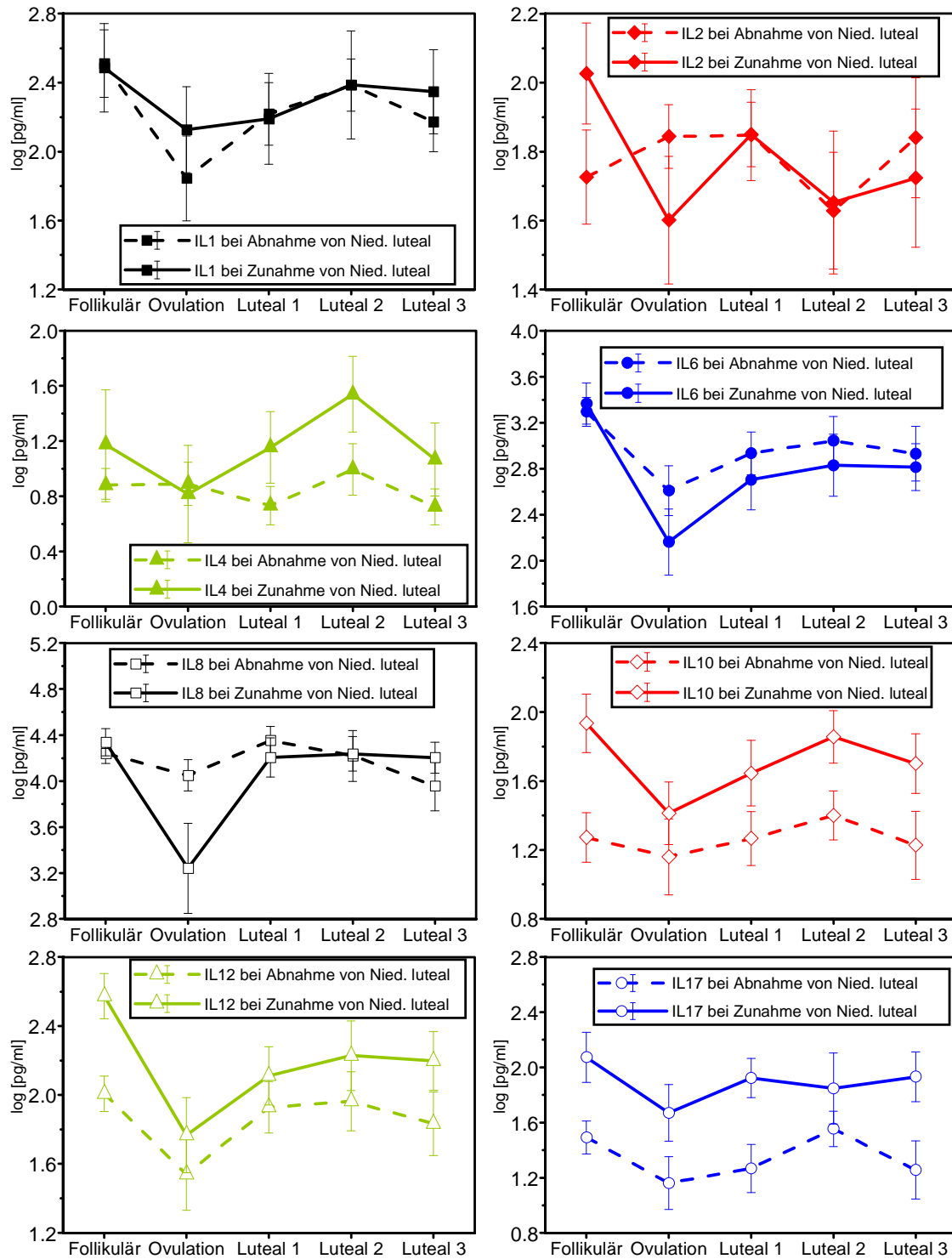
In Tabelle 12 sind die Ergebnisse der statistischen Auswertung für die POMS-Skala Niedergeschlagenheit enthalten, Abbildung 7 zeigt die Mittelwerte und Standardfehler der zervikalen Zytokinkonzentrationen in den jeweiligen Gruppen.

**Tabelle 12:** Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Niedergeschlagenheit.

		F-Wert (df <sub>z</sub> /df <sub>n</sub> )	$\eta^2$	p
<b>IL-1</b>	Zeit	1,825 (4/108)	0,063	0,154
	Zeit x Gruppe	,237 (4/108)	0,009	0,857
	Gruppe	,181 (1/27)	0,007	0,673
<b>IL-2</b>	Zeit	0,999 (4/132)	0,029	0,353
	Zeit x Gruppe	1,112 (4/132)	0,033	0,350
	Gruppe	,002 (1/33)	0,000	0,964
<b>IL-4</b>	Zeit	1,222 (4/88)	0,053	0,655
	Zeit x Gruppe	,612 (4/88)	0,027	0,590
	Gruppe	<b>3,869 (1/22)</b>	<b>0,150</b>	<b>0,062</b>
<b>IL-6</b>	Zeit	5,197 (4/124)	0,144	0,803
	Zeit x Gruppe	,407 (4/124)	0,013	0,761
	Gruppe	1,164 (1/31)	0,036	0,289
<b>IL-8</b>	Zeit	<b>3,877 (4/124)</b>	<b>0,111</b>	<b>0,069</b>
	Zeit x Gruppe	<b>2,240 (4/124)</b>	<b>0,067</b>	<b>0,098</b>
	Gruppe	1,097 (1/31)	0,034	0,303
<b>IL-10</b>	Zeit	2,356 (4/124)	0,071	0,591
	Zeit x Gruppe	,703 (4/124)	0,022	0,548
	Gruppe	<b>4,768 (1/31)</b>	<b>0,133</b>	<b>0,037</b>
<b>IL-12</b>	Zeit	4,838 (4/124)	0,135	0,715
	Zeit x Gruppe	,528 (4/124)	0,017	0,656
	Gruppe	<b>4,060 (1/31)</b>	<b>0,102</b>	<b>0,070</b>
<b>IL-17</b>	Zeit	1,593 (4/112)	0,054	0,737
	Zeit x Gruppe	,498 (4/112)	0,017	0,693
	Gruppe	<b>9,713 (1/28)</b>	<b>0,258</b>	<b>0,004</b>

Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert. Die Variation in den Freiheitsgraden ist auf die unterschiedlichen Ns zurückzuführen.

### 3. Ergebnisse



**Abbildung 7:** Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Zunahme von lutealer Niedergeschlagenheit (durchgezogene Linie) und Abnahme bzw. gleichbleibender lutealer Niedergeschlagenheit (gestrichelte Linie).

**POMS-Skala Tatendrang**

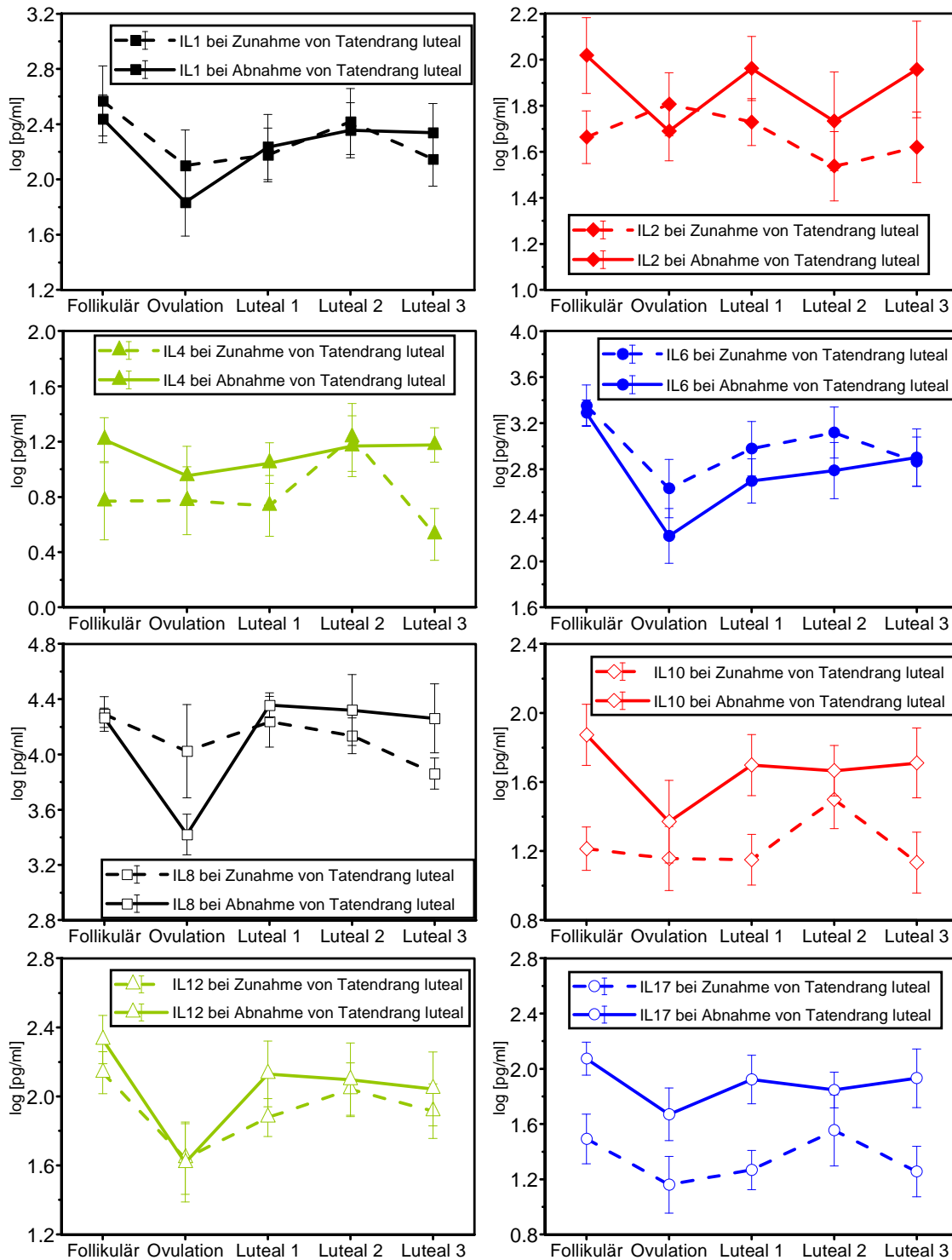
In Tabelle 13 sind die Ergebnisse der statistischen Auswertung für die POMS-Skala Tatendrang enthalten, Abbildung 8 zeigt die Mittelwerte und Standardfehler der zervikalen Zytokinkonzentrationen in den jeweiligen Gruppen.

**Tabelle 13:** Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Tatendrang.

		<b>F-Wert (df<sub>z</sub>/df<sub>n</sub>)</b>	<b>η<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
<b>IL-1</b>	Zeit	2,063 (4/108)	0,071	0,117
	Zeit x Gruppe	,388 (4/108)	0,014	0,748
	Gruppe	,050 (1/27)	0,002	0,825
<b>IL-2</b>	Zeit	,841 (4/132)	0,025	0,397
	Zeit x Gruppe	1,025 (4/132)	0,030	0,389
	Gruppe	2,099 (1/33)	0,060	0,157
<b>IL-4</b>	Zeit	1,029 (4/88)	0,045	0,477
	Zeit x Gruppe	,884(4/88)	0,039	0,440
	Gruppe	<b>4,099 (1/22)</b>	<b>0,157</b>	<b>0,055</b>
<b>IL-6</b>	Zeit	4,890 (4/124)	0,136	0,789
	Zeit x Gruppe	,426 (4/124)	0,014	0,749
	Gruppe	1,550 (1/31)	0,048	0,222
<b>IL-8</b>	Zeit	3,180 (4/124)	0,093	0,102
	Zeit x Gruppe	1,976 (4/124)	0,060	0,131
	Gruppe	,017 (1/31)	0,001	0,897
<b>IL-10</b>	Zeit	2,117 (4/124)	0,064	0,148
	Zeit x Gruppe	1,728(4/124)	0,053	0,171
	Gruppe	4,711 (1/31)	0,132	0,038
<b>IL-12</b>	Zeit	4,614 (4/124)	0,130	0,886
	Zeit x Gruppe	,287 (4/124)	0,009	0,830
	Gruppe	,470 (1/31)	0,015	0,498
<b>IL-17</b>	Zeit	<b>1,861 (4/112)</b>	<b>0,062</b>	<b>0,081</b>
	Zeit x Gruppe	2,139 (4/112)	0,071	0,101
	Gruppe	<b>3,440 (1/28)</b>	<b>0,109</b>	<b>0,074</b>

Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert. Die Variation in den Freiheitsgraden ist auf die unterschiedlichen Ns zurückzuführen.

### 3. Ergebnisse



**Abbildung 8:** Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Abnahme von lutealem Tatendrang (durchgezogene Linie) und Zunahme bzw. gleichbleibendem Tatendrang (gestrichelte Linie).



**POMS-Skala Müdigkeit**

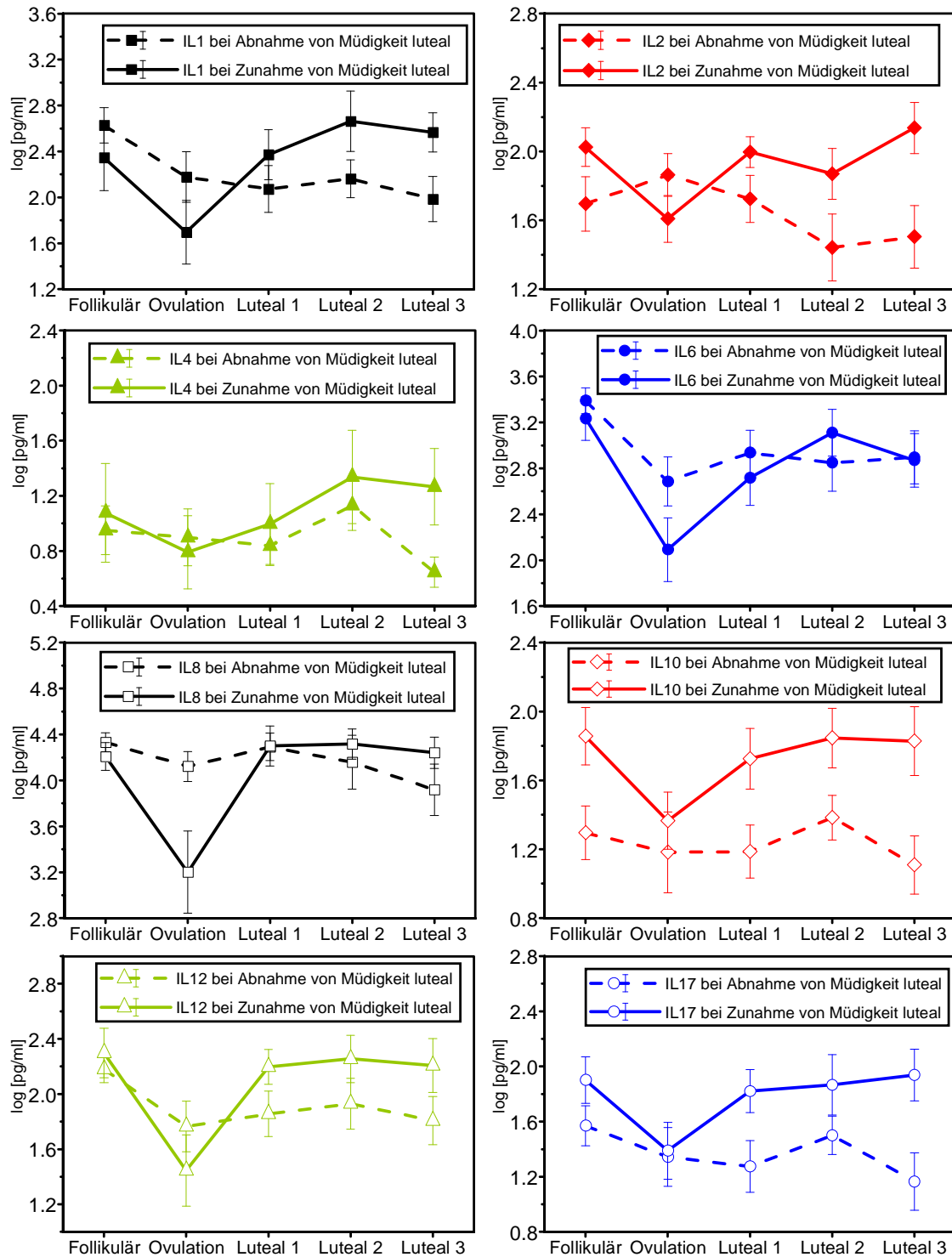
In Tabelle 14 sind die Ergebnisse der statistischen Auswertung für die POMS-Skala Müdigkeit enthalten, Abbildung 9 zeigt die Mittelwerte und Standardfehler der zervikalen Zytokinkonzentrationen in den jeweiligen Gruppen.

**Tabelle 14:** Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Müdigkeit.

		<b>F-Wert (df<sub>z</sub>/df<sub>n</sub>)</b>	<b>η<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
<b>IL-1</b>	Zeit	<b>2,458 (4/108)</b>	<b>0,083</b>	<b>0,069</b>
	Zeit x Gruppe	<b>3,117 (4/108)</b>	<b>0,104</b>	<b>0,030</b>
	Gruppe	,436 (1/27)	0,016	0,515
<b>IL-2</b>	Zeit	<b>,947 (4/132)</b>	<b>0,028</b>	<b>0,014</b>
	Zeit x Gruppe	<b>3,258 (4/132)</b>	<b>0,090</b>	<b>0,020</b>
	Gruppe	<b>4,330 (1/33)</b>	<b>0,116</b>	<b>0,045</b>
<b>IL-4</b>	Zeit	,947 (4/88)	0,041	0,561
	Zeit x Gruppe	,750 (4/88)	0,033	0,508
	Gruppe	1,436 (1/22)	0,061	0,244
<b>IL-6</b>	Zeit	5,287 (4/124)	0,146	0,332
	Zeit x Gruppe	1,159 (4/124)	0,036	0,331
	Gruppe	,719 (1/31)	0,023	0,403
<b>IL-8</b>	Zeit	<b>3,911 (4/124)</b>	<b>0,112</b>	<b>0,014</b>
	Zeit x Gruppe	<b>3,265 (4/124)</b>	<b>0,095</b>	<b>0,029</b>
	Gruppe	,971 (1/31)	0,030	0,332
<b>IL-10</b>	Zeit	2,304 (4/124)	0,069	0,287
	Zeit x Gruppe	1,266 (4/124)	0,039	0,291
	Gruppe	<b>6,235 (1/31)</b>	<b>0,167</b>	<b>0,018</b>
<b>IL-12</b>	Zeit	<b>5,426 (4/124)</b>	<b>0,149</b>	<b>0,081</b>
	Zeit x Gruppe	2,131 (4/124)	0,064	0,101
	Gruppe	,965 (1/31)	0,030	0,334
<b>IL-17</b>	Zeit	1,864 (4/112)	0,062	0,168
	Zeit x Gruppe	1,645 (4/112)	0,055	0,184
	Gruppe	<b>5,105 (1/28)</b>	<b>0,154</b>	<b>0,032</b>

Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert. Die Variation in den Freiheitsgraden ist auf die unterschiedlichen Ns zurückzuführen.

### 3. Ergebnisse



**Abbildung 9:** Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Zunahme von lutealer Müdigkeit (durchgezogene Linie) und Abnahme bzw. gleichbleibender lutealer Müdigkeit (gestrichelte Linie).

**POMS-Skala Missmut**

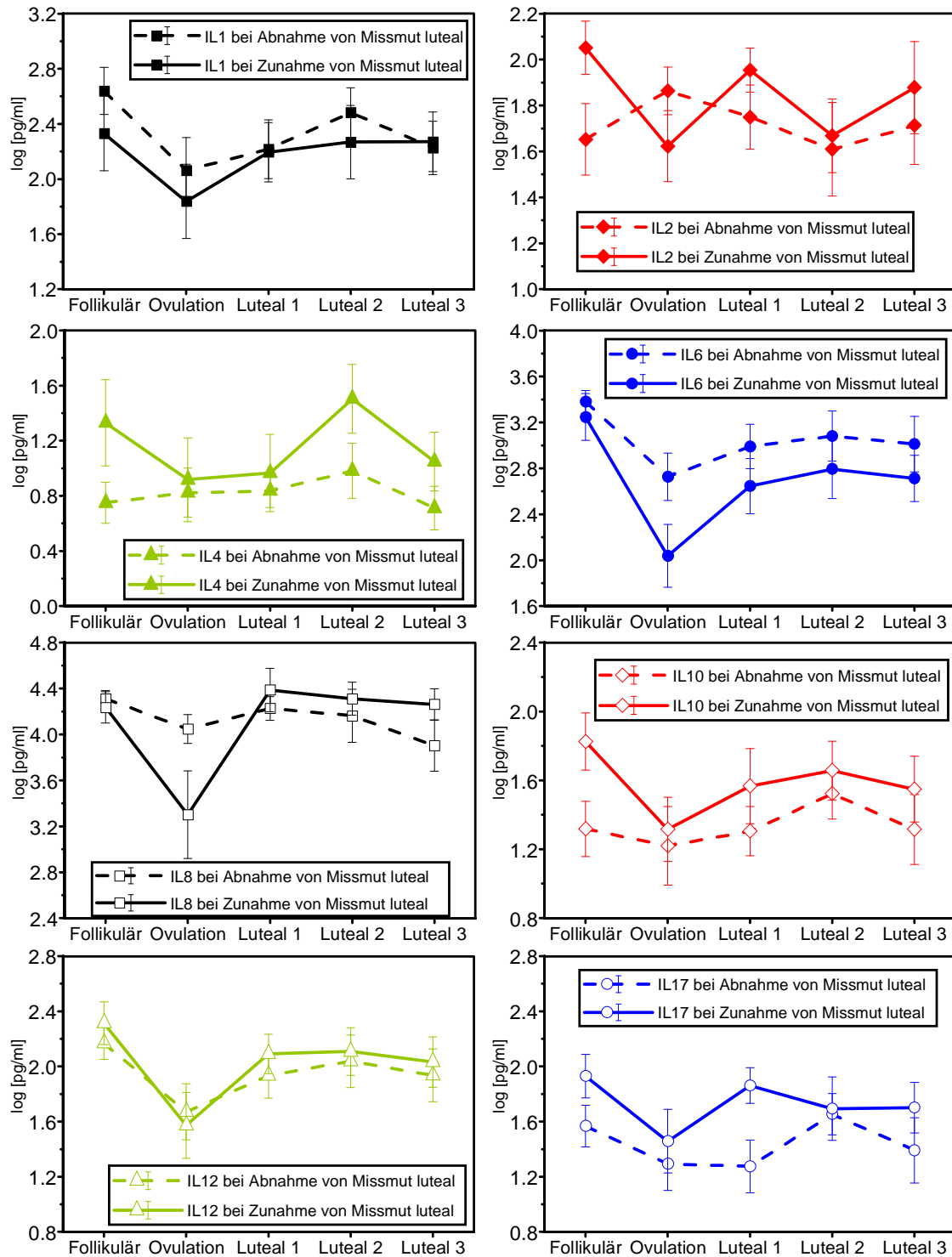
In Tabelle 15 sind die Ergebnisse der statistischen Auswertung für die POMS-Skala Missmut enthalten, Abbildung 10 zeigt die Mittelwerte und Standardfehler der zervikalen Zytokinkonzentrationen in den jeweiligen Gruppen.

**Tabelle 15:** Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Missmut.

		<b>F-Wert (df<sub>z</sub>/df<sub>n</sub>)</b>	<b>η<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
<b>IL-1</b>	Zeit	2,008 (4/108)	0,069	0,124
	Zeit x Gruppe	,274 (4/108)	0,010	0,829
	Gruppe	,604 (1/27)	0,022	0,444
<b>IL-2</b>	Zeit	,914 (4/132)	0,027	0,180
	Zeit x Gruppe	1,591 (4/132)	0,046	0,193
	Gruppe	,684 (1/33)	0,020	0,414
<b>IL-4</b>	Zeit	1,179 (4/88)	0,051	0,682
	Zeit x Gruppe	,574 (4/88)	0,025	0,607
	Gruppe	<b>4,925 (1/22)</b>	<b>0,183</b>	<b>0,037</b>
<b>IL-6</b>	Zeit	5,201 (4/124)	0,144	0,738
	Zeit x Gruppe	,497 (4/124)	0,016	0,698
	Gruppe	<b>4,634 (1/31)</b>	<b>0,130</b>	<b>0,039</b>
<b>IL-8</b>	Zeit	<b>3,733 (4/124)</b>	<b>0,107</b>	<b>0,045</b>
	Zeit x Gruppe	<b>2,512 (4/124)</b>	<b>0,075</b>	<b>0,070</b>
	Gruppe	,073 (1/31)	0,002	0,789
<b>IL-10</b>	Zeit	2,190 (4/124)	0,066	0,504
	Zeit x Gruppe	,837 (4/124)	0,026	0,472
	Gruppe	1,355 (1/31)	0,042	0,253
<b>IL-12</b>	Zeit	4,742 (4/124)	0,133	0,914
	Zeit x Gruppe	,243 (4/124)	0,008	0,863
	Gruppe	,172 (1/31)	0,006	0,681
<b>IL-17</b>	Zeit	1,748 (4/112)	0,059	0,449
	Zeit x Gruppe	,931 (4/112)	0,032	0,431
	Gruppe	2,320 (1/28)	0,077	0,139

Signifikante und tendenziell signifikante Werte sind fett markiert. Die Variation in den Freiheitsgraden ist auf die unterschiedlichen Ns zurückzuführen.

### 3. Ergebnisse



**Abbildung 10:** Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Zunahme von lutealem Missmut (durchgezogene Linie) und Abnahme bzw. gleichbleibendem lutealem Missmut (gestrichelte Linie).

### **4. Diskussion**

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse zusammengefasst und dann hinsichtlich der unter 1.8. dargelegten Fragestellungen nach einer Assoziation zwischen Veränderungen der Stimmung zum Zyklusende und Veränderungen der lokalen proinflammatorischen Aktivität sowie nach Zusammenhängen zwischen systemischen und lokalen Entzündungsmediatoren untereinander und mit der psychischen Befindlichkeit, zu jeweils einem Messzeitpunkt, diskutiert. Es folgt die Darstellung der Limitationen der Studie und zum Abschluss eine Gesamtdiskussion.

#### **4.1. Veränderungen über die Zeit**

Zur Prüfung der Hauptfragestellung nach einem möglichen Zusammenhang von Stimmungsveränderungen und Veränderungen der Zytokinkonzentrationen im Verlauf eines menstruellen Zyklus wurde zunächst getestet, ob die untersuchten Parameter „psychische Befindlichkeit“ sowie die systemischen und zervikalen Zytokine im Verlauf des menstruellen Zyklus Schwankungen aufweisen.

##### **4.1.1. Psychische Befindlichkeit und Veränderungen über den Zyklus**

In der Auswertung bezüglich systematischer zyklusassoziierter Veränderungen der psychischen Parameter zeigt sich nur für die Skala Tatendrang, nicht jedoch für die anderen POMS-Skalen (Niedergeschlagenheit, Müdigkeit und Missmut) ein signifikanter Zeiteffekt. Dennoch finden sich bei Betrachtung der deskriptiven Daten leichte Schwankungen, im Sinne eines geringen, talförmigen (Niedergeschlagenheit, Müdigkeit und Missmut) bzw. hügel förmigen (Tatendrang) Verlaufs, mit follikulär und spätluteal höheren bzw. niedrigeren Score-Werten und einem Abfall bzw. Anstieg zum Zeitpunkt der Ovulation. Dies könnte durchaus einen Hinweis auf zyklische Schwankungen darstellen, gerade wenn man bedenkt, dass es sich bei der untersuchten Stichprobe um gesunde junge Frauen handelt, die keine Diagnose eines prämenstruellen Syndroms aufweisen. Die Unterteilung der Stichprobe unter 3.8. in eine Gruppe mit und eine Gruppe ohne prämenstruelle psychische Symptome (Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut; vgl. auch Tabelle 21) zeigt tatsächlich, dass nur ungefähr die Hälfte der untersuchten Frauen entsprechende Veränderungen aufweisen.

### 4.1.2. Veränderungen der Zytokine über den Zyklus

Für die systemisch gemessenen Zytokine konnte bei keinem Zytokin eine signifikante Veränderung über die Zeit beobachtet werden. Auch deskriptiv zeigen sich keine relevanten Konzentrationsschwankungen im zeitlichen Verlauf des Menstruationszyklus. Vergleicht man zudem die einzelnen Kurven der verschiedenen hämatogenen Zytokine in dieser deskriptiven Darstellung, finden sich keine Gemeinsamkeiten.

Im Gegensatz zu den systemischen Zytokinen zeigen sich jedoch durchaus signifikante Schwankungen in einigen der zervikalen Zytokine. In der deskriptiven Darstellung weisen alle Zytokine einen ähnlichen zyklischen Verlauf auf. Diese Änderungen zeichnen sich durch höchste Zytokinkonzentrationen am Zyklusanfang, also postmenstruell und in der frühen und mittleren lutealen Phase aus. Ein Konzentrationsminimum ist dagegen während der Ovulation und ein zweiter Abfall in der späten lutealen Zyklusphase zu beobachten. Nur beim Zytokin IL-2 finden sich deskriptiv keine Veränderungen. Die Prüfung der systematischen zyklusassoziierten Veränderungen der lokalen Entzündungsmediatoren zeigt zudem für die zervikalen Zytokine IL-6 und IL-12 eine hochsignifikante, für IL-8 eine signifikante und für IL-17 einen Trend für eine Konzentrationsänderung über den zeitlichen Verlauf. Diese Ergebnisse bestärken damit die Erkenntnisse vorangegangener Studien, die eine uterine bzw. zervikale zyklusabhängige Zytokinausschüttung mit einer Erhöhung proinflammatorischer Marker im Zeitraum der Menses im Zervixsekret (Gargiulo et al., 2004; Kutteh et al., 1998; Kanai et al., 1997; Bollen et al., 2008), in Hysterektomiepräparaten (Wolff et al., 2000) oder in kultivierten Endometriumzellen (Zepff, 2003; Maybin et al., 2011) beschrieben haben. Zugleich sind die Ergebnisse konform mit der These, die Menstruation sei ein primär lokaler immunologischer Prozess, mit einer örtlich begrenzten erhöhten proinflammatorischen Aktivität (siehe auch 1.3.).

Die Korrelationsanalysen zwischen zervikalen und hämatogenen Zytokinen bekräftigen diese These ebenso. Hier lassen sich so gut wie keine Zusammenhänge beobachten und die dennoch gefundenen Korrelationen weisen negative Vorzeichen auf. Ein Ergebnis, welches ebenso darauf hindeutet, dass systemische und lokale inflammatorische Marker zunächst einmal unabhängig voneinander agieren und dass die Menstruation tatsächlich ein primär lokaler immunologischer Vorgang ist, bei dem das ganze System zunächst nicht beeinflusst wird. Dieser Prozess ist gekennzeichnet durch einen vermehrten

Einstrom bzw. eine lokale Proliferation von unspezifischen Immunzellen in der Gebärmutter, mit daraus resultierendem Anstieg der Sekretion diverser Entzündungsmediatoren im uterinen Gewebe (Salamonsen et al., 1999; Kitaya et al., 2007; Critchley et al., 2001; Kayisli et al., 2002; Wolff et al., 2000). So wird leicht verständlich, dass wie in dieser Studie, zur Erfassung dieser Prozesse, lokale Messungen notwendig sind, um die mit der Menstruation verbundenen immunologischen Vorgänge abbilden zu können. Daher wurden bei allen weiteren Analysen auch nur noch lokale Immunparameter berücksichtigt. Zudem wird die These bestärkt, dass inflammatorische Prozesse generell ein zunächst auf ein lokales Gewebe beschränktes Geschehen sind (Tracey, 2002; Deinzer et al., 2004; Hopkins, 2007).

### **4.1.3. Zusammenhang von psychischer Befindlichkeit und zervikalen Zytokinkonzentrationen**

Betrachtet man zunächst die Zusammenhänge zwischen den im Zervixsekret gemessenen Zytokinen und den POMS-Skalen zu den einzelnen Messzeitpunkten, zeigt sich vor allem zum ersten Messzeitpunkt (unmittelbar nach der Menstruation) ein positiver Zusammenhang zwischen Müdigkeit und IL-1 $\beta$ , IL-10 und IL-17 sowie eine Tendenz für IL-12. Zudem korreliert IL-17 signifikant negativ mit Tatendrang sowie tendenziell signifikant positiv mit Niedergeschlagenheit und Missmut. Ein weiterer Zusammenhang besteht außerdem für IL-1 $\beta$  und verringerten Tatendrang sowie tendenziell auch für Niedergeschlagenheit. Für die weiteren Messzeitpunkte wurden keine signifikanten Zusammenhänge gefunden, es zeigen sich jedoch einige weitere Trends zur Signifikanz: zwischen IL-2 und verringertem Tatendrang zum Messzeitpunkt um den Eisprung herum, für IL-1 $\beta$  und Niedergeschlagenheit sowie für IL-6 und verringerten Tatendrang zum ersten lutealen Messzeitpunkt und für IL-10 und IL-17 mit Müdigkeit unmittelbar vor der nächsten Menstruation. Es wird somit deutlich, dass insbesondere unmittelbar nach der Menses, einer profunden Entzündungsreaktion, ein Zusammenhang zwischen der psychischen Befindlichkeit und den lokalen Zytokinen zu bestehen scheint. Auf der psychischen Ebene trifft dies besonders für Müdigkeit zu, auf der immunologischen Ebene besonders für IL-17. Interessant ist dabei, dass gerade Müdigkeit bei Betrachtung des durchschnittlichen zeitlichen Verlaufs aller Probandinnen, keine signifikanten Veränderungen zeigt, sondern nur die beobachteten deskriptiven Tendenzen. Dennoch kann hier, insbesondere nach Unterteilung der Stichprobe in Subgruppen mit und ohne prämenstruellen Symptomen,

eine Korrelation mit immunologischen Parametern gefunden werden. Dies spricht dafür, dass die beschriebenen deskriptiven Tendenzen, vor allem in Bezug auf Subgruppen, doch von klinischer Bedeutung sein könnten.

Bei der Prüfung eines Zusammenhangs von Stimmungsveränderungen und Veränderungen der lokalen Zytokinkonzentrationen in der zweiten Zyklushälfte konnten keine Zusammenhänge zwischen den angegebenen Parametern nachgewiesen werden. Damit muss die Ausgangshypothese, dass Veränderungen der Stimmung zum Zyklusende mit Veränderungen der lokalen proinflammatorischen Aktivität (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17) assoziiert sind, zunächst abgelehnt werden. Neben der Möglichkeit, dass Veränderungen der lokalen Zytokinkonzentrationen tatsächlich nichts mit Stimmungsveränderungen zu tun haben, gibt es jedoch durchaus andere Erklärungen für diesen fehlenden Zusammenhang. Wie bereits oben diskutiert, handelt es sich bei der untersuchten Stichprobe um Probandinnen sowohl mit als auch ohne Zunahme psychischer Beschwerden in der zweiten Zyklushälfte. Zu erwarten ist jedoch eher, dass insbesondere Probandinnen mit einer Verschlechterung der psychischen Befindlichkeit höhere Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine aufweisen. Aus diesem Grund wurden in einer exploratorischen Datenanalyse die zervikalen Zytokinkonzentrationen erneut analysiert, jedoch unter Aufspaltung der Probandinnen in Gruppen mit Verschlechterung des Befindens und Gruppen mit gleich bleibender oder Verbesserung der Stimmung. Die Ergebnisse werden nachfolgend nochmals zusammengefasst.

### **Niedergeschlagenheit**

Betrachtet man dementsprechend die Zytokinkonzentrationen der Probandinnen nach Gruppen mit mehr bzw. weniger lutealer Niedergeschlagenheit zum dritten lutealen Messzeitpunkt im Vergleich zum ersten lutealen Messzeitpunkt, zeigt sich deskriptiv folgendes Bild: Die Zytokine IL-4, IL-10, IL-12 und IL-17 weisen für die Skala Niedergeschlagenheit generell höhere Konzentrationen in der Gruppe mit lutealer Zunahme von Niedergeschlagenheit bei annähernd parallelem Kurvenverlauf (mit niedrigsten Konzentrationen jeweils in der Zyklusmitte) auf, während sich beim IL-1 $\beta$  und IL-2 keine wesentlichen Unterschiede zeigen. Die Konzentrationen von zervikalem IL-6 sind dagegen bei den Probandinnen mit weniger lutealer Niedergeschlagenheit etwas erhöht. Im Hinblick auf IL-8 liegen die Probandinnen mit Zunahme von Niedergeschlagenheit unmittelbar vor der Mensis über denen ohne



Niedergeschlagenheit, fallen jedoch zur Ovulation stärker ab. Die statistischen Analysen bestätigen, dass diese Gruppenunterschiede für IL-4, IL-10, IL-12 und IL-17 (zum Teil tendenziell) signifikante Unterschiede bezüglich des Faktors Gruppe zeigen.

### **Tatendrang**

Für die Skala Tatendrang zeigt sich ein ähnliches Bild. Die Gruppe mit lutealer Abnahme von Tatendrang weist in der deskriptiven Darstellung in Bezug auf IL-4, IL-10, IL-12 und IL-17 ebenfalls generell höhere Zytokinkonzentrationen auf. Bei IL-2 und IL-8 lassen sich bei ihnen unmittelbar vor der Menstruation ebenfalls höhere Konzentrationen im Vergleich zu den Probandinnen mit mehr Tatendrang nachweisen, zum Zeitpunkt der Ovulation dagegen geringere Mengen. Bei den restlichen Zytokine unterscheiden sich die beiden Gruppen hingegen nicht wesentlich voneinander.

### **Müdigkeit**

Bei den Probandinnen mit Zu- bzw. Abnahme von lutealer Müdigkeit zeigt sich deskriptiv für IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-8 und IL-12 folgendes Bild: spätluteal liegen die Konzentrationen der Probandinnen mit Zunahme von Müdigkeit deutlich über der Vergleichsgruppe, zum Zeitpunkt der Ovulation dagegen darunter. Sie zeigen also eine deutlich stärkere Veränderung über den zeitlichen Verlauf. Diese Effekte erreichen zum Teil auch statistische Signifikanz: für die Interaktion Zeit \* Gruppe sowie für den Zeiteffekt bei IL-1 $\beta$ , IL-2 und IL-8. Für IL-12 findet sich bei dem Faktor Zeit ein Trend. Zudem unterscheiden sich die beiden Gruppen signifikant hinsichtlich der Konzentrationen von IL-10 und IL-17 mit generell höheren Konzentrationen bei zunehmender Müdigkeit. Nur IL-6 zeigt, bis auf eine stärkere Konzentrationsschwankung bei den müderen Probandinnen, keine wesentlichen Gruppenunterschiede.

### **Missmut**

Für Missmut findet sich in der deskriptiven Darstellung ein ähnliches Bild wie bei Müdigkeit, jedoch mit geringeren Gruppenunterschieden: Die Zytokine IL-4, IL-10, IL-12 und IL-17 zeigen generell höhere Konzentrationen bei annähernd parallelen Verläufen in der Gruppe mit einer lutealen Zunahme von Missmut, während sich bei IL-1 $\beta$  keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Gruppen zeigen. Beim IL-6 weisen Probandinnen ohne prämenstruellem Missmut dagegen geringfügig höhere Zytokinkonzentrationen auf und bei IL-2 und IL-8 liegen die Probandinnen mit mehr Missmut unmittelbar vor und nach der Mensis über den anderen Probandinnen, fallen

jedoch zur Ovulation stärker ab. Die Analysen können hierbei einen signifikanten Effekt des Faktors Gruppe bei IL-4 und IL-6, sowie des Faktors Zeit und der Interaktion Zeit \* Gruppe bei IL-8 aufzeigen.

Betrachtet man also das Gesamtkollektiv nach Unterteilung in Frauen mit Zu- bzw. Abnahme von psychischen Symptomen in der zweiten Zyklushälfte, so zeigen sich insbesondere bei Müdigkeit (für IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17) und bei Niedergeschlagenheit (für IL-4, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17) Unterschiede bezüglich der Zytokinkonzentrationen und dem zeitlichen Verlauf zwischen den Gruppen, mit höheren Konzentrationen in den Gruppen mit mehr Beschwerden. Dies gilt insbesondere für die folliculären und lutealen Messungen, teilweise aber mit einem stärkeren Zytokinkonzentrationsabfall während der Ovulation. Auch bezüglich der Skalen Tatendrang und Missmut zeigen sich entsprechende Gruppeneffekte, allerdings für weniger Zytokine.

Generell scheint, um ein besseres Verständnis von den Zusammenhängen zwischen psychischen Beschwerden und inflammatorischen Markern während des Menstruationszykluses zu bekommen, ein auf Messwiederholungen ausgelegtes Analyseverfahren wie die Varianzanalyse besser geeignet als eine punktuelle Betrachtungsweise wie die Korrelation zu nur einem Messzeitpunkt. Zukünftige Studien sollten daher ebenfalls ein Studiendesign mit Messwiederholungen bevorzugen, beispielsweise als Gruppenvergleich von Probandinnen mit und ohne prämenstruelle Beschwerden oder im intraindividuellen Verlauf.

Die untersuchten psychischen Merkmale Niedergeschlagenheit, Müdigkeit, Tatendrang und Missmut sind typische Merkmale des Sickness Behaviours, das, wie in verschiedenen Studien bestätigt, mit erhöhten inflammatorischen Markern assoziiert ist (Dantzer & Kelly, 2007; Dunn et al., 2005; Hopkins, 2007). Diskutiert werden hier in der Pathogenese unter anderem IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 und IL-10 (Anisman et al., 2005; Vollmer-Conna et al., 2004; Konsman et al., 2002; Dantzer et al., 2008; Myers, 2008; Wright et al., 2005; Howren et al., 2009). Interessant an dieser Studie ist insbesondere, dass sich solche Effekte hier für lokale (zervikale) Zytokine nachweisen lassen, nicht jedoch für systemische.

Besonders hervorzuheben ist dabei das Symptom Müdigkeit, das im Rahmen dieser Studie Effekte mit den meisten gemessenen Zytokinen (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10, IL-12

und IL-17) zeigte. Daher sollte auch in zukünftigen Studien ein Hauptaugenmerk auf diese Eigenschaft gelegt werden, zumal es auch eine typische Beschwerde von Frauen in der lutealen Zyklusphase ist, auch wenn in dieser Studie nur eine Subgruppe der Probandinnen dieses Symptom aufwies (Steiner, 2000; Strine et al, 2005). Dieses Symptom wirkt sich ebenso wie verringerter Tatendrang und erhöhte Niedergeschlagenheit vor allem auf den Aktivitätszustand eines Lebewesens aus. Ein verringerter Aktivitätszustand ist eines der Hauptmerkmale des Sickness Behaviours, aber auch ein wichtiges Merkmal prämenstrueller Beschwerden und wird auch bevorzugt im Tiermodell im Sinne eines reduzierten Bewegungsdranges gemessen (Abraham et al., 2009; Harden et al., 2011).

Der Einfluss von zerebralem IL-1 $\beta$  in alten Mäusen im Sinne einer Verringerung des Aktivitätszustands konnte bereits aufgezeigt werden (Abraham et al., 2009). Zudem ist dieses Zytokin für seine fieber-induzierende Wirkung bekannt (Maier & Watkins, 1998). Hier wäre zu überlegen, ob IL-1 $\beta$  sogar ein Kofaktor für die Temperaturerhöhung in der zweiten Zyklushälfte sein könnte. Das ist aber bislang lediglich Spekulation, da fundierte Kenntnisse diesbezüglich fehlen.

Zwischen IL-2 und der psychischen Befindlichkeit konnte nur für Müdigkeit ein signifikanter Unterschied bei Gruppen mit und ohne spät-lutealen Beschwerden gefunden werden. IL-2 ist ein wichtiges Zytokin des erworbenen Immunsystems. Seine Wirkung auf psychische Parameter zeigt sich vor allem bei einer IL-2-Immuntherapie, die depressive Symptome bzw. Sickness Behaviour auslösen kann (Sudom et al., 2004; Capuron et al., 2001; Jozuka et al., 2003). Bislang gibt es jedoch keine Studie, bei der eine erhöhte Konzentration von IL-2 während der Menstruation gefunden werden konnte. Auch in dieser Studie zeigte lokales IL-2 deskriptiv bei allen Probandinnen gemeinsam nur eine sehr geringe Konzentrationsveränderung über den zeitlichen Verlauf, ohne jegliche Signifikanz. Es ist daher möglich, dass kein Zusammenhang zwischen der Veränderung von IL-2 und der psychischen Befindlichkeit gefunden werden konnte, weil IL-2 im weiblichen Menstruationszyklus eventuell keine wesentliche Rolle spielt und damit auch keine wesentlichen Schwankungen aufweist oder aber, dass es nur in Bezug auf Subgruppen Veränderungen zeigt.

Für zervikales IL-4 zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen Gruppen mit und ohne lutealer Zunahme von Müdigkeit und Niedergeschlagenheit bzw. Abnahme von Tatendrang. Bislang stand dieses antiinflammatorische Zytokin generell weniger im Fokus von Studien, die einen Zusammenhang zwischen Immunsystem und Psyche

untersucht haben. Außerdem wurde IL-4 bislang hauptsächlich systemisch erfasst. Zusätzlich sind die Ergebnisse solcher Studien kontrovers, da mal erhöhte IL-4 Serumspiegel mit depressiven Symptomen in Zusammenhang gebracht werden (Falasca et al., 2009), mal erniedrigte Serumspiegel (Ortiz-Domingues et al., 2007). Weitere Studien scheinen daher dringend notwendig, um die Wirkung von IL-4 und seine Rolle im Menstruationszyklus zu untersuchen.

Auch ein Zusammenhang zwischen luteal niedergeschlageneren, müderer und missmutigeren Probandinnen und der IL-8-Konzentration konnte im Rahmen dieser Studie gefunden werden. Die Hauptwirkungen von IL-8 sind primär eine lokale, chemotaktische Wirkung sowie die Angiogenese, damit könnte es für die Rekrutierung immunkompetenter Zellen eine wichtige Rolle im Menstruationszyklus spielen. Es existieren bereits wenige Studien, die einen Zusammenhang zwischen depressiven Symptomen und diesem Zytokin gefunden haben (Marsland et al., 2007; Suarez et al., 2004; 2003).

Ebenso konnte für lokales IL-10 eine Verknüpfung mit vermehrter Niedergeschlagenheit und Müdigkeit in der zweiten Zyklushälfte gefunden werden. Die Datenlage bezüglich dieses Zytokins und dem Zusammenhang zur psychischen Befindlichkeit ist bislang sehr gering. Während die meisten Studien eher einen negativen Zusammenhang zwischen den Konzentrationen dieses wichtigen, antiinflammatorischen Zytokins und Müdigkeit oder depressiven Symptomen fanden (Mesquita et al., 2008; Parissis et al., 2004), konnten andere Studien gar keinen (Podlipný et al., 2010) oder - wie in diesem Fall - den gegenteiligen Effekt nachweisen (Meyer et al., 2011). Allen genannten Studien gemeinsam ist jedoch, dass sie sich bislang nur auf das systemisch wirkende IL-10 beschränkt haben. Dieses zeigte im Rahmen dieser Studie keine Auffälligkeiten und auch keinen Zusammenhang mit den lokalen Konzentrationen. Es besteht daher die Möglichkeit, dass lokale Veränderungen dieses Zytokins deutlicher mit der psychischen Befindlichkeit assoziiert sind als systemische. Weitere Studien sind jedoch notwendig um eine solche Verbindung zu bestätigen und genauer zu beleuchten.

Bezüglich des proinflammatorischen Zytokins IL-12 zeigten sich ebenfalls Unterschiede zwischen Probandinnen mit Zu- und Abnahme lutealer Niedergeschlagenheit und Müdigkeit. Generell gibt es bislang nur sehr wenige Forschungsarbeiten, die dieses Thema, und wenn auch nur in Zusammenhang mit systemischen Veränderungen, untersuchen. Die Ergebnisse sind hierbei ebenfalls heterogen. Während IL-12 bei

Frauen mit Brustkrebs eher mit positiver Stimmung assoziiert ist (Blomberg et al., 2009), wird bei der Anwendung von rekombinantem IL-12 zur antiviralen Therapie ein schwacher, gegenteiliger Effekt beobachtet (Little et al., 2006).

Eine Assoziation zwischen erhöhten Zytokinkonzentrationen von IL-17 und Gruppen mit mehr Niedergeschlagenheit und Müdigkeit sowie weniger Tatendrang konnte ebenfalls aufgezeigt werden. In der Literatur gibt es diesbezüglich bislang keine Daten. Auch hier wären daher weitere Studien notwendig, um seine genaue Rolle in Bezug auf die Psyche und den Menstruationszyklus zu eruieren.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass in dieser Studie ein Zusammenhang zwischen Veränderungen von zervikalen Zytokinkonzentrationen und psychischer Befindlichkeit in der zweiten Zyklushälfte nicht belegt werden kann. Allerdings sind die fehlenden Veränderungskorrelationen im Gesamtkollektiv womöglich der Tatsache geschuldet, dass ein bestimmter Anteil der insgesamt untersuchten Frauen gar keine psychischen Schwankungen über den Zyklus aufweist. Tatsächlich ergab die exploratorische Datenanalyse, in welcher die Stichprobe nach dem Vorhandensein bzw. der Abwesenheit von psychischen Beschwerden in der zweiten Zyklushälfte aufgeteilt wurde, durchaus Hinweise auf eine Reihe von Zusammenhängen zwischen zervikalen Zytokinkonzentrationen und psychischer Befindlichkeit. Dies betrifft diverse pro- und antiinflammatorische Zytokine.

Diese Ergebnisse und die Tatsache, dass die im Blut gemessenen Zytokine dagegen keine Zusammenhänge zur psychischen Befindlichkeit aufweisen, deuten auf die Möglichkeit und die Wichtigkeit einer nervalen immunpsychischen Kommunikation zwischen Peripherie und ZNS (und nicht einer primären Kommunikation über den Blutweg) hin, durch Aktivierung und Weiterleitung mittels vagaler afferenter Nervenzellen (Gaillard, 2003; Harrison et al., 2009). Dieser Kommunikationsweg würde eine schnelle und exakte Statusmeldung von entzündlichem Geschehen in der Peripherie an das ZNS erlauben und wurde bereits mehrfach beschrieben (Dantzer et al., 2000; 2004; 2008; Konsman et al., 2002; Hopkins, 2007). So ließe sich auch erklären, wie die Menses als lokaler, immunologischer Vorgang über die beschriebene nervale Weiterleitung an das ZNS, die prämenstruellen psychischen Reaktionen auslösen könnte. Zudem müssten über diesen Weg auch keine weiteren Systeme des Organismus miteinbezogen werden und es wäre eine sehr genaue und zeitnahe Abstimmung zwischen ZNS und Immunsystem möglich. Dies ist notwendig, da eine zu starke

Aktivierung des Immunsystems den Körper schädigen kann, wie dies zum Beispiel bei autoimmunen Erkrankungen geschieht (Calcagni & Elenkov, 2006; Deinzer et al., 2004). Diese Überlegungen sind jedoch spekulativer Natur, da aufgrund der korrelativen Anlage der Studie eine Klärung der Wirkungsrichtung nicht möglich ist. Um bezüglich der Kausalität Aussagen treffen zu können, wäre es beispielsweise notwendig, Zytokine lokal in die Gebärmutter zu injizieren und im Anschluss daran die psychische Reaktion zu erfassen. Dies wäre jedoch höchstens im Tierversuch (mit Messung des reduzierten Bewegungsdranges) und unter großem Aufwand möglich. Human *in vivo* verbietet sich ein derartiger Versuch schon allein aus ethischen Aspekten von selbst.

### **4.2. Limitationen der Studie**

Wie bereits erläutert konnte kein genereller Zusammenhang zwischen Veränderungen in der psychischen Befindlichkeit und Veränderungen in den zervikalen Zytokinkonzentrationen in der zweiten Zyklushälfte nachgewiesen werden, sondern es zeigten sich lediglich Zusammenhänge von der psychischen Befindlichkeit mit den Zytokinkonzentrationen für Subgruppen mit prämenstruell stärkeren psychischen Beschwerden. Probleme, die die Aussagekraft der Studie einschränken können, ergeben sich aus den im Folgenden erläuterten Gründen.

#### **4.2.1. Fehlende Werte**

Eine bedeutende Limitation dieser Studie liegt darin, dass die gemessenen Zytokinkonzentrationen eine Reihe von fehlenden Werten aufweisen. Auffällig war, dass zum zweiten Messzeitpunkt die Zytokinkonzentrationen am häufigsten unterhalb der Nachweisgrenze lagen, während am ersten Messzeitpunkt, also unmittelbar nach der Menses und damit einer profunden Entzündungsreaktion, die wenigsten Fehlwerte (unabhängig vom gemessenen Zytokin) vorlagen. Aufgrund des deskriptiv aufgezeigten, zyklischen Verlaufs der Zytokine, mit einem Konzentrationsabfall zur Zyklusmitte (und daher besonders niedrigen Konzentrationen) sowie den höchsten Konzentrationen prä- und postmenstruell, ist dies durchaus plausibel. Dies spricht dafür, dass diese fehlenden Werte auf Zytokinmengen unterhalb der Detektionsgrenze des angewandten Messverfahrens zurückzuführen sind und nicht auf einen Fehler während der Messung. Zudem wurden die Zytokine human *in vivo* (bei gesunden jungen Frauen) gemessen und nicht *in vitro*, weshalb die gemessenen Konzentrationen generell oft

niedriger und wesentlich mehr äußeren Einflüssen unterworfen sind, als in Versuchen mit stimulierten Zellkulturen unter konstanten Laborbedingungen. Auch vergleichbare Multiplex-Studien berichten immer wieder von einer beachtlichen Anzahl fehlender Werte (z. B. Boomsma et al., 2009).

Um fehlende Werte zu ersetzen, wurde daher in dieser Studie das unter 2.6. beschriebene Imputationsverfahren angewandt. Dennoch gab es bei einigen Zytokinen so viele Fehlwerte, dass ein solches Vorgehen nicht möglich war. Problematisch ist hierbei, dass diese fehlenden Werte (insbesondere zum zweiten Messzeitpunkt) nicht in die deskriptive Statistik eingingen und dadurch das vermutete Ausmaß des Konzentrationsabfalls zum Zeitpunkt der Ovulation im Vergleich zur folliculären und lutealen Phase nicht erfasst werden konnte. Zudem konnten die entsprechenden Probandinnen mit mehreren fehlenden Werten nicht in die Auswertung mit Varianzanalysen eingeschlossen werden, da hier nur die Fälle eingingen, die zu allen Messzeitpunkten auch Messwerte aufwiesen. Dies führte je nach Zytokin zu unterschiedlichen und zum Teil deutlich verringerten Stichprobengrößen, was, wie auch bei den Korrelationsanalysen, eine Begrenzung der Teststärke bewirkt.

### **4.2.2. Zyklusunregelmäßigkeiten und anovulatorische Zyklen**

Weitere Schwierigkeiten ergeben sich aus der Individualität des Menstruationszyklus einer Frau, wodurch eine genaue Berechnung der einzelnen Messzeitpunkte (für die Planung der Probenentnahmen) sehr schwierig wird. Dies ist jedoch notwendig, um vergleichbare Entnahmezeitpunkte für alle Teilnehmerinnen zu erhalten. Insbesondere verfrühte Menstruationsblutungen traten im Rahmen der Studie gehäuft auf.

Dadurch konnten diese Probandinnen auch nicht in die statistische Datenauswertung mit Varianzanalysen eingeschlossen werden und die Probandinnenzahl verringerte sich damit zusätzlich zu den oben beschriebenen fehlenden Fällen. Doch auch für die deskriptiven Darstellungen ergaben sich damit große Probleme. Da durch die verfrühte Blutung bei den betroffenen Probandinnen keine Messergebnisse für den zweiten Messzeitpunkt (Ovulation) vorlagen, war auch bei der deskriptiven Darstellung die Stichprobengröße in der ovulären Phase reduziert. Gerade dieser Messzeitpunkt, für den die niedrigsten Zytokinkonzentrationen zu erwarten sind, hat aber für die Darstellung des zyklischen, talförmigen Verlaufs eine besonders hohe Aussagekraft.

Bei anderen Teilnehmerinnen war der Zyklus im Messzeitraum dagegen länger als die vorherigen, zur Terminplanung verwendeten Zyklen. Es waren daher zusätzliche

Messungen notwendig. Dadurch waren diese Probandinnen einem zusätzlichen Stressfaktor ausgesetzt und unterliegen damit nicht mehr den absolut gleichen Bedingungen, wie die restlichen Probandinnen.

Auffällig war, dass diese Unregelmäßigkeiten im Untersuchungszyklus gehäuft auftraten, obwohl vorherige Zyklen anamnestisch als zeitlich konstant angegeben wurden. Am wahrscheinlichsten scheint hier, dass der eigene Zyklus von den Frauen im Selbstbericht falsch eingeschätzt wurde. Diese Beobachtung könnte jedoch auch ein Hinweis darauf sein, dass die Erwartungshaltung im Untersuchungszeitraum oder die lokale Manipulation durch die Probenentnahmen die Schwankungen verursacht haben. Probleme ergeben sich dadurch vor allem bei der Terminplanung und Auswertung.

Es empfiehlt sich daher, in zukünftigen Studien vor Studienbeginn die Probandinnen über mehrere Zyklen zu beobachten, um die behauptete Regelmäßigkeit des Zyklus empirisch abzusichern. Außerdem ließen sich solche Probleme mit Zyklusunregelmäßigkeiten umgehen, indem engmaschigere Blutentnahmen zur Kontrolle des aktuellen Hormonstatus erfolgen würden. Dadurch wäre es bei unmittelbarer Auswertung dieser Hormonproben möglich, die aktuelle Zyklusphase zu bestimmen und anhand dieser die Messzeitpunkte festzulegen. Es ließe sich somit sicherstellen, dass für alle Probandinnen fünf Messwerte aus identischen Zyklusphasen vorlägen. Dies wäre jedoch mit einem sehr großen zeitlichen und logistischen Aufwand verbunden und den Probandinnen nur schwer zumutbar.

Auffällig war zudem, dass nahezu ein Drittel der Probandinnen (27%), die an der Studie teilgenommen haben, trotz körperlicher Gesundheit und zeitgerechter Blutung im untersuchten Zyklus keine Ovulation, d.h. keinen Progesteronanstieg in der zweiten Zyklusphase, aufwiesen. Diese Frauen wurden aufgrund der fehlenden Vergleichbarkeit nicht in die Datenanalyse eingeschlossen, wodurch die Stichprobengröße wesentlich geringer ausfiel als erwartet. Dieser Aspekt sollte in zukünftigen Studien bei der Rekrutierung, im Sinne einer deutlich höheren notwendigen Probandenzahl, berücksichtigt werden. Hier wäre auch interessant zu klären, inwieweit diese Anzahl anovulatorischer Zyklen für das Gesamtkollektiv junger und gesunder Frauen repräsentativ ist, insbesondere da bereits aufgrund der Einschlusskriterien von vornherein nur Frauen mit anamnestisch regelmäßigem Zyklus in die Studie eingeschlossen wurden, wodurch eine Selektion von Probandinnen mit regelmäßiger Ovulation erreicht werden sollte.



### **4.2.3. Fehlende Messung während der Menstruation**

Darüber hinaus sollte nicht vergessen werden, dass eine lokale Zytokinmessung während der Menstruation, aufgrund der Blutkontamination und der damit einhergehenden Verfälschung der Messwerte, nicht möglich ist. Da die Zytokine aber zum ersten Messzeitpunkt, direkt nach der Menses sowie zum letzten Messzeitpunkt, direkt vor der Menses, besonders hohe Konzentrationen aufweisen, scheint wahrscheinlich, dass die Zytokinkonzentrationen während der Blutung ebenfalls hoch sind. Dies kann jedoch im Rahmen der Messmethode dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Auch bleibt dadurch unklar, ob die höchsten Zytokinkonzentrationen prä-, meso- oder postmenstruell vorliegen. Ebenso muss geklärt werden, zu welchem Zeitpunkt die psychischen Beschwerden am größten sind. Es besteht daher die Möglichkeit, dass der stärkste Anstieg, sowohl auf psychischer als auch auf immunologischer Ebene, erst während der Menstruation erfolgt und daher gar nicht erfasst wurde.

### **4.2.4. Uterin versus zervikal**

Ein weiterer Punkt, der kritisch bedacht werden muss, ist, dass im Rahmen dieser Studie zervikale Zytokinkonzentrationen gemessen wurden, da wiederholte uterine Messungen *in vivo* aufgrund der anatomischen Verhältnisse nicht möglich sind. Wie in der Einleitung unter 1.7. bereits erläutert, scheinen beide Regionen denselben Regelkreisen zu unterliegen. Eine Analyse von zervikalem anstelle von uterinem Sekret scheint daher ein geeigneter Ersatz zu sein. Doch bislang fehlt diesbezüglich noch eine sichere Datenlage. Um hier Klarheit zu schaffen, wären Studien notwendig, die sowohl zervikale als auch uterine Zytokinkonzentrationen messen und diese miteinander vergleichen, wie dies zum Beispiel in der Studie von Boomsma et al. (2009) realisiert wurde. In dieser human *in vivo* Studie wurde endometriales Sekret untersucht, das Patientinnen im Rahmen einer In-Vitro-Fertilisation oder einer Intracytoplasmatischen Spermieninjektion entnommen wurde. Diese Vorgehensweise ist jedoch aus ethischen Gründen in einem messwiederholten Studiendesign über einen Menstruationszyklus hinweg selbstverständlich nicht möglich.

### **4.2.5. Erfassung prämenstrueller Symptome**

Die Erfassung der psychischen Befindlichkeit erfolgte im Rahmen dieser Studie mittels der deutschen Version der Skalen des Profile-of-Mood-States-Fragebogens, mit den

Skalen Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut. Insbesondere die ersten drei Skalen weisen dabei eine Beziehung zu den inflammatorischen Parametern auf. Zu überlegen wäre der Einsatz eines weiteren, PMS-spezifischen Fragebogens, zur besseren Erfassung typischer prämenstrueller Beschwerden. Bislang gibt es jedoch keine einheitlichen Diagnosekriterien und damit auch keinen einheitlichen Fragebogen zur Erfassung prämenstrueller Symptome. Zudem bestände beim Einsatz eines solchen Fragebogens die Gefahr, dass die Teilnehmerinnen die Absicht der Studie erkennen und damit die Untersuchungsergebnisse durch Erwartungseffekte der Probandinnen verzerrt werden könnten.

### 4.3. Gesamtdiskussion

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass in dieser Studie zyklische Schwankungen der psychischen Befindlichkeit und von lokalen (zervikalen) Entzündungsparametern gefunden werden können, jedoch nicht von systemischen (hämatogenen).

Diese Schwankungen sind bei der psychischen Befindlichkeit jedoch nur in geringem Ausmaß zu beobachten. Hier ist zu erwarten, dass es eine Gruppe von Teilnehmerinnen gibt, die prämenstruell psychische Beschwerden haben, während andere keinerlei Veränderungen zeigen. Es kann daher vermutet werden, dass die These über zyklische Veränderungen der psychischen Befindlichkeit bei Betrachtung von Subgruppen durchaus bestätigt werden kann.

Für die lokalen Entzündungsparameter zeigen sich ebenfalls systematische, zyklusassoziierte Veränderungen, mit hohen Zytokinkonzentrationen in der folliculären Phase (unmittelbar nach der Menstruation), dem ein Abfall zur Ovulation folgt. Anschließend steigen die Zytokinkonzentrationen prämenstruell wieder an. Diese zeitlichen Veränderungen erreichen für die Zytokine IL-6, IL-8, IL-12 und IL17 auch statistische Signifikanz. Diese Ergebnisse stützen die Annahme, dass es sich bei der Menses um einen primär lokalen, inflammatorischen Prozess handelt (Gargiulo et al., 2004; Kutteh et al., 1998; Kanai et al., 1997; Bollen et al., 2008; Critchley et al., 2001; Kayisli et al., 2002; Wolff et al., 2000) und verdeutlichen die Notwendigkeit lokaler Messungen zur Erfassung dieser Immunprozesse (Tracey, 2002; Deinzer et al., 2004; Hopkins, 2007). Dementsprechend scheint es unwahrscheinlich, dass hämatogene Zytokine einen Zusammenhang mit Änderungen der psychischen Befindlichkeit während des Menstruationszyklus haben könnten.

Ein Zusammenhang zwischen Veränderungen von lokalen Zytokinkonzentrationen und psychischer Befindlichkeit in der zweiten Zyklushälfte kann bei einem Gesamtkollektiv von gesunden jungen Frauen *in vivo*, nicht gefunden werden. Jedoch gibt es signifikante Unterschiede zwischen Subgruppen (mit und ohne lutealer Verschlechterung der psychischen Befindlichkeit), mit zumeist höheren Konzentrationen und stärkeren Schwankungen lokaler, inflammatorischer Marker bei Probandinnen mit lutealer Verschlechterung der Befindlichkeit. Hervorzuheben sind dabei insbesondere die lokalen Zytokine IL-4, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17, die zwar bei Betrachtung aller Probandinnen zusammen nicht immer eine signifikante, zeitliche Veränderung aufweisen, jedoch signifikante Unterschiede im Konzentrationsverlauf zwischen Gruppen mit und ohne spät-lutealen psychischen Symptomen zeigen. Außerdem scheint das Symptom Müdigkeit in diesen Subgruppen besonders stark mit der inflammatorischen Aktivität (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17) zusammenzuhängen. Zusätzlich zeigen sich punktuelle Zusammenhänge zwischen lokalen Zytokinen und psychischer Befindlichkeit, insbesondere postmenstruell, d.h. folliculär. Inwieweit bezüglich dieser Parametern ein Kausalzusammenhang besteht, kann aufgrund der deskriptiven korrelativen Anlage dieser Grundlagenstudie nicht geklärt werden.

Mit diesen Ergebnissen konnte diese Pilotstudie somit einen ersten Einblick in einen innovativen Ansatz zur Erforschung der Ätiologie prämenstrueller Symptome geben und erste Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen psychischer Befindlichkeit und diversen Entzündungsmediatoren in einer *human in vivo* Untersuchung aufzeigen. Zudem konnte das Verständnis und das Wissen über den Ablauf des weiblichen Menstruationszyklus verbessert werden. Dadurch wurden weitere, interessante Forschungsansätze aufgedeckt, die den Rahmen dieser Grundlagenstudie jedoch überschreiten, um die Ätiologie dieser weit verbreiteten, prämenstruellen Symptome zu klären.

Könnten weitere Studien diese Zusammenhänge bestätigen und genauer eingrenzen, wären neue Studiendesigns zur Klärung eines möglichen Kausalitätszusammenhangs wünschenswert. Daraus ergäben sich weitere Forschungsmöglichkeiten, auch mit Einbezug neuropsychologischer Ansätze. Außerdem könnten in weiteren Schritten mögliche Therapieansätze für die Behandlung prämenstrueller Beschwerden abgeleitet werden und somit gegebenenfalls einem großen Kollektiv geholfen werden.

### 5. Zusammenfassung

Die Menstruation, als ein natürlicher und normaler Vorgang im reproduktionsfähigen weiblichen Körper, ruft bei einer Vielzahl von Frauen zyklische psychische und physische Beschwerden hervor. Diese beginnen typischerweise kurz vor Einsetzen der Monatsblutung und dauern wenige Tage an. Abhängig von der Ausprägung können diese Symptome auch ein pathologisches Ausmaß annehmen und die betroffenen Frauen erheblich belasten. Die Ursache dieser Beschwerden ist nach wie vor nicht geklärt. Diskutiert wurden bisher vor allem hormonelle Veränderungen. Neuere Studien zeigen jedoch eine Verknüpfung von psychischer Befindlichkeit mit der Aktivität des Immunsystems, insbesondere proinflammatorischen Zytokinen. Da die Menstruation eine Entzündungsreaktion des Endometriums darstellt (charakterisiert durch Ödembildung und den Einstrom bzw. Proliferation verschiedener immunkompetenter Zellen) werden auch Veränderungen der uterinen Immunaktivität als vermittelnde Mechanismen diskutiert. Bislang ist die Datenlage aber bezüglich dieser lokalen Veränderungen, insbesondere auch im Hinblick auf einen Zusammenhang mit zyklischen Änderungen der psychischen Befindlichkeit, sehr gering und es existieren keine messwiederholten Untersuchungen. Daher hat die vorliegende Dissertation das Ziel, potentielle Zusammenhänge zwischen der Sekretion bestimmter Immunmediatoren innerhalb verschiedener Zyklusphasen auch in Zusammenhang mit Veränderungen der psychischen Befindlichkeit in der zweiten Zyklushälfte zu analysieren.

Untersucht wurden 49 junge, gesunde Frauen an fünf Messzeitpunkten im Verlauf eines Menstruationszyklus (postmenstruell, während der Ovulation und dreimal in der Lutealphase). Hierbei wurden die psychische Befindlichkeit über die POMS-Skalen Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut sowie die lokalen (Zervixsekret) und systemischen (Blutserum) Konzentrationen der Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-17 erfasst.

Die Ergebnisse zeigen Schwankungen der lokalen Zytokinkonzentrationen und der psychischen Befindlichkeit im Verlauf des Zyklus, mit niedrigsten Konzentrationen bzw. Beschwerden zur Zyklusmitte (Ovulation) und hohen Konzentrationen bzw. Beschwerden vor und direkt nach der Menses (signifikant für IL-6, IL-8, IL-12 sowie für Tatendrang). Für hämatogene Zytokine konnten dagegen keine Veränderungen gefunden werden. Ein Zusammenhang zwischen Veränderungen von lokalen Zytokinkonzentrationen und psychischer Befindlichkeit in der zweiten Zyklushälfte *in vivo* kann bei einem Gesamtkollektiv von gesunden jungen Frauen nicht gefunden werden. Jedoch gibt es signifikante Unterschiede zwischen Subgruppen (mit und ohne spätlutealer Verschlechterung der psychischen Befindlichkeit), mit zumeist höheren Konzentrationen und stärkeren Schwankungen lokaler inflammatorischer Marker bei Probandinnen mit lutealer Verschlechterung der Befindlichkeit.

Somit konnte diese Pilot-Studie erstmals lokale zyklische Veränderungen von Zytokinen in einem messwiederholten Studiendesign nachweisen und einen möglichen Zusammenhang mit der Ätiologie prämenstrueller Symptome bestärken. Damit gibt diese Studie einen Einblick in einen innovativen Ansatz zur Erforschung psychoimmunologischer Zusammenhänge zwischen lokaler uteriner Immunaktivität und psychischer Befindlichkeit während des Menstruationszyklus.

### 6. Summary

The menstruation as a natural process in females of reproductive age causes recurrent periodic psychological and physiological complaints for a lot of women. These complaints usually start shortly before menstrual bleeding and last for a few days. Depending on their severity, these symptoms can affect women seriously and can reach a pathological extent. The aetiology of these symptoms is still unknown. So far cycle-associated changes of gonadal hormones have been focused on within this context. However, a variety of animal and human studies have shown an association between mood and behavior and the activity of the immune system, especially proinflammatory cytokines. Since the menstruation represents an inflammatory response within the endometrium (characterized by tissue edema and influx and proliferation of immune cells) inflammatory processes are also discussed to potentially mediate these symptoms. Until now, there are only a few studies that have examined such local inflammatory changes and repeated measurement analyses are missing especially with respect to a possible relationship between local uterine inflammation and cyclic mood changes. Therefore the aim of this dissertation is to systematically analyse the alterations of cytokine concentrations across the menstrual cycle as well as associations between changes of these cytokines and of mood in the second cycle phase.

Subjects of this study were 49 young healthy naturally cycling females who were examined five times within one menstrual cycle (immediately after menstruation, around ovulation and three times in the luteal cycle phase). Mood was measured via the Profile of Mood States questionnaire (POMS) with four subscales (depression, fatigue, anger and vigor). In order to assess inflammation concentrations, the following cytokines were analyzed on a local level (cervical secretions) and on a systemic level (blood serum): IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and IL-17.

Results show alterations of local cytokine concentrations across the menstrual cycle with lowest concentrations and lowest levels of symptoms occurring at the middle of the menstrual cycle (around ovulation) and high concentrations and levels of symptoms before and immediately after menses, (significant for vigor as well as IL-6, IL-8 and IL-12). No changes were observed for the systemic concentrations of the cytokines. Overall, no correlations between changes of the local cytokine concentrations and mood in the second cycle phase could be detected in this study sample consisting of healthy young females. However, significant differences between subgroups (with and without mood aggravation in the luteal phase) were found, showing higher concentrations and more dynamic variations of local cytokines in subjects with mood aggravation in the luteal cycle phase.

To conclude, this pilot-study could demonstrate local cytokine alterations across the menstrual cycle in repeated measurement analyses. Furthermore, the possibility of a relationship between cyclic inflammatory processes and the aetiology of premenstrual symptoms could be strengthened. Therefore this study applied an innovative approach for the analysis of a potential psycho-immunological relationship between uterine inflammatory activity and mood / behavior during the menstrual cycle.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
allg.	Allgemein
B_ILx	Im Serum gemessene Zytokinkonzentration des Interleukins x
BMI	Body Mass Index
bzw.	Beziehungsweise
CDx	Cluster of Differentiation Nr. x
CRH	Corticotropin-releasing Hormone
CRP	C-reaktives Protein
CSF	Kolonie-Stimulierender Faktor
DFG	Deutschen Forschungsgemeinschaft
d. h.	Das heißt
DSM-IV	Vierte Ausgabe des Diagnostischen und Statistischen Handbuchs Psychischer Störungen
E	Östrogen
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay
F	Freiheitsgrade
FA	Firma
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
<i>g</i>	Gravitationskraft / Erdbeschleunigung (Zentrifugen)
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender Faktor
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
hs-CRP	Hoch sensitives C-reaktives Protein
ICD 10	Internationalen Klassifikation der Krankheiten, 10. Revision
IFN- $\gamma$	Interferon $\gamma$
Ig	Immunglobulin
IL-x	Interleukin Nr.x
kDa	Kilodalton
KK	Korrelationskoeffizient
LH	Luteinisierendes Hormon
ln	Natürlicher Logarithmus
LPS	Lipopolysaccharid
M	Mittelwert
Max	Maximum
MCH	Major Histocompatibility Complex

## 7. Abkürzungsverzeichnis

---

MIA	Mikropartikel Immunoassay
Min	Minimum
min	Minute
Missm.	Missmut
Müd.	Nüdigkeit
MZP	Messzeitpunkt
N	Stichprobengröße
n	Anzahl
Nied.	Niedergeschlagenheit
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
P	Progesteron
p	Signifikanzniveau
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PEG	Polyethylenglycol
PGE	Prostaglandin E
PMDS	Prämenstruelle Dysphorische Störung
PMS	Prämenstruelles Syndrom
POMS	Profile of Mood States-Fragebogen
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SSRI	Selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer
Tat.	Tatendrang
TGF	Transforming Growth Factor
TH	T-Helferzelle
TICS	Trierer Inventar zum chronischen Stress
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
u. a.	Unter anderem
z. B.	Zum Beispiel
Z_ILx	Zervikal gemessene Zytokinkonzentration des Interleukins x
ZNS	Zentrales Nervensystem
ZSE	Zwischensubjekteffekt
$\varepsilon$	Greenhouse-Geisser $\varepsilon$
$\eta^2$	Maß der Effektstärke das partielle eta <sup>2</sup>
$\rho$	Spearman-Rho

## 8. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Hormonkonzentrationen (Östradiol, Progesteron, FSH und LH) und korrespondierender Auf- und Abbau des Endometriums im Verlauf eines durchschnittlichen 28 Tage Zyklus (Abbildung nach Klinke et al., 2005). .....3
- Abbildung 2: Graphische Darstellung des zeitlichen Ablaufs der fünf MZP (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3), dargestellt für einen 28 Tage Zyklus: 1. MZP Follikulär, 1-4 Tage nach Ende der Menses; 2. MZP Ovulation; 3-5. MZP Luteal 1-3 (9-8, 6-4 bzw. 3-1 Tage vor der erwarteten nächsten Menses) (aus Deinzer & Tinneberg, 2008). .....30
- Abbildung 3: Mittelwerte und Standardfehler der logarithmierten Konzentrationen von FSH, LH, Östradiol und Progesteron im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3. N=49 für die Messzeitpunkte Follikulär, und Luteal 1-3; N=38 für den Messzeitpunkt um die Ovulation, da 11 Probandinnen eine vorzeitige Blutung aufwiesen (siehe auch 2.5.3.).....36
- Abbildung 4: Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten POMS-Skalen (Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut) im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3. N=49 für die Messzeitpunkte Follikulär, und Luteal 1-3; N=38 für den Messzeitpunkt um die Ovulation, da 11 Probandinnen eine vorzeitige Blutung aufwiesen (siehe auch 2.5.3.)...38
- Abbildung 5: Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten Konzentrationen der systemischen Interleukine 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 17 im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3 für die Probandinnen, die in die Messwiederholungsanalyse eingingen. ....40
- Abbildung 6: Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten, zervikalen Konzentrationen der Interleukine 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 17 im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3 für die Probandinnen, die in die Messwiederholungsanalyse eingingen. ....42



Abbildung 7: Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Zunahme von lutealer Niedergeschlagenheit (durchgezogene Linie) und Abnahme bzw. gleichbleibender lutealer Niedergeschlagenheit (gestrichelte Linie).....49

Abbildung 8: Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Abnahme von lutealem Tatendrang (durchgezogene Linie) und Zunahme bzw. gleichbleibendem Tatendrang (gestrichelte Linie). .....51

Abbildung 9: Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Zunahme von lutealer Müdigkeit (durchgezogene Linie) und Abnahme bzw. gleichbleibender lutealer Müdigkeit (gestrichelte Linie). .....53

Abbildung 10: Mittelwerte und Standardfehler der log-transformierten zervikalen Zytokinkonzentrationen, im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3, nach Unterteilung in Gruppen mit Zunahme von lutealem Missmut (durchgezogene Linie) und Abnahme bzw. gleichbleibendem lutealem Missmut (gestrichelte Linie). .....55

## 9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zeiteffekte in den POMS-Skalen Niedergeschlagenheit, Tatendrang, Müdigkeit und Missmut im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3. ....	37
Tabelle 2: Detektionsraten der systemischen Zytokine in % zu den einzelnen Messzeitpunkten.....	39
Tabelle 3: Zeiteffekte in den systemischen Zytokinen im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3. ....	39
Tabelle 4: Detektionsraten der zervikalen Zytokine in % zu den einzelnen Messzeitpunkten.....	41
Tabelle 5: Zeiteffekte in den zervikalen Zytokinen im Verlauf über die fünf Messzeitpunkte Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3. ....	41
Tabelle 6: Zusammenhänge zwischen psychischen Veränderungen und Veränderungen in den zervikalen Zytokinkonzentrationen, jeweils in der zweiten Zyklushälfte. ....	43
Tabelle 7: Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Follikulär“. ....	44
Tabelle 8: Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Ovulation“. ....	45
Tabelle 9: Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Luteal 1“. ....	45
Tabelle 10: Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Luteal 2“. ....	46
Tabelle 11: Zusammenhänge zwischen der psychischen Befindlichkeit (POMS-Skalen) und den zervikalen Zytokinkonzentrationen zum Messzeitpunkt „Luteal 3“. ....	46
Tabelle 12: Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Niedergeschlagenheit. ....	48

Tabelle 13: Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Tatendrang.....	50
Tabelle 14: Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Müdigkeit. ....	52
Tabelle 15: Effekte in den zervikalen Zytokinkonzentrationen nach Subgruppen für die Skala Missmut. ....	54
Tabelle 16: Mittelwert und Standardabweichung von Alter, BMI und TICS-Score der gesamten Stichprobe (N = 49). ....	95
Tabelle 17: Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die absoluten Konzentrationen der Hormone Östradiol (E), FSH, LH und Progesteron (P) an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile. ....	95
Tabelle 18: Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die Absolutwerte der POMS-Skalen Niedergeschlagenheit (NIED), Tatendrang (TAT), Müdigkeit (MÜD) und Missmut (MISSM) an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile.....	95
Tabelle 19: Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die absoluten Konzentrationen der hämatogen gemessenen Zytokine an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile.....	96
Tabelle 20: Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die absoluten Konzentrationen der zervikal gemessenen Zytokine an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile.....	96
Tabelle 21: Stichprobengrößen (N) der Varianzanalyse der zervikal gemessenen Zytokine für die Gruppen mit Zu- bzw. Abnahme/gleichbleiben von lutealer Niedergeschlagenheit (NIED), Tatendrang (TAT), Müdigkeit (MÜD) und Missmut (MISS).....	97
Tabelle 22: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).....	97

Tabelle 23: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zur Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).....	98
Tabelle 24: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).....	98
Tabelle 25: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).....	99
Tabelle 26: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).....	99
Tabelle 27: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B_) und zervikalen Zytokinen (Z_) zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).....	100
Tabelle 28: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B_) und zervikalen Zytokinen (Z_) zum Messzeitpunkt Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).....	101
Tabelle 29: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B_) und zervikalen Zytokinen (Z_) zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N). .....	102
Tabelle 30: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B_) und zervikalen Zytokinen (Z_) zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N). .....	103
Tabelle 31: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B_) und zervikalen Zytokinen (Z_) zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N). .....	104

- Tabelle 32: Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...105
- Tabelle 33: Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...106
- Tabelle 34: Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...107
- Tabelle 35: Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...108
- Tabelle 36: Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...109
- Tabelle 37: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...110
- Tabelle 38: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...111
- Tabelle 39: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...112
- Tabelle 40: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...113
- Tabelle 41: Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße ( $N$ )...114

## 10. Literaturverzeichnis

1. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2005). Cellular and molecular immunology. 6. Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 267-300.
2. Abrahama, J., Johnsona, R.W., (2009). Central inhibition of interleukin-1 $\beta$  ameliorates sickness behavior in aged mice. *Brain Behav Immun.*, 23, 396–401.
3. ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) (2000). Practice bulletin: premenstrual syndrome. *Obstet Gynecol.*, 95, 1-9.
4. Agid, O., Kohn, Y., Lerer, B. (2000). Environmental stress and psychiatric illness. *Biomed Pharma cother.*, 54, 135-41
5. American Psychiatric Association. (1994). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV, 715-8.
6. Anisman, H., Merali, Z., Poulter, M.O., Hayley, S. (2005). Cytokines as a precipitant of depressive illness: animal and human studies. *Curr Pharm Des.*, 11, 963-972.
7. Aschbacher, K., Epel, E., Wolkowitz, O.M., Prather, A.A., Puterman, E., Dhabhar, F.S. (2012). Maintenance of a positive outlook during acute stress protects against pro-inflammatory reactivity and future depressive symptoms. *Brain Behav Immun.*, 26, 346-52.
8. Baggiolini, M., Clark-Lewis, I. (1992). Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Lett.*, 307, 97–101.
9. Bancroft, J., Rennie, D. (1995). Perimenstrual Depression: Its Relationship to Pain, Bleeding, and Previous History of Depression. *Psychosomatic Medicine*, 57, 445-452.
10. Bancroft, J., Rennie, D., Warner, P. (1994). Vulnerability to Perimenstrual Mood Change: The Relevance of a Past History of Depressive Disorder. *Psychosomatic Medicine*, 56, 225-231.
11. Benson, S., Arck, P.C., Tan, S., Mann, K., Hahn, S., Janssen, O.E., Schedlowski, M., Elsenbruch, S. (2009). Effects of obesity on neuroendocrine, cardiovascular and immune cell responses to acute psychosocial stress in premenopausal women. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 181-9
12. Bergmann, A., Deinzer, R. (2008). Daytime variations of interleukin 1 $\beta$  in gingival crevicular fluid. *Eur J Oral Sci.*, 116, 18-22.
13. Berkenbosch, F., Wolvers, D.A., Derijk, R. (1991). Neuroendocrine and immunological mechanisms in stress-induced immunomodulation. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 40, 639-47.

14. Biehl, B., Landauer, A. (1975). *Das Profile of Mood States (POMS)*, Mannheim.
15. Bird, M.D., Kovacs, E.J. (2008). Organ-specific inflammation following acute ethanol and burn injury. *Journal of Leukocyte Biology.*, 84, 607-613.
16. Blomberg, B.B., Alvarez, J.P., Diaz, A., Romero, M.G., Lechner, S.C., Carver, C.S., Holley, H., Antoni, M.H. (2006). Psychosocial adaptation and cellular immunity in breast cancer patients in the weeks after surgery: An exploratory study. *J Psychosom Res.*, 67, 369-76.
17. Bollen, L.J., Blanchard, K., Kilmarx, P.H., Chaikummao, S., Connolly, C., Wasinrapee, P., Srivirojana, N., Achalapong, J., Tappero, J.W., McNicholl, J.M. (2008). No increase in cervicovaginal proinflammatory cytokines after Carraguard use in a placebo-controlled randomized clinical trial. *J. Acquir Immune Defic Syndr.*, 47, 253-7.
18. Boomsma, C.M., Kavelaars, A., Eijkemans, M.J., Amarouchi, K., Teklenburg, G., Gutknecht, D., Fauser, B.J., Heijnen, C.J., Macklon, N.S. (2009). Cytokine profiling in endometrial secretions: a non-invasive window on endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online*, 18, 85-94.
19. Brenner, R.M., Nayak, N.R., Slayden, O.D., Chritchley, H.O., Kelly, R.W. (2002). Premenstrual and menstrual changes in the macaque and human endometrium: relevance to endometriosis. *Ann NY Acad. Sci.*, 955, 60-74; discussion 86-8, 396-406.
20. Brummett, B.H., Boyle, S.H., Ortel, T.L., Becker, R.C., Siegler, I.C., Williams, R.B. (2010). Associations of depressive symptoms, trait hostility, and gender with C-reactive protein and interleukin-6 response after emotion recall. *Psychosom Med.*, 72, 333-9.
21. Brydon, L., Walker, C., Wawrzyniak, A., Whitehead, D., Okamura, H., Yajima, J., Tsuda, A., Steptoe, A. (2009) Synergistic effects of psychological and immune stressors on inflammatory cytokine and sickness response in humans. *Behavior and Immunity*, 23, 217-224.
22. Calcagni, E., Elenkov, I. (2006). Stress system activity, innate and T helper cytokines, and susceptibility to immune-related diseases. *Ann N Y Acad Sci.*, 1069, 62-76.
23. Campagne, D.M., Campagne, G. (2007). The premenstrual syndrome revisited. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 130, 4-17.
24. Cannon, J.G., Abad, L.W., Vannier, E., Lynch, E.A. (1998). Menstrual- and gender-dependent variations in circulating IL-1 agonists, antagonists, and binding proteins. *J Leukoc Biol.*, 63, 117-23.

25. Capuron, L., Miller, A.H. (2004). Cytokines and psychopathology: lessons from interferon-alpha. *Biol Psychiatry*, 56, 819-824.
26. Capuron, L., Ravaut, A., Gualde, N., Bosmans, E., Dantzer, R., Maes, M., Neveu, P.J. (2001). Association between immune activation and early depressive symptoms in cancer patients treated with interleukin-2-based therapy. *Psychoneuroendocrinology*, 26, 797-808.
27. Carobrez, S.G., Gasparotto, O.C., Buwalda, B., Bohus, B (2002). Long-term consequences of social stress on corticosterone and IL-1beta levels in endotoxin-challenged rats. *Physiol Behav.*, 76, 99-105.
28. Castle, P.E., Hildesheim, A., Bowman, F.P., Strickler, H.D., Walker, J.L., Pustilnik, T., Edwards, R.P., Crowley-Nowick, P.A. (2002). Cervical concentrations of interleukin-10 and interleukin-12 do not correlate with plasma levels. *J Clin Immunol.*, 22, 23-27.
29. Castle, P.E., Rodriguez, A.-C., Bowman, F.P., Herrero, R., Schiffman, M., Bratti, M.C., Morera, L.A., Schust, D., Crowley-Novick, P., Hildesheim, A. (2004). Comparison of ophthalmic sponges for measurements of immune markers from cervical secretions. *Clin Diagn Lab Immunol.*, 11, 399-405.
30. Cauci, S., Guaschino, S., Aloysio, D., Driussi, S., Santo, D., Penacchioni, P., Quadrifoglio, F. (2003). Interrelationships of interleukin-8 with interleukin-1 $\beta$  and neutrophils in vaginal fluid of healthy and bacterial vaginosis positive women. *Molecular Human Reproduction*, 9, 53-58.
31. Crews, F.T., Bechara, R., Brown, L.A., Guidot, D.M., Mandrekar, P., Oak, S., Qin, L., Szabo, G., Wheeler, M., Zou, J. (2006). Cytokines and alcohol. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 30, 720-30.
32. Critchley, H.O.D., Kelly, R.W., Brenner, R.M., Baird, D.T. (2001). The endocrinology of menstruation – a role for the immune system. *Clin Endocrinol.*, 55, 701-710.
33. Crowley-Nowick, P.A., Bell, M.C., Brockwell, R., Edwards, R.P., Chen, S., Partridge, E.E., Mestecky, J. (1997). Rectal immunization for induction of specific antibody in the genital tract of women. *J Clin Immunol.*, 17, 370-9.
34. Cutolo, M., Serio, B., Cravio, C., Pizzorni, C., Sulli, A. (2003). Circadian rhythms in RA. *Ann Rheum Dis.*, 62, 593-596.
35. Cutolo, M., Sulli, A., Pizzorni, C., Secchi, M.E., Soldano, S., Serio, B., Straub, R.H., Otsa, K., Maestroni, G.J. (2006). Circadian rhythms: glucocorticoids and arthritis. *Ann NY Acad. Sci.*, 1069, 289-99.



36. Dalla, C., Pitychoutis, P.M., Kokras, N., Papadopoulou-Daifoti, Z. (2011). Sex differences in response to stress and expression of depressive-like behaviours in the rat. *Curr Top Behav Neurosci.*, 8, 97-118.
37. Danzer, R. (2004). Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. *Eur J Pharmacol.*, 500, 399-411.
38. Dantzer, R., Kelley, K. (2007). Twenty years of research on cytokine-induced sickness behaviour. *Brain Behav Immun.*, 21, 153-160.
39. Dantzer, R., Konsman, J.P., Bluthé, R.-M., Kelley, K.W. (2000). Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? *Auton Neurosci.*, 85, 60-65.
40. Dantzer, R., O'Connor, J.C., Freund, G.G., Johnson, R.W., Kelley, K. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci.*, 9, 46-56.
41. Deinzer, R., Förster, P., Fuck, L., Herforth, A., Stiller-Winkler, R., Idel, H. (1999). Increase of crevicular interleukin 1beta under academic stress at experimental gingivitis sites and at sites of perfect oral hygiene. *J Clin Periodontol.*, 26, 1-8.
42. Deinzer, R., Granrath, N., Stuhl, H., Twork, L., Idel, H., Waschul, B., Herforth, A. (2004). Acute stress effects on local IL-1 $\beta$  responses to pathogens in a human in vivo model. *Brain, Behavior, and Immunity*, 18, 458-467.
43. Deinzer, R., Kottmann, W., Förster, P., Herforth, A., Stiller-Winkler, R., Idel, H. (2000). After-effects of stress on crevicular interleukin-1beta. *J Clin Periodontol.*, 27, 74-7.
44. Deinzer & Tinneberg, 2008; Studienprotokoll Untersuchung des Zusammenhangs zwischen inflammatorischen Veränderungen und Befindlichkeitsschwankungen bei Frauen im Verlauf des menstruellen Zyklus, Ethikvotum (Nr. 109/08) der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Gießen.
45. Deuster, P., Adera, T., South-Paul, J. (1999). Biological, social and behavioural factors associated with premenstrual syndrome. *Arch Fam Med.*, 8, 122-128.
46. Dunn, A.J., Swiergiel, A.H., de Beaurepaire, R. (2005). Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies? *Neurosci Biobehav Rev.*, 29, 891-909.
47. Elenkov, I.J., Chrousos, G.P. (2002). Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines and autoimmunity. *Ann NY Acad Sci.*, 966, 290-303.
48. Faas, M., Bouman, A., Moesa, H., Heineman, M.J., de Leij, L., Schuiling, G. (2000). The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: a Th2-type response? *Fertil Steril.*, 74, 1008-13.

49. Falasca, K., Mancino, P., Ucciferri, C., Dalessandro, M., Manzoli, L., Pizzigallo, E., Conti, C.M., Vecchiet, J. (2009). Quality of life, depression, and cytokine patterns in patients with chronic hepatitis C treated with antiviral therapy. *Clin Invest Med.*, 32, 212-8.
50. Feige, A., Rempfen, A., Würfel, W., Jawny, J., Caffier, H., (Hrsg): *Frauenheilkunde Fortpflanzungsmedizin – Geburtsmedizin - Onkologie*. München: Urban und Fischer, 2. Auflage (2001), 10ff.
51. Finn, C.A. (1986). Implantation, menstruation and inflammation. *Biol Rev.*, 61, 313-328.
52. Frank G.R., Brar A.K., Jikihara H., Cedars M.I., Handwerger S. (1995). Interleukin-1p and the Endometrium: An Inhibitor of Stromal Cell Differentiation and Possible Autoregulator of Decidualization. *Humans Biology of Reproduction*, 52, 184-191.
53. Frank R.T., (1931). The Hormonal Causes of Premenstrual Tension. *Archives of Neurology and Psychiatry*, 26, 1053-7.
54. Freeman, E.W. (2003) premenstrual syndrome and premenstrual dysphoric disorder: definitions and diagnosis. *Psychoneuroendocrinology*, 28, 25-37
55. Freeman, E.W., DeRubeis, R.J., Rickels, K. (1996) Reliability and validity of a daily diary for premenstrual syndrome. *Psychiatry Research*, 65, 97-106.
56. Futtermann L.A., Rapkin A.J. (2006). Diagnosis of Premenstrual Disorders. *J Reprod Med.*, 51, 349-357.
57. Gaffen, S.L., Hajishengallis, G. (2008). A new inflammatory cytokine on the block: rethinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 and IL-17. *J. Dent. Res.*, 87, 817-828.
58. Gaillard, R.C. (2003) Interactions between the immune and neuroendocrine systems: clinical implications. *J. Soc. Biol.*, 197, 89-95.
59. Gargiulo, A.R., Fichorova, R.N., Politch, J.A., Hill, J.A., Anderson, D.J. (2004). Detection of implantation-related cytokines in cervicovaginal secretions and peripheral blood of fertile women during ovulatory menstrual cycles. *Fertility and Sterility*, 82, 1226-1234.
60. Goujon, E., Parnet, P., Aubert, A., Goodall, G., Dantzer, R. (1995). Corticosterone regulates behavioral effects of lipopolysaccharide and interleukin-1 beta in mice. *Am J Physiol.*, 269, 154-9.
61. Gravitt P.E., Hildesheim A., Herrero R., Schiffman M., Sherman M.E., Bratti M.C., Rodriguez A.C., Morera L.A., Cardenas F., Bowman F.P., Shah K.V., Crowley-Nowick P.A, (2003). Correlates of IL-10 and IL-12 concentrations in cervical secretions. *J Clin Immunol.*, 23, 175-83.

62. Greene R, Dalton K., (1953). The premenstrual syndrome. *British Medical J.*, 1, 1007-14.
63. Halbreich U. (2003). The etiology, biology, and evolving pathology of premenstrual syndromes. *Psychoneuroendocrinology*, 28, 55–99.
64. Halbreich U., Borenstein J., Pearlstein T., Kahn L.S., (2003a) The prevalence, impairment, impact and burden of premenstrual dysphoric disorder (PMS / PMDD), *Psychoneuroendocrinology*, 28, 1-23.
65. Halvorsen, B., Lund Sagen, E., Ueland, T., Aukrust, P., Tonstad, S. (2007). Effect of smoking cessation on markers of inflammation and endothelial cell activation among individuals with high risk for cardiovascular disease. *Scand J Clin Lab Invest.*, 67, 604-11.
66. Hamer, M., Steptoe, A. (2009). Prospective study of physical fitness, adiposity, and inflammatory markers in healthy middle-aged men and women. *Am J Clin Nutr.*, 89, 85-9.
67. Harden, L.M., du Plessis, I., Roth, J., Loram, L.C., Poole, S., Laburn, H.P. (2011). Differences in the relative involvement of peripherally released interleukin (IL)-6, brain IL-1 $\beta$  and prostanoids in mediating lipopolysaccharide-induced fever and sickness behavior. *Psychoneuroendocrinology*, 36, 608-22.
68. Harrison, N.A., Brydon, L., Walker, C., Gray, M.A., Steptoe, A., Dolan, R.J., Critchley, H.D. (2009). Neural Origins of Human Sickness in Interoceptive Responses to Inflammation. *Biol Psychiatry*, 66, 415-422.
69. Hastie, C.E., Haw, S., Pell, J.P. (2008). Impact of smoking cessation and lifetime exposure on C-reactive protein. *Nicotine Tob. Res.*, 10, 637-42.
70. Häuser, W., Schmidt, C., Stallmach, A. (2011). Depression and mucosal proinflammatory cytokines are associated in patients with ulcerative colitis and pouchitis - A pilot study. *J Crohns Colitis*, 5, 350-3.
71. Heidelberger, M., Kendall, F.E. (1935). A quantitative theory of the precipitin reaction: III The reaction between crystalline egg albumin and its homologous antibody. *J Exp Med.*, 62, 697-720.
72. Heidelberger, M., Kendall, F.E. (1935). A quantitative theory of the precipitin reaction: II A study of an azoprotein-antibody system, 62, 467-83.
73. Heidelberger, M., Kendall, F.E. (1935). The precipitin reaction between type III *Pneumococcus* polysaccharide and homologous antibody: III A quantitative study and a theory of the reactions mechanism, 61, 563-91.
74. Heinz, A., Hermann, D., Smolka, M.N., Rieks, M., Gräf, K.J., Pöhlau, D., Kuhn, W., Bauer, M. (2003). Effects of acute psychological stress on adhesion

- molecules, interleukins and sex hormones: implications for coronary heart disease. *Psychopharmacology*, 165, 111-7.
75. Hellsing K. (1972). Influenced polymers on the antigen-antibody reaction in a continuous flow system. In: *Automated Immunoprecipitin Reactions. Colloquium on AIP*, Tarrytown, NY: Technicon Inst Corp., 17.
76. Hildesheim, A., Bratti, M.C., Edwards, R.P., Schiffman, M., Rodriguez, A.C., Herrero, R., Alfaro, M., Morera, L.A., Ermatinger, S.V., Muller, B. T., Crowley-Nowick, P.A. (1998). Collection of cervical secretions does not adversely affect Pap Smears taken immediately afterward. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 4, 491-493.
77. Hildesheim A., McShane L.M., Schiffman M., Bratti M.C., Rodriguez A.C., Herrero R., Morera L.A., Cardenas F., Saxon L., Bowman F.P., Crowley-Nowick P.A. (1999). Cytokine and immunoglobulin concentrations in cervical secretions: reproducibility of the Weck-cel collection instrument and correlates of immune measures. *J Immunol Methods*, 225, 131-143.
78. Holmes, C., Cunningham, C., Zotova, E., Culliford, D., Perry, V.H. (2011). Proinflammatory cytokines, sickness behavior, and Alzheimer disease. *Neurology.*, 77, 212-8.
79. Hopkins S. J. (2007). Central nervous system recognition of peripheral inflammation: a neural, hormonal collaboration. *Acta Biomed.*, 78, 231-247.
80. Howren, M.B., Lamkin, D.M., Suls, J. (2009) Associations of depression with C-reactive proteil, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med.*, 71, 171-86.
81. Hylan T.R., Sundell K., Judge R. (1999). The impact of premenstrual symptomatology on functioning and treatment-seeking behavior: experience from the United States, United Kingdom and France. *Womens Health Gend Based Med.*, 8, 1043–1052.
82. Jahanfar, S., Lye, M.S., Krishnarajah, I.S. (2011). The heritability of premenstrual syndrome. *Twin Res Hum Genet.*, 14, 433-6.
83. Jiwakanon J, Persson E, Berg M, Dalin AM. (2011). Influence of seminal plasma, spermatozoa and semen extender on cytokine expression in the porcine endometrium after insemination. *Anim Reprod Sci.*, 123, 210-20.
84. Johnson, S.R., McChesney, C., Bean, J.A. (1988). Epidemiology of premenstrual symptoms in a nonclinical sample – I: Prevalence, natural history and help-seeking behaviour. *J Repro Med.*, 33, 340-346.
85. Johnson, J.D., O'Connor, K.A., Hansen, M.K., Watkins, L.R., Maier, S.F. (2002). Effects of prior stress on LPS-induced cytokine and sickness responses. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 284, 422-32.

86. Jozuka, H., Jozuka, E., Takeuchi, S., Nishikaze, O. (2003). Comparison of immunological and endocrinological markers associated with major depression. *J Int Med Res.*, 31, 36-41.
87. Kayisli, U.A., Mahutte, N.G., Arici, A. (2002). Uterine chemokines in Reproductive Physiology and Pathology. *Am J Reprod Immunol.*, 47, 213-221.
88. Kanai, T., Fukuda-Miki, M., Shimoya, K., Azuma, C., Hashimoto, K, Nobunaga, T. (1997). Increased interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in cervical mucus in the ovulatory phase in comparison with the follicular phase. *Gynecol Obstet Invest.*, 43, 166-170.
89. Kasapis, C., Thompson, P.D. (2005) The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. *J Am Coll Cardiol.*, 45, 1563-9.
90. Kelly, R.W., Illingworth, P., Baldie, G., Leask, R., Brouwer, S., Calder, A.A. (1994). Progesterone control of interleukin-8 production in endometrium and chorio-decidual cells underlines the role of the neutrophil in menstruation and parturition. *Hum Reprod.*, 9, 253-8.
91. Kelly, R.W., King, A.E., Critchley, H.O.D. (2001). Cytokine control in human endometrium. *Reproduction*, 121, 3-19.
92. Kitaya, K., Yamaquchu, T. Yasuo, T. Okubo, T., Honio, H. (2007) Pist-ovulatory rise of endometrial CH16(-) natural killer cells: in situ proliferation of residual cells or selective recruitment from cicrculating peripheral blood? *J Reprid. Immunol.*, 76, 45-53.
93. Klinke, R., Pape, H.C., Silbernagel, S., Physiologie 5. Auflage (2005) Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 563 ff.
94. Konsman, J.P., Luheshi, G.N., Bluthé, R.M., Dantzer, R. (2000). The vagus nerve mediates behavioural depression, but not fever, in response to peripheral immune signals; a functional anatomical analysis. *Eur J Neurosci.*, 12, 4434-4446.
95. Konsman, J.P., Parnet, P., Dantzer, R. (2002). Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. *Trends Neurosci.*, 25, 154-159.
96. Koutsouraki, E., Hatzifilipou, E., Michmizos, D., Cotsavasiloglou, C., Costa, V., Baloyannis, S. (2011). Increase in interleukin-6 levels is related to depressive phenomena in the acute (relapsing) phase of multiple sclerosis. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.*, 23, 442-8.
97. Kroll, R., Rapkin A.J. (2006). Treatment of premenstrual disorders, 51, 359-70.
98. Kunz M, Ibrahim SM., (2009). Cytokines and cytokine profiles in human autoimmune diseases and animal models of autoimmunity. *Mediators Inflamm.*, 2009, 20.

99. Kutteh, W.H., Moldoveanu, Z., Mestecky, J. (1998). Mucosal immunity in the female reproductive tract: correlation of immunoglobulins, cytokines, and reproductive hormones in human cervical mucus around the time of ovulation. *Aids Res. Hum. Retrovir.*, 14, 51-55.
100. Leonard, B.E. (2001). The immune system, depression and the action of antidepressants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 25, 767-80.
101. Li, A., Dubey, S., Varney, M.L., Dave, B.J., Singh, R.K. (2003). IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J. Immunol.*, 170, 3369–76.
102. Lieberman, J.A., Moscicki, A., Sumerel, J.L., Ma, Y., Scott, M.E. (2008). Determination of Cytokine Protein Levels in Cervical Mucus Samples from Young Women by a Multiplex Immunoassay Method and Assessment of Correlates. *Clinical and Vaccine Immunology*, 15, 49-54.
103. Little, R.F., Pluda, J.M., Wyvill, K.M., Rodriguez-Chavez, I.R., Tosato, G., Catanzaro, A.T., Steinberg, S.M., Yarchoan, R. (2006). Activity of subcutaneous interleukin-12 in AIDS-related Kaposi sarcoma. *Blood*, 107, 4650-7.
104. Loftis JM, Huckans M, Morasco BJ. (2010). Neuroimmune mechanisms of cytokine-induced depression: current theories and novel treatment strategies. *Neurobiol Dis.*, 37, 519-33.
105. McNair, D.M., Lorr, M., Droppelman, L.F. (1971) *Manual for the Profile of Mood States*. Education and Industrial Testing Service, San Diego, CA.
106. Madej, M., Norrby, M., Madsen, M., Johannisson, A., Hansen, C., Madej, A. (2012). The effect of boar seminal plasma on the release of prostaglandins and interleukin-6 by porcine endometrial and cervical cells and bovine endometrial cells. *Reprod Domest Anim.*, 47, 113-24.
107. Mahbub-E-Sophani, Haque, N., Salma, U., Ahmed, A. (2011). Immune modulation in response to stress and relaxation. *Pak J Biol Sci.*, 14, 363-74.
108. Maier, S.F., Watkins, L.R. (1998). Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol Rev.*, 105, 83-107.
109. Main, L.C., Dawson, B., Heel, K., Grove, J.R., Landers, G.J., Goodman, C. (2010). Relationship between inflammatory cytokines and self-report measures of training overload. *Res Sports Med.*, 18, 127-39.
110. Marques, A.H., Cizza, G., Sternberg, E., (2007). Brain-immune interactions and implications in psychiatric disorders. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, 29, 27-32.
111. Marsland A.L., Sathanoori, R., Muldoon, M.F., Manuck, S.B. (2007). Stimulated production of interleukin-8 covaries with psychosocial risk factors for

- inflammatory disease among middle-aged community volunteers. *Brain Behav Immun.*, 21, 218-28.
112. Maybin, J.A., Hirani, N., Jabbour, H.N., Critchley, H.O. (2011). Novel roles for hypoxia and prostaglandin E2 in the regulation of IL-8 during endometrial repair. *Am J Pathol.*, 178, 1245-56.
113. McNair, D., Lorr, M., Droppleman, L.F., Biehl, B., Dangel, S. (1981). Profile of Mood States (Dt. Bearbeitung). In: *Collegium Internationale Psychiatriae Sclorum* (Hrsg.). Beltz Verlag, Weinheim.
114. Merlot, E., Moze, E., Dantzer, R., Neveu, P.J. (2002). Suppression of restraint-induced plasma cytokines in mice pretreated with LPS. *Stress.*, 5, 131-5.
115. Mesquita, A.R., Correia-Neves, M., Roque, S., Castro, A.G., Vieira, P., Pedrosa, J, Palha, J.A., Sousa, N. (2008). IL-10 modulates depressive-like behavior. *J Psychiatr Res.*, 43, 89-97.
116. Meyer, T., Stanske, B., Kochen, M.M., Cordes, A., Yüksel, I., Wachter, R., Lüers, C., Scherer, M., Binder, L., Pieske, B., Herrmann-Lingen, C. Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 in relation to depression scores in patients with cardiovascular risk factors. *Behav Med.*, 37, 105-12.
117. Minic, S., Bojic, M., Vukadinov, J., Canak, G., Fabri, M., Bojic, I. (2009). Immunomodulatory actions of antibiotics. *Med Pregl.*, 62, 327-30.
118. Myers, J.S. (2008). Proinflammatory cytokines and sickness behavior: implications for depression and cancer-related symptoms. *Oncol Nurs Forum*, 35, 802-7.
119. O'Brien S.M., Fitzgerald P., Scully P., Landers A., Scott L.V., Dinan T.G. (2007). Impact of Gender and Menstrual Cycle Phase on Plasma Cytokine Concentrations. *Neuroimmunomodulation*, 14, 84–90.
120. O'Brien S.M., Scott L.V., Dinan T.G. (2004). Cytokines: abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment. *Hum Psychopharmacol.*, 19, 397-403.
121. O'Brien, S.M., Scully, P., Fitzgerald, P., Scott, L.V., Dinan, T.G. (2007b). Plasma cytokine profiles in depressed patients who fail to respond to selective serotonin reuptake inhibitor therapy. *J Psychiatr Res.*, 41, 326-331.
122. Ohsawa, M., Okayama, A., Nakamura, M., Onoda, T., Kato, K., Itai, K., Yoshida, Y., Ogawa, A., Kawamura, K., Hiramori, K. (2005). CRP levels are elevated in smokers but unrelated to the number of cigarettes and are decreased by long-term smoking cessation in male smoker. *Prey Med.*, 41, 651-6.

123. Ortiz-Domínguez, A., Hernández, M.E., Berlanga, C., Gutiérrez-Mora, D., Moreno, J., Heinze, G., Pavón, L. (2007). Immune variations in bipolar disorder: phasic differences. *Bipolar Disord.*, 9, 596-602.
124. Panicker, G., Meadows, K.S., Lee, R.D., Nisenbaum, R., Unger, E.R. (2007). Effect of storage temperatures on the stability of cytokines in cervical mucous. *Cytokine*, 37, 176-179.
125. Parissis JT, Adamopoulos S, Rigas A, Kostakis G, Karatzas D, Venetsanou K, Kremastinos DT. (2004). Comparison of circulating proinflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with chronic heart failure with versus without symptoms of depression. *Am J Cardiol.*, 94, 1326-8.
126. Podlipný, J., Hess, Z., Vrzalová, J., Rosolová, H., Beran, J., Petřlová, B. (2010). Lower serum levels of interleukin-6 in a population sample with symptoms of depression than in a population sample without symptoms of depression. *Physiol Res.*, 59, 121-6.
127. Puder J.J., Blum C.A., B. Mueller, De Geyter Ch., Dyeand L., U. Keller. (2006) Menstrual cycle symptoms are associated with changes in low-grade inflammation. *European Journal of Clinical Investigation*, 36, 58–64.
128. Quan, N. (2008). Immune-to-Brain Signaling : How Important are the Blood-Brain Barrier-independent Pathways ? *Mol Neurobiol.*, 37, 142-152.
129. Raison, C.L., Capuron, L., Miller, A.H. (2006). Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*, 27, 24-31.
130. Ramacharan, S., Love E.J., Fick, G.H., Goldfien, A. (1992). The epidemiology of premenstrual symptoms in a population based sample of 2650 urban women. *J Clin Epidemiol.*, 45, 377-381.
131. Ritter, M., Hohenberger, K., Alter, P., Herzum, M., Tebbe, J., Maisch, M. (2005). Caffeine inhibits cytokine expression in lymphocytes, 30, 177-81.
132. Rohan, L.C., Edwards, R.P., Kelly, L.A., Colenello, K.A., Bowman, F.P., Crowley-Nowick, P.A: (2000). Optimization of the Weck-Cel Collection Method for Quantitation of Cytokines in Mucosal Secretions. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1, 45-48.
133. Rudolf, M., Müller, J. (2004). *Multivariate Verfahren. Eine praxisorientierte Einführung mit Anwendungsbeispielen in SPSS.* Göttingen: Hogrefe.
134. Sacham, S., 1983. A shortened version of the Profile of Mood States. *J. Pers. Asses*, 47, 305-306.
135. Salamonsen, L.A., Woolley, D.E. (1999). Menstruation: Induction by matrix metalloproteinases and inflammatory cells, *J Reprod Immunol.*, 44, 1-27.



136. Schiepers O.J., Wichers M.C., Maes M. (2005). Cytokines and major depression. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biol Psychiatry*, 29, 637-638.
137. Serrano, C.V., Setani, K.T., Sakamoto, E., Andrei, A.M., Fraguas, R. (2011). Association between depression and development of coronary artery disease: pathophysiologic and diagnostic implications. *Vascular Health and Risk Man.*, 7, 159-164.
138. Shelton, R.C., Miller, A.H. (2011). Inflammation in depression: is adiposity a cause? *Dialogues Clin Neurosci.*, 13, 41-53.
139. Shelton, R.C., Miller, A.H. (2010). Eating ourselves to death (and despair): the contribution of adiposity and inflammation to depression. *Prog Neurobiol.*, 91, 275-99.
140. Speckmann E.J., Hescheler J., Köhling R., *Physiologie*, 5. Auflage (2008), München: Elsevier GmbH, 358, ff.
141. Stauber, M., Weyerstahl, T. *Gynäkologie und Geburtshilfe*, 2. Auflage (2005), Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 78, ff.
142. Steiner M.D. (2000) Premenstrual syndrome and premenstrual dysphoric disorder: guidelines for management *J. Psychiatry Neurosci.*, 25, 459-68.
143. Steptoe A, Hamer M, Chida Y. (2007). The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: a review and meta-analysis. *Brain Behav Immun.*, 21, 901-12.
144. Strine T.W., Chapman D.P., Ahluwalia I.B. (2005). Menstrual-Related Problems and Psychological Distress among Women in the United States. *Journal of Womens Health*, 14, 316-23.
145. Suarez, E.C., Krishnan, R.R., Lewis, J.G. (2003). The relation of severity of depressive symptoms to monocyte-associated proinflammatory cytokines and chemokines in apparently healthy men. *Psychosom Med.*, 65, 362-8.
146. Suarez, E.C., Lewis, J.G., Krishnan, R.R., Young, K.H. (2004). Enhanced expression of cytokines and chemokines by blood monocytes to in vitro lipopolysaccharide stimulation are associated with hostility and severity of depressive symptoms in healthy women. *Psychoneuroendocrinology*, 29, 1119-28.
147. Sodom, K., Turrin, N.P., Hayley, S., Anisman, H. (2004). Influence of chronic interleukin-2 infusion and stressors on sickness behaviors and neurochemical change in mice. *Neuroimmunomodulation*, 11, 341-50.
148. Surgiyama, K., Yasuhiro N., Puming, H. (2001). Suppressive Effect of Caffeine on Hepatitis and Apoptosis Induced by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , but Not by the Anti-Fas Antibody, in Mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65, 674-677.

149. Suzuki, K., Nakaji, S., Yamada, M., Totsuka, M., Sato, K., Sugawara, K. (2002). Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics. *Exerc Immunol Rev.*, 8, 6-48.
150. Szabo, G., Mandrekar, P., Oak, S., Mayerle, J. (2007). Effect of ethanol on inflammatory responses. Implications for pancreatitis. *Pancreatology*, 7, 115-23.
151. Tracey, K.J. (2002). The inflammatory reflex. *Nature*, 420, 853-859.
152. Van de Veerdonk, F.L., Gresnigt, M.S., Kullberg, B.J., Van der Meer, J.W., Joosten, L.A., Netea, M.G. (2009). Th17 responses and host defense against microorganisms: an overview. *BMB Rep.*, 42, 776-87.
153. Vgontzas, A.N., Bixler, E.O., Lin, H.-M., Prolo, P., Trakada, G., Chrousos, G.P. (2005). IL-6 and its circadian secretion in humans. *Neuroimmunomodulation*, 12, 131-140.
154. Vollmer-Conna U., Fazou C., Cameron B., Li H., Brennan C., Luck L., Davenport T., Wakefield D., Hickie I., Lloyd A. (2004). Production of pro-inflammatory cytokines correlates with the symptoms of acute sickness behaviour in humans. *Psychol Med.*, 34, 1289-1297.
155. Weik, U. (2009). Akutstresseffekte auf die lokale Entzündungsreaktion am Modell der Gingivitis: Entzündungszustand als moderierende Variable. Dissertation, Universität Gießen.
156. Wolff, M. (2000). Regulated expression of cytokines in human endometrium throughout the menstrual cycle: dysregulation in habitual abortion. *Mol Human Reprod*, 6, 627–634.
157. Wolff, M., Classen-Linke, I., Heid, D., Krusche, C.A., Beier-Hellwig, K., Beier H.M. (1999). Tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in human endometrium and uterine secretion: an evaluation by immunohistochemistry, ELISA and semiquantitative RT-PCR. *Mol Human Reprod.*, 5, 146-155.
158. Wolff, M., Thaler, C.J. Zepf, C., Becker, V., Beier, H.M. Strowitzki, T. (2002). Endometrial expression and secretion of interleukin-6 throughout the menstrual cycle. *Gynecol Endocrinol.*, 16, 121-129.
159. Woods, N.F., Most, A., Dery, G.K. (1982). Prevalence of perimenstrual symptoms. *Am J Public Health*, 72, 1257-1264.
160. Wright, C.E., Strike, P.C., Brydon, L., Steptoe, A. (2005). Acute inflammation and negative mood: mediation by cytokine activation. *Brain Behav Immun.*, 19, 345-50.
161. Yang RB, Ng CK, Wasserman SM, Kömüves LG, Gerritsen ME, Topper JN. (2003). A novel interleukin-17 receptor-like protein identified in human umbilical

- vein endothelial cells antagonizes basic fibroblast growth factor-induced signaling. *J Biol Chem.*, 278, 33232-8.
162. Yonkers, K.A, O'Brien, P.M.S., Eriksson, E. (2008) Premenstrual syndrome *Lancet*, 371, 1200-10.
163. Zepf, C. (2003). Integrine und pro-inflammatorische Zytokine im humanen Endometrium. Immunhistochemische Untersuchungen zur Expression und in vitro-Studien zur Regulation anhand eines optimierten Zellkulturmodells. Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Universität München
164. Zhao, Y., Yang, J., Gao YD, Guo W. (2010), Th17 immunity in patients with allergic asthma. *Int Arch Allergy Immunol.*, 151, 297-307.

## 11. Anhang

**Tabelle 16:** Mittelwert und Standardabweichung von Alter, BMI und TICS-Score der gesamten Stichprobe (N = 49).

	Mittelwert	SD
<b>Alter</b>	24,47	3,60
<b>BMI</b>	22,03	2,36
<b>TICS</b>	18,04	7,30

**Tabelle 17:** Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die absoluten Konzentrationen der Hormone Östradiol (E), FSH, LH und Progesteron (P) an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile.

	Follikulär	Ovulation	Luteal 1	Luteal 2	Luteal 3
<b>E</b>	50,00 (37,50-68,00) N = 49	161,00 (82,00-278,25) N = 38	110,00 (79,50-170,50) N = 49	116,00 (87,00-189,00) N = 49	78,00 (46,50-109,50) N = 49
<b>FSH</b>	5,30 (4,75-6,40) N = 49	5,20 (3,90-8,80) N = 38	3,70 (2,90-5,00) N = 49	2,50 (1,95-3,15) N = 49	2,50 (1,70-3,40) N = 49
<b>LH</b>	5,00 (3,85-6,80) N = 49	12,55 (5,95-24,10) N = 38	5,70 (3,75-8,60) N = 49	3,70 (2,05-6,25) N = 49	2,80 (1,60-4,50) N = 49
<b>P</b>	0,20 (0,20-0,30) N = 49	0,70 (0,20-1,20) N = 38	8,80 (1,35-13,60) N = 49	12,25 (6,75-18,98) N = 49	4,20 (1,65-8,05) N = 49

**Tabelle 18:** Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die Absolutwerte der POMS-Skalen Niedergeschlagenheit (NIED), Tatendrang (TAT), Müdigkeit (MÜD) und Missmut (MISSM) an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile.

	Follikulär	Ovulation	Luteal 1	Luteal 2	Luteal 3
<b>NIED</b>	24,00 (17,50-37,50) N = 49	21,00 (17,00-30,25) N = 38	21,00 (15,00-29,00) N = 49	18,00 (14,00-29,00) N = 49	19,00 (15,00-28,00) N = 49
<b>TAT</b>	28,00 (20,50-33,50) N = 49	27,50 (22,75-34,00) N = 38	28,00 (24,00-35,00) N = 49	27,00 (21,00-34,00) N = 49	28,00 (19,50-33,50) N = 49
<b>MÜD</b>	10,00 (7,00-18,00) N = 49	21,00 (13,00-27,00) N = 38	21,00 (13,00-27,00) N = 49	19,00 (14,50-24,00) N = 49	20,00 (15,00-26,00) N = 49
<b>MISSM</b>	12,00 (7,00-17,50) N = 49	10,00 (8,00-13,50) N = 38	10,00 (7,00-14,00) N = 49	10,00 (7,00-15,00) N = 49	10,00 (7,00-18,00) N = 49

**Tabelle 19:** Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die absoluten Konzentrationen der hämatogen gemessenen Zytokine an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile.

	<b>Follikulär</b>	<b>Ovulation</b>	<b>Luteal 1</b>	<b>Luteal 2</b>	<b>Luteal 3</b>
<b>IL-1</b>	36,46 (14,4-99,43) N=32	24,83 (11,24-87,05) N=22	35,03 (12,2-89,8) N=33	34,07 (18,18-100,73) N=31	46,68 (10,52-100,52) N=31
<b>IL-2</b>	9,82 (3,28-25,55) N=42	9,04 (2,67-24,81) N=30	13,04 (3,43-33,23) N=38	15,1 (4,51-31,96) N=36	19,42 (4,32-30,47) N=38
<b>IL-4</b>	11,02 (4,1-37,46) N=41	15,67 (2,96-40,95) N=30	11,02 (4,07-41,56) N=39	12,91 (2,74-49,13) N=38	8,5 (1,37-55,35) N=39
<b>IL-6</b>	1,44 (0,43-2,47) N=32	1,24 (0,44-2,91) N=29	1,24 (0,61-2,35) N=33	2,16 (0,4-3,36) N=30	2,02 (0,68-3,57) N=27
<b>IL-8</b>	21,77 (13,21-42,21) N=43	18,82 (9,76-36,57) N=34	20,96 (9,25-36,59) N=42	20,3 (10,12-39,06) N=40	20,53 (10,87-36,81) N=41
<b>IL-10</b>	3,97 (1,02-6,86) N=41	5,33 (1,75-10,05) N=29	4,47 (1,02-7,5) N=38	5,3 (1,03-9,4) N=37	4,73 (0,91-8,13) N=37
<b>IL-12</b>	157,93 (99,58-208,83) N=45	140,04 (98,95-245,48) N=34	136,64 (84,01-236,07) N=44	140,18 (88,6-224,98) N=43	164,56 (79,45-231,89) N=44
<b>IL-17</b>	16,23 (7,5-34,53) N=36	16,25 (6,42-48,15) N=29	15,75 (7,44-40,3) N=37	15,38 (8,54-38,27) N=35	16,03 (6,75-38,21) N=38

**Tabelle 20:** Deskriptive Statistik der gesamten Stichprobe (N) für die absoluten Konzentrationen der zervikal gemessenen Zytokine an allen fünf Messzeitpunkten (Follikulär, Ovulation, Luteal 1-3) mit Median, 25. und 75. Perzentile.

	<b>Follikulär</b>	<b>Ovulation</b>	<b>Luteal 1</b>	<b>Luteal 2</b>	<b>Luteal 3</b>
<b>IL-1</b>	272,94 (107,39-1382,18) N=44	125,22 (49,97-810,89) N=29	284,73 (44,66-546,85) N=39	274,06 (92,77-667,57) N=37	307,77 (129,59-556,57) N=37
<b>IL-2</b>	77,82 (43,55-244,52) N=44	61,02 (31-120,28) N=36	72,76 (46,36-188,34) N=43	76,91 (29,9-146,53) N=38	96,59 (33,55-234,05) N=42
<b>IL-4</b>	12,4 (7,46-37,89) N=36	8,48 (3,52-39,94) N=25	11,59 (3,74-30,95) N=29	14,78 (9,21-66,72) N=27	14,75 (5,16-41,02) N=30
<b>IL-6</b>	2592,61 (619,85-4739,3) N=49	163,1 (51,73-1251,82) N=37	924,92 (145,01-2415,3) N=49	1611,83 (188,6-3385,26) N=45	1612,14 (290,28-3452,65) N=48
<b>IL-8</b>	18450,01 (8962,91-29495,06) N=49	7418,15 (3355,71-14188,76) N=36	17508,1 (7347,25-34515,87) N=49	21018,59 (10778,18-32314,64) N=45	13243,79 (8252,24-31750,78) N=48
<b>IL-10</b>	44,73 (9,88-125,41) N=49	35,75 (18,37-69,94) N=36	25,31 (6,73-86,94) N=49	41,49 (14,75-95,42) N=44	34,09 (8,13-103,63) N=48
<b>IL-12</b>	162,34 (75,63-357,41) N=49	58,35 (29,51-194,42) N=33	87,25 (46,22-331,28) N=47	131,3 (44,48-245,57) N=41	134,93 (53,15-287,29) N=45
<b>IL-17</b>	55,65 (24,2-109,79) N=45	35,75 (19,71-82,97) N=29	28,84 (19,3-127,35) N=43	49,01 (18,1-123,43) N=39	56,58 (17,74-213,17) N=34

**Tabelle 21:** Stichprobengrößen (N) der Varianzanalyse der zervikal gemessenen Zytokine für die Gruppen mit Zu- bzw. Abnahme/gleichbleiben von lutealer Niedergeschlagenheit (NIED), Tatendrang (TAT), Müdigkeit (MÜD) und Misstrauen (MISS).

N	IL-1	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-17
<b>Abnahme NIED</b>	17	21	15	20	20	20	20	18
<b>Zunahme NIED</b>	12	14	9	13	13	13	13	12
<b>Abnahme TAT</b>	15	18	12	16	16	16	16	16
<b>Zunahme TAT</b>	14	17	12	17	17	17	17	14
<b>Abnahme MÜD</b>	16	19	16	19	19	19	19	16
<b>Zunahme MÜD</b>	13	16	8	14	14	14	14	14
<b>Abnahme MISS</b>	16	18	14	19	19	19	19	17
<b>Zunahme MISS</b>	13	17	10	14	14	14	14	13

**Tabelle 22:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		IL-1	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-17
<b>NIED</b>	$\rho$	,131	-,032	,092	,232	-,083	,134	,030	-,036
	p	,475	,841	,566	,202	,599	,404	,846	,833
	N	32	42	41	32	43	41	45	36
<b>TAT</b>	$\rho$	,173	,153	-,022	-,129	,233	-,129	,062	-,011
	p	,343	,334	,891	,481	,133	,422	,688	,948
	N	32	42	41	32	43	41	45	36
<b>MÜD</b>	$\rho$	,090	-,122	,142	-,033	,037	-,075	,108	,028
	p	,625	,441	,377	,857	,815	,643	,481	,871
	N	32	42	41	32	43	41	45	36
<b>MISSM</b>	$\rho$	-,084	,063	,088	-,016	-,078	-,177	-,092	,030
	p	,646	,691	,584	,931	,620	,268	,548	,862
	N	32	42	41	32	43	41	45	36

**Tabelle 23:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zur Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>NIED</b>	$\rho$	,112	,075	-,035	,037	-,232	,154	,033	-,044
	$p$	,619	,693	,854	,849	,188	,427	,855	,819
	N	22	30	30	29	34	29	34	29
<b>TAT</b>	$\rho$	,128	,063	,273	-,118	,081	-,133	<b>,359</b>	-,118
	$p$	,572	,741	,144	,542	,647	,491	<b>,037</b>	,543
	N	22	30	30	29	34	29	34	29
<b>MÜD</b>	$\rho$	-,010	,022	-,014	,045	,013	,137	-,086	,029
	$p$	,965	,910	,940	,815	,940	,479	,629	,880
	N	22	30	30	29	34	29	34	29
<b>MISSM</b>	$\rho$	,004	,049	-,159	-,087	-,286	,067	-,064	-,217
	$p$	,987	,798	,401	,655	,101	,728	,718	,259
	N	22	30	30	29	34	29	34	29

**Tabelle 24:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>NIED</b>	$\rho$	,051	,082	,234	,163	-,021	,217	,073	,008
	$p$	,779	,624	,152	,364	,893	,192	,638	,961
	N	33	38	39	33	42	38	44	37
<b>TAT</b>	$\rho$	-,053	,019	-,068	-,140	,253	-,091	,092	,090
	$p$	,770	,909	,680	,438	,106	,588	,551	,595
	N	33	38	39	33	42	38	44	37
<b>MÜD</b>	$\rho$	,101	-,009	,048	,015	,012	,103	,007	,000
	$p$	,576	,955	,772	,932	,938	,540	,963	,998
	N	33	38	39	33	42	38	44	37
<b>MISSM</b>	$\rho$	-,123	-,194	-,023	-,141	-,056	,057	,010	-,150
	$p$	,494	,243	,887	,434	,724	,734	,951	,375
	N	33	38	39	33	42	38	44	37

11. Anhang

**Tabelle 25:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>NIED</b>	$\rho$	,104	-,192	<b>,412</b>	,141	<b>,339</b>	,180	,124	,235
	p	,579	,262	<b>,010</b>	,459	<b>,032</b>	,286	,428	,175
	N	31	36	38	30	40	37	43	35
<b>TAT</b>	$\rho$	,178	,053	-,154	-,225	,093	-,210	,127	-,075
	p	,339	,757	,356	,232	,567	,213	,416	,670
	N	31	36	38	30	40	37	43	35
<b>MÜD</b>	$\rho$	-,096	-,128	,208	,222	-,070	,230	-,107	,071
	p	,609	,455	,211	,238	,666	,171	,495	,687
	N	31	36	38	30	40	37	43	35
<b>MISSM</b>	$\rho$	,236	-,181	,236	-,008	<b>,342</b>	-,101	,024	-,006
	p	,200	,289	,153	,965	<b>,031</b>	,553	,879	,972
	N	31	36	38	30	<b>40</b>	37	43	35

**Tabelle 26:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen und POMS-Skalen zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>NIED</b>	$\rho$	,138	-,054	,167	,164	,007	-,015	,186	,034
	p	,458	,748	,309	,414	,967	,931	,228	,837
	N	31	38	39	27	41	37	44	38
<b>TAT</b>	$\rho$	,039	,029	,059	-,235	,245	,118	,017	-,145
	p	,835	,861	,720	,238	,123	,488	,915	,386
	N	31	38	39	27	41	37	44	38
<b>MÜD</b>	$\rho$	,042	,074	-,063	,145	,015	-,118	,164	,172
	p	,821	,659	,704	,470	,927	,485	,287	,302
	N	31	38	39	27	41	37	44	38
<b>MISSM</b>	$\rho$	,182	,110	,032	-,081	,093	-,226	,045	-,010
	p	,326	,512	,845	,689	,562	,180	,772	,954
	N	31	38	39	27	41	37	44	38



**Tabelle 27:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B\_) und zervikalen Zytokinen (Z\_) zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>B_IL-1</b>	<b>B_IL-2</b>	<b>B_IL-4</b>	<b>B_IL-6</b>	<b>B_IL-8</b>	<b>B_IL-10</b>	<b>B_IL-12</b>	<b>B_IL-17</b>
<b>Z_IL-1</b>	$\rho$	<b>-,454</b>	-,282	-,033	-,050	,084	-,160	-,139	-,068
	p	<b>,015</b>	,086	,848	,798	,615	,344	,392	,708
	N	28	38	37	29	38	37	40	33
<b>Z_IL-2</b>	$\rho$	-,197	-,228	-,050	-,299	,242	-,381	-,060	-,141
	p	,307	,163	,762	,102	,132	,020	,711	,435
	N	29	39	39	31	40	37	41	33
<b>Z_IL-4</b>	$\rho$	-,175	-,150	,024	-,305	,221	-,316	-,243	-,022
	p	,404	,413	,898	,139	,216	,073	,160	,912
	N	25	32	32	25	33	33	35	28
<b>Z_IL-6</b>	$\rho$	,008	,050	-,063	,038	,217	-,218	-,027	-,060
	p	,967	,754	,694	,837	,163	,171	,860	,726
	N	32	42	41	32	43	41	45	36
<b>Z_IL-8</b>	$\rho$	-,249	-,157	,049	,230	-,038	,018	-,182	-,203
	p	,170	,322	,759	,205	,809	,910	,231	,236
	N	32	42	41	32	43	41	45	36
<b>Z_IL-10</b>	$\rho$	,091	,048	,166	,276	,181	-,019	,224	,315
	p	,621	,761	,299	,126	,246	,907	,138	,061
	N	32	42	41	32	43	41	45	36
<b>Z_IL-12</b>	$\rho$	-,051	-,197	-,034	-,196	,181	-,184	-,052	-,126
	p	,780	,211	,834	,283	,246	,249	,736	,465
	N	32	42	41	32	43	41	45	36
<b>Z_IL-17</b>	$\rho$	-,289	-,301	,086	,035	,185	-,097	-,019	,015
	p	,121	,062	,606	,853	,260	,562	,905	,935
	N	30	39	38	30	39	38	41	32

**Tabelle 28:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B\_) und zervikalen Zytokinen (Z\_) zum Messzeitpunkt Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße (N).

		<b>B_IL-1</b>	<b>B_IL-2</b>	<b>B_IL-4</b>	<b>B_IL-6</b>	<b>B_IL-8</b>	<b>B_IL-10</b>	<b>B_IL-12</b>	<b>B_IL-17</b>
<b>Z_IL-1</b>	$\rho$	,086	,343	,097	,175	-,082	-,053	,266	-,056
	$p$	,743	,109	,669	,437	,689	,816	,190	,800
	N	17	23	22	22	26	22	26	23
<b>Z_IL-2</b>	$\rho$	,262	,106	-,100	-,035	,143	,109	-,199	,278
	$p$	,240	,583	,604	,855	,427	,580	,268	,144
	N	22	29	29	29	33	28	33	29
<b>Z_IL-4</b>	$\rho$	,243	,332	,105	-,128	,209	-,240	,066	,200
	$p$	,332	,131	,651	,591	,328	,308	,759	,372
	N	18	22	21	20	24	20	24	22
<b>Z_IL-6</b>	$\rho$	-,109	,088	,054	,183	-,043	,078	,184	-,062
	$p$	,629	,651	,782	,342	,812	,695	,306	,748
	N	22	29	29	29	33	28	33	29
<b>Z_IL-8</b>	$\rho$	-,011	,180	,110	,109	,196	-,026	,130	-,091
	$p$	,960	,359	,578	,581	,283	,896	,479	,647
	N	22	28	28	28	32	27	32	28
<b>Z_IL-10</b>	$\rho$	,153	,451	,201	,362	,135	,090	,362	,217
	$p$	,507	,016	,304	,058	,461	,655	,042	,268
	N	21	28	28	28	32	27	32	28
<b>Z_IL-12</b>	$\rho$	,340	,436	,568	,377	,199	,210	<b>,432</b>	,337
	$p$	,142	,026	,002	,058	,291	,315	<b>,017</b>	,092
	N	20	26	26	26	30	25	30	26
<b>Z_IL-17</b>	$\rho$	,039	-,036	,137	,107	,258	,034	,227	,010
	$p$	,881	,875	,545	,628	,203	,875	,265	,966
	N	17	22	22	23	26	24	26	22

**Tabelle 29:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B\_) und zervikalen Zytokinen (Z\_) zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>B_IL-1</b>	<b>B_IL-2</b>	<b>B_IL-4</b>	<b>B_IL-6</b>	<b>B_IL-8</b>	<b>B_IL-10</b>	<b>B_IL-12</b>	<b>B_IL-17</b>
<b>Z_IL-1</b>	$\rho$	,001	-,016	,120	,083	-,126	,008	-,044	-,071
	p	,995	,932	,527	,688	,485	,966	,801	,708
	N	27	30	30	26	33	30	35	30
<b>Z_IL-2</b>	$\rho$	,173	,051	,065	-,023	,082	-,241	-,181	,020
	p	,370	,779	,716	,909	,630	,177	,270	,914
	N	29	33	34	28	37	33	39	32
<b>Z_IL-4</b>	$\rho$	-,014	,159	,084	,034	,056	-,435	,077	,079
	p	,950	,468	,690	,884	,786	,038	,709	,720
	N	22	23	25	21	26	23	26	23
<b>Z_IL-6</b>	$\rho$	-,020	-,048	-,209	,026	-,216	,007	-,143	-,077
	p	,913	,774	,201	,888	,170	,965	,353	,649
	N	33	38	39	33	42	38	44	37
<b>Z_IL-8</b>	$\rho$	-,028	,085	,059	,235	-,217	,160	-,263	,084
	p	,877	,613	,723	,188	,167	,338	,085	,621
	N	33	38	39	33	42	38	44	37
<b>Z_IL-10</b>	$\rho$	,077	-,105	,122	,317	,035	,058	,307	,316
	p	,671	,528	,459	,073	,825	,731	,043	,057
	N	33	38	39	33	42	38	44	37
<b>Z_IL-12</b>	$\rho$	-,040	-,161	,033	,143	-,008	-,102	-,017	-,053
	p	,827	,349	,848	,442	,962	,555	,916	,762
	N	32	36	37	31	40	36	42	35
<b>Z_IL-17</b>	$\rho$	,039	-,070	-,120	-,013	-,057	-,276	,083	,008
	p	,836	,692	,507	,949	,741	,127	,619	,967
	N	30	34	33	27	36	32	38	31

**Tabelle 30:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B\_) und zervikalen Zytokinen (Z\_) zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz ( $p$ ) und Stichprobengröße (N).

		<b>B_IL-1</b>	<b>B_IL-2</b>	<b>B_IL-4</b>	<b>B_IL-6</b>	<b>B_IL-8</b>	<b>B_IL-10</b>	<b>B_IL-12</b>	<b>B_IL-17</b>
<b>Z_IL-1</b>	$\rho$	-,249	-,125	,106	-,229	-,031	,107	,140	-,080
	$p$	,276	,541	,600	,306	,875	,603	,454	,704
	N	21	26	27	22	28	26	31	25
<b>Z_IL-2</b>	$\rho$	,178	,085	,066	-,089	,001	,158	-,088	-,219
	$p$	,417	,666	,734	,674	,997	,422	,634	,273
	N	23	28	29	25	30	28	32	27
<b>Z_IL-4</b>	$\rho$	,238	,102	-,008	,026	,064	-,231	-,129	-,066
	$p$	,374	,687	,975	,922	,773	,327	,549	,782
	N	16	18	20	16	23	20	24	20
<b>Z_IL-6</b>	$\rho$	,079	,189	-,091	-,118	-,034	,048	-,109	-,075
	$p$	,694	,301	,605	,551	,842	,788	,509	,677
	N	27	32	35	28	36	34	39	33
<b>Z_IL-8</b>	$\rho$	,015	,165	-,082	-,073	-,159	,095	-,279	-,327
	$p$	,942	,367	,639	,714	,355	,592	,085	,063
	N	27	32	35	28	36	34	39	33
<b>Z_IL-10</b>	$\rho$	-,298	-,266	-,053	-,002	-,014	,168	,183	,087
	$p$	,131	,141	,761	,990	,937	,344	,270	,638
	N	27	32	35	28	35	34	38	32
<b>Z_IL-12</b>	$\rho$	-,172	-,078	-,085	,062	-,014	,127	-,150	-,180
	$p$	,412	,683	,642	,758	,937	,495	,391	,341
	N	25	30	32	27	33	31	35	30
<b>Z_IL-17</b>	$\rho$	-,049	-,203	-,240	-,005	-,071	,158	-,045	-,139
	$p$	,828	,311	,209	,982	,708	,421	,805	,491
	N	22	27	29	24	30	28	33	27

**Tabelle 31:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen (B\_) und zervikalen Zytokinen (Z\_) zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		B_IL-1	B_IL-2	B_IL-4	B_IL-6	B_IL-8	B_IL-10	B_IL-12	B_IL-17
<b>Z_IL-1</b>	$\rho$	,091	-,066	-,068	-,260	,010	,012	,117	,227
	p	,671	,723	,724	,256	,956	,951	,511	,235
	N	24	31	29	21	32	29	34	29
<b>Z_IL-2</b>	$\rho$	,264	,109	,118	-,246	,087	,048	-,043	,193
	p	,183	,547	,515	,246	,615	,792	,798	,281
	N	27	33	33	24	36	32	38	33
<b>Z_IL-4</b>	$\rho$	-,067	,232	-,092	,049	,188	,051	,062	,467*
	p	,786	,265	,663	,852	,348	,809	,755	,016
	N	19	25	25	17	27	25	28	26
<b>Z_IL-6</b>	$\rho$	-,274	-,053	-,112	-,188	-,098	,201	-,148	,011
	p	,142	,754	,503	,359	,545	,239	,344	,950
	N	30	37	38	26	40	36	43	37
<b>Z_IL-8</b>	$\rho$	-,275	-,174	,072	-,117	<b>-,362</b>	,341	-,225	-,030
	p	,141	,303	,667	,571	<b>,022</b>	,042	,147	,858
	N	30	37	38	26	40	36	43	37
<b>Z_IL-10</b>	$\rho$	,194	,062	,088	,079	,186	,237	,261	,449
	p	,304	,715	,601	,701	,250	,164	,091	,005
	N	30	37	38	26	40	36	43	37
<b>Z_IL-12</b>	$\rho$	-,019	-,127	,068	-,297	,053	,055	,039	,193
	p	,921	,467	,698	,158	,753	,755	,813	,265
	N	29	35	35	24	38	34	40	35
<b>Z_IL-17</b>	$\rho$	-,035	-,213	,038	,123	,308	,084	,211	,269
	p	,880	,287	,853	,594	,111	,683	,263	,184
	N	21	27	26	21	28	26	30	26

**Tabelle 32:** Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	0,534	0,452	0,359	0,314	0,453	0,446	0,641
	p		,000	,009	,017	,038	,002	,002	,000
	N	44	39	32	44	44	44	44	40
<b>IL-2</b>	$\rho$	0,534	1,000	0,635	,242	,163	0,354	0,546	0,404
	p	,000		,000	,114	,290	,018	,000	,009
	N	39	44	32	44	44	44	44	41
<b>IL-4</b>	$\rho$	0,452	0,635	1,000	,035	,027	0,517	0,577	0,698
	p	,009	,000		,839	,877	,001	,000	,000
	N	32	32	36	36	36	36	36	34
<b>IL-6</b>	$\rho$	0,359	,242	,035	1,000	0,653	0,285	0,433	,042
	p	,017	,114	,839		,000	,047	,002	,782
	N	44	44	36	49	49	49	49	45
<b>IL-8</b>	$\rho$	0,314	,163	,027	0,653	1,000	,072	0,353	,052
	p	,038	,290	,877	,000		,625	,013	,734
	N	44	44	36	49	49	49	49	45
<b>IL-10</b>	$\rho$	0,453	0,354	0,517	0,285	,072	1,000	0,552	0,764
	p	,002	,018	,001	,047	,625		,000	,000
	N	44	44	36	49	49	49	49	45
<b>IL-12</b>	$\rho$	0,446	0,546	0,577	0,433	0,353	0,552	1,000	0,588
	p	,002	,000	,000	,002	,013	,000		,000
	N	44	44	36	49	49	49	49	45
<b>IL-17</b>	$\rho$	0,641	0,404	0,698	,042	,052	0,764	0,588	1,000
	p	,000	,009	,000	,782	,734	,000	,000	
	N	40	41	34	45	45	45	45	45

**Tabelle 33:** Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	,028	0,545	0,639	0,387	0,733	0,685	0,646
	p		,885	,011	,000	,042	,000	,000	,001
	N	29	29	21	29	28	29	28	24
<b>IL-2</b>	$\rho$	,028	1,000	0,475	-,138	-,268	0,343	,215	0,38
	p	,885		,016	,423	,120	,044	,230	,042
	N	29	36	25	36	35	35	33	29
<b>IL-4</b>	$\rho$	0,545	0,475	1,000	0,522	,265	0,582	0,782	0,723
	p	,011	,016		,007	,201	,002	,000	,000
	N	21	25	25	25	25	25	23	20
<b>IL-6</b>	$\rho$	0,639	-,138	0,522	1,000	0,735	0,35	0,587	,323
	p	,000	,423	,007		,000	,037	,000	,087
	N	29	36	25	37	36	36	33	29
<b>IL-8</b>	$\rho$	0,387	-,268	,265	0,735	1,000	,099	,259	,100
	p	,042	,120	,201	,000		,572	,153	,614
	N	28	35	25	36	36	35	32	28
<b>IL-10</b>	$\rho$	0,733	0,343	0,582	0,35	,099	1,000	0,689	0,826
	p	,000	,044	,002	,037	,572		,000	,000
	N	29	35	25	36	35	36	33	29
<b>IL-12</b>	$\rho$	0,685	,215	0,782	0,587	,259	0,689	1,000	0,683
	p	,000	,230	,000	,000	,153	,000		,000
	N	28	33	23	33	32	33	33	28
<b>IL-17</b>	$\rho$	0,646	0,38	0,723	,323	,100	0,826	0,683	1,000
	p	,001	,042	,000	,087	,614	,000	,000	
	N	24	29	20	29	28	29	28	29

**Tabelle 34:** Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	0,456	,370	0,555	0,474	,244	0,658	0,623
	p		,006	,083	,000	,002	,135	,000	,000
	N	39	35	23	39	39	39	39	35
<b>IL-2</b>	$\rho$	0,456	1,000	0,466	0,377	0,469	,218	0,549	0,43
	p	,006		,019	,013	,001	,160	,000	,006
	N	35	43	25	43	43	43	42	40
<b>IL-4</b>	$\rho$	,370	0,466	1,000	,200	,202	0,532	0,586	0,566
	p	,083	,019		,298	,293	,003	,001	,003
	N	23	25	29	29	29	29	29	26
<b>IL-6</b>	$\rho$	0,555	0,377	,200	1,000	0,518	0,355	0,627	0,51
	p	,000	,013	,298		,000	,012	,000	,000
	N	39	43	29	49	49	49	47	43
<b>IL-8</b>	$\rho$	0,474	0,469	,202	0,518	1,000	,103	0,503	0,319
	p	,002	,001	,293	,000		,481	,000	,037
	N	39	43	29	49	49	49	47	43
<b>IL-10</b>	$\rho$	,244	,218	0,532	0,355	,103	1,000	0,561	0,764
	p	,135	,160	,003	,012	,481		,000	,000
	N	39	43	29	49	49	49	47	43
<b>IL-12</b>	$\rho$	0,658	0,549	0,586	0,627	0,503	0,561	1,000	0,815
	p	,000	,000	,001	,000	,000	,000		,000
	N	39	42	29	47	47	47	47	42
<b>IL-17</b>	$\rho$	0,623	0,43	0,566	0,51	0,319	0,764	0,815	1,000
	p	,000	,006	,003	,000	,037	,000	,000	
	N	35	40	26	43	43	43	42	43



**Tabelle 35:** Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	0,548	,189	0,547	,189	0,382	0,42	0,368
	p		,001	,399	,000	,262	,021	,012	,030
	N	37	33	22	37	37	36	35	35
<b>IL-2</b>	$\rho$	0,548	1,000	,282	0,479	,173	,244	0,581	,300
	p	,001		,193	,002	,300	,146	,000	,076
	N	33	38	23	38	38	37	38	36
<b>IL-4</b>	$\rho$	,189	,282	1,000	,270	,176	,253	0,522	0,445
	p	,399	,193		,172	,379	,213	,008	,026
	N	22	23	27	27	27	26	25	25
<b>IL-6</b>	$\rho$	0,547	0,479	,270	1,000	0,53	0,392	0,498	0,374
	p	,000	,002	,172		,000	,009	,001	,019
	N	37	38	27	45	45	44	41	39
<b>IL-8</b>	$\rho$	,189	,173	,176	0,53	1,000	,042	0,357	,058
	p	,262	,300	,379	,000		,786	,022	,727
	N	37	38	27	45	45	44	41	39
<b>IL-10</b>	$\rho$	0,382	,244	,253	0,392	,042	1,000	0,453	0,793
	p	,021	,146	,213	,009	,786		,003	,000
	N	36	37	26	44	44	44	40	38
<b>IL-12</b>	$\rho$	0,42	0,581	0,522	0,498	0,357	0,453	1,000	0,567
	p	,012	,000	,008	,001	,022	,003		,000
	N	35	38	25	41	41	40	41	38
<b>IL-17</b>	$\rho$	0,368	,300	0,445	0,374	,058	0,793	0,567	1,000
	p	,030	,076	,026	,019	,727	,000	,000	
	N	35	36	25	39	39	38	38	39

**Tabelle 36:** Korrelationen nach Spearman von zervikalen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	0,578	0,742	0,421	,324	0,56	0,719	0,625
	p		,000	,000	,010	,051	,000	,000	,000
	N	37	35	27	37	37	37	36	29
<b>IL-2</b>	$\rho$	0,578	1,000	0,625	0,333	,300	0,426	0,585	0,485
	p	,000		,000	,031	,054	,005	,000	,004
	N	35	42	27	42	42	42	42	34
<b>IL-4</b>	$\rho$	0,742	0,625	1,000	0,398	,185	0,675	0,629	0,615
	p	,000	,000		,029	,327	,000	,000	,002
	N	27	27	30	30	30	30	28	23
<b>IL-6</b>	$\rho$	0,421	0,333	0,398	1,000	0,575	0,288	0,442	,305
	p	,010	,031	,029		,000	,047	,002	,079
	N	37	42	30	48	48	48	45	34
<b>IL-8</b>	$\rho$	,324	,300	,185	0,575	1,000	,137	0,315	,048
	p	,051	,054	,327	,000		,354	,035	,787
	N	37	42	30	48	48	48	45	34
<b>IL-10</b>	$\rho$	0,56	0,426	0,675	0,288	,137	1,000	0,534	0,883
	p	,000	,005	,000	,047	,354		,000	,000
	N	37	42	30	48	48	48	45	34
<b>IL-12</b>	$\rho$	0,719	0,585	0,629	0,442	0,315	0,534	1,000	0,702
	p	,000	,000	,000	,002	,035	,000		,000
	N	36	42	28	45	45	45	45	34
<b>IL-17</b>	$\rho$	0,625	0,485	0,615	,305	,048	0,883	0,702	1,000
	p	,000	,004	,002	,079	,787	,000	,000	
	N	29	34	23	34	34	34	34	34

**Tabelle 37:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Follikulär mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	,917	,381	,145	,133	,083	,415	,386
	p	,000	,000	,038	,508	,483	,673	,018	,051
	N	32	32	30	23	30	28	32	26
<b>IL-2</b>	$\rho$	,917	1,000	,326	,147	,037	,075	,297	,564
	p	,000	,000	,043	,430	,825	,653	,060	,000
	N	32	42	39	31	39	38	41	35
<b>IL-4</b>	$\rho$	,381	,326	1,000	,555	,305	,413	,469	,414
	p	,038	,043	,000	,001	,059	,011	,002	,017
	N	30	39	41	30	39	37	40	33
<b>IL-6</b>	$\rho$	,145	,147	,555	1,000	,093	,689	,306	,399
	p	,508	,430	,001	,000	,611	,000	,089	,032
	N	23	31	30	32	32	30	32	29
<b>IL-8</b>	$\rho$	,133	,037	,305	,093	1,000	-,090	,335	,347
	p	,483	,825	,059	,611	,000	,591	,028	,041
	N	30	39	39	32	43	38	43	35
<b>IL-10</b>	$\rho$	,083	,075	,413	,689	-,090	1,000	-,096	,322
	p	,673	,653	,011	,000	,591	,000	,556	,067
	N	28	38	37	30	38	41	40	33
<b>IL-12</b>	$\rho$	,415	,297	,469	,306	,335	-,096	1,000	,375
	p	,018	,060	,002	,089	,028	,556	,000	,024
	N	32	41	40	32	43	40	45	36
<b>IL-17</b>	$\rho$	,386	,564	,414	,399	,347	,322	,375	1,000
	p	,051	,000	,017	,032	,041	,067	,024	,000
	N	26	35	33	29	35	33	36	36

**Tabelle 38:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Ovulation mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	,725	,300	,271	,311	,126	,360	,395
	p	,000	,000	,175	,261	,159	,620	,100	,076
	N	22	22	22	19	22	18	22	21
<b>IL-2</b>	$\rho$	,725	1,000	,438	,538	,293	,351	,432	,577
	p	,000	,000	,020	,005	,116	,079	,017	,001
	N	22	30	28	26	30	26	30	28
<b>IL-4</b>	$\rho$	,300	,438	1,000	,447	,469	,525	,600	,414
	p	,175	,020	,000	,022	,009	,006	,000	,035
	N	22	28	30	26	30	26	30	26
<b>IL-6</b>	$\rho$	,271	,538	,447	1,000	,109	,747	,432	,572
	p	,261	,005	,022	,000	,573	,000	,019	,002
	N	19	26	26	29	29	27	29	27
<b>IL-8</b>	$\rho$	,311	,293	,469	,109	1,000	,143	,501	,538
	p	,159	,116	,009	,573	,000	,460	,003	,003
	N	22	30	30	29	34	29	34	29
<b>IL-10</b>	$\rho$	,126	,351	,525	,747	,143	1,000	,266	,530
	p	,620	,079	,006	,000	,460	,000	,162	,005
	N	18	26	26	27	29	29	29	26
<b>IL-12</b>	$\rho$	,360	,432	,600	,432	,501	,266	1,000	,388
	p	,100	,017	,000	,019	,003	,162	,000	,038
	N	22	30	30	29	34	29	34	29
<b>IL-17</b>	$\rho$	,395	,577	,414	,572	,538	,530	,388	1,000
	p	,076	,001	,035	,002	,003	,005	,038	,000
	N	21	28	26	27	29	26	29	29

**Tabelle 39:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 1 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	,914	,400	,372	,335	,230	,285	,376
	p	,000	,000	,032	,081	,065	,239	,108	,053
	N	33	30	29	23	31	28	33	27
<b>IL-2</b>	$\rho$	,914	1,000	,215	,403	,104	,109	,282	,408
	p	,000	,000	,215	,027	,541	,531	,087	,017
	N	30	38	35	30	37	35	38	34
<b>IL-4</b>	$\rho$	,400	,215	1,000	,610	,426	,573	,424	,526
	p	,032	,215	,000	,000	,009	,000	,008	,001
	N	29	35	39	31	37	36	38	34
<b>IL-6</b>	$\rho$	,372	,403	,610	1,000	,143	,755	,448	,596
	p	,081	,027	,000	,000	,426	,000	,009	,001
	N	23	30	31	33	33	32	33	30
<b>IL-8</b>	$\rho$	,335	,104	,426	,143	1,000	,119	,439	,433
	p	,065	,541	,009	,426	,000	,484	,004	,008
	N	31	37	37	33	42	37	42	36
<b>IL-10</b>	$\rho$	,230	,109	,573	,755	,119	1,000	,138	,512
	p	,239	,531	,000	,000	,484	,000	,408	,002
	N	28	35	36	32	37	38	38	34
<b>IL-12</b>	$\rho$	,285	,282	,424	,448	,439	,138	1,000	,343
	p	,108	,087	,008	,009	,004	,408	,000	,038
	N	33	38	38	33	42	38	44	37
<b>IL-17</b>	$\rho$	,376	,408	,526	,596	,433	,512	,343	1,000
	p	,053	,017	,001	,001	,008	,002	,038	,000
	N	27	34	34	30	36	34	37	37

**Tabelle 40:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 2 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	,868	,200	,227	,605	,065	,436	,412
	p	,000	,000	,307	,310	,001	,747	,014	,037
	N	31	31	28	22	29	27	31	26
<b>IL-2</b>	$\rho$	,868	1,000	,170	,348	,499	,167	,356	,413
	p	,000	,000	,354	,081	,003	,361	,036	,023
	N	31	36	32	26	33	32	35	30
<b>IL-4</b>	$\rho$	,200	,170	1,000	,576	,364	,565	,330	,661
	p	,307	,354	,000	,001	,032	,000	,046	,000
	N	28	32	38	28	35	35	37	32
<b>IL-6</b>	$\rho$	,227	,348	,576	1,000	,232	,665	,253	,373
	p	,310	,081	,001	,000	,225	,000	,177	,055
	N	22	26	28	30	29	29	30	27
<b>IL-8</b>	$\rho$	,605	,499	,364	,232	1,000	,108	,393	,498
	p	,001	,003	,032	,225	,000	,545	,012	,003
	N	29	33	35	29	40	34	40	34
<b>IL-10</b>	$\rho$	,065	,167	,565	,665	,108	1,000	,177	,461
	p	,747	,361	,000	,000	,545	,000	,301	,009
	N	27	32	35	29	34	37	36	31
<b>IL-12</b>	$\rho$	,436	,356	,330	,253	,393	,177	1,000	,460
	p	,014	,036	,046	,177	,012	,301	,000	,005
	N	31	35	37	30	40	36	43	35
<b>IL-17</b>	$\rho$	,412	,413	,661	,373	,498	,461	,460	1,000
	p	,037	,023	,000	,055	,003	,009	,005	,000
	N	26	30	32	27	34	31	35	35

**Tabelle 41:** Korrelationen nach Spearman von hämatogenen Zytokinen untereinander zum Messzeitpunkt Luteal 3 mit Spearman-Rank-Korrelationskoeffizient ( $\rho$ ), Signifikanz (p) und Stichprobengröße (N).

		<b>IL-1</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-12</b>	<b>IL-17</b>
<b>IL-1</b>	$\rho$	1,000	,846	,488	,269	,467	-,135	,535	,401
	p	,000	,000	,010	,280	,011	,509	,002	,038
	N	31	30	27	18	29	26	31	27
<b>IL-2</b>	$\rho$	,846	1,000	,317	,385	,307	,070	,412	,359
	p	,000	,000	,067	,063	,069	,695	,010	,037
	N	30	38	34	24	36	34	38	34
<b>IL-4</b>	$\rho$	,488	,317	1,000	,403	,452	,456	,431	,553
	p	,010	,067	,000	,046	,006	,006	,006	,001
	N	27	34	39	25	36	35	39	35
<b>IL-6</b>	$\rho$	,269	,385	,403	1,000	,023	,711	,516	,625
	p	,280	,063	,046	,000	,912	,000	,006	,001
	N	18	24	25	27	26	26	27	25
<b>IL-8</b>	$\rho$	,467	,307	,452	,023	1,000	,000	,426	,519
	p	,011	,069	,006	,912	,000	,999	,006	,001
	N	29	36	36	26	41	35	41	37
<b>IL-10</b>	$\rho$	-,135	,070	,456	,711	,000	1,000	,035	,519
	p	,509	,695	,006	,000	,999	,000	,836	,002
	N	26	34	35	26	35	37	37	34
<b>IL-12</b>	$\rho$	,535	,412	,431	,516	,426	,035	1,000	,427
	p	,002	,010	,006	,006	,006	,836	,000	,008
	N	31	38	39	27	41	37	44	38
<b>IL-17</b>	$\rho$	,401	,359	,553	,625	,519	,519	,427	1,000
	p	,038	,037	,001	,001	,001	,002	,008	,000
	N	27	34	35	25	37	34	38	38

## 12. Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift



### **13. Danksagung**

Jetzt, wo die Dissertationsschrift fertig gestellt ist, ist es an der Zeit, den vielen Menschen Danke zu sagen, die mich bei der Erstellung dieser Dissertationsschrift unterstützt und begleitet haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Renate Deinzer für die Vergabe dieses spannenden Promotionsthemas und die Übernahme der wissenschaftlichen Betreuung. Sie gab mir stets den notwendigen Rückhalt, brachte mir sehr viel Vertrauen entgegen und sorgte mit konstruktiver Kritik für das Gelingen dieser Doktorarbeit.

Weiterhin gilt mein Dank meiner Betreuerin Frau Dr. Ulrike Weik, ihr fundiertes Fachwissen, ihre Geduld und ihre vielen wertvollen Ideen sowie Ratschläge waren ein wichtiger Grundpfeiler bei der Umsetzung der Fragestellung und dem Schreiben der Dissertation. Zusammen haben wir viele spannende Momente, Höhen und Tiefen erlebt, doch an ein Aufgeben war dank ihr nie zu denken.

Ein großes Dankeschön für die gute Zusammenarbeit richtet sich an die Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Gießen und Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Rudolf Tinneberg und der Mitarbeit von Herrn Dr. med. Frank Oehmke sowie an das Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Gießen unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Trinad Chakraborty und Mitarbeit von Herrn Dr. Svetlin Tchatalbachev.

Mein größter Dank geht an meinem Freund Michael Braunecker für seine tatkräftige Unterstützung, die beständige Motivation und sein unerschütterliches Vertrauen in das Gelingen dieser Doktorarbeit. Nicht nur hat er mich in Zeiten der gereizten Nerven und schlechter Laune geduldig ertragen und mir den Rücken freigehalten, er lehrte mich auch, Geduld zu haben und meine Zweifel und Sorgen zu überwinden. Außerdem war er eine unersetzliche Hilfe im Kampf mit widerspenstigen Computern und technischen Problemen.

Tiefen Dank schulde ich auch meinen treuesten und längsten Freundinnen Alexandra Wening und Kristine Blatter, die für meine Sorgen und Nöte immer ein offenes Ohr hatten und es dennoch schafften für die notwendige Ablenkung zu sorgen. Sie und ihre interdisziplinären Fachkenntnisse waren wertvolle Stützen bei der Fertigstellung der Dissertation.

### 13. Danksagung

---

Nicht zuletzt bin ich meinen Eltern unendlich dankbar, denn ohne Ihre liebevolle Hilfe und ihre bedingungslose und uneingeschränkte Unterstützung wäre das alles nicht möglich gewesen. Sie haben nie an mir gezweifelt und sind mir immer verlässlich mit Rat und Tat zur Seite gestanden.

Abschließend möchte ich meinen Probandinnen danken, ohne die diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre, für die engagierte und zuverlässige Teilnahme. Sie haben diese Studie auch zu einer persönlich Bereicherung für mich gemacht.