

Diplomarbeit

**Gallensäuren im Serum bei pädiatrischen
PatientInnen mit angeborenen Herzfehlern**

eingereicht von

Kerstin Pircher

12.08.1986

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

unter der Anleitung von

OA Dr. Jörg Jahnel

Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr. Tatjana Stojakovic

Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr.rer.nat. Hubert Scharnagl

Univ.-Prof. Dr. Martin Köstenberger

September 2013

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, September 2013

Kerstin Pircher

Danksagungen

Zu Beginn möchte ich meinem Erstbetreuer Dr. Janel danken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, bei ihm meine Diplomarbeit zu schreiben. Sein Bemühen und sein Engagement sind wirklich bewundernswert und ich danke ihm sehr dafür, dass er mich immer motiviert hat, damit diese Arbeit gelingt.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn PD Dr. Fauler und dem Team des Stoffwechsellabors, welches die Messungen der Gallensäuren durchführte.

Ebenso ergeht mein Dank für die Unterstützung und die Beantwortung vieler Fragen an die Co-Betreuer Ass.-Prof. PD Dr. Stojakovic, Ass.-Prof. PD Dr. Scharnagl und Univ.-Prof. Dr. Köstenberger.

Der größte Dank gebührt meinen Eltern, die mir das Studium erst ermöglicht haben. Ohne ihre Unterstützung wäre ich nicht so weit gekommen. Ich bin ihnen unendlich dankbar dafür!

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Verlobten, der mich in allen Lebenslagen unterstützt und mir eine große Stütze während meines Studiums war.

Zusammenfassung

Hintergrund: Bei Kindern und Jugendlichen bzw. Erwachsenen mit angeborenen Herzfehlern wurde bisher der Gallensäure (GS)-Stoffwechsel nicht untersucht. Bei diesen PatientInnen kann es aufgrund der kongenitalen Herzerkrankung zu einer langfristigen Rechtsherzbelastung und dadurch zum chronischen Blutrückstau zur Leber kommen. Ziel dieser Arbeit war es, Folgen von angeborenen Herzvitien auf den GS-Metabolismus zu untersuchen. Eine chronische Leberstauung könnte zur Leberfunktionseinschränkung führen und dadurch den GS-Stoffwechsel beeinflussen. Aus den gewonnenen Daten sollen Hypothesen für künftige, prospektive Studien abgeleitet werden. Von Interesse sind die Ergebnisse auch hinsichtlich in Zukunft neu verfügbarer GS-Produkte, die eine gezielte GS-Substitution ermöglichen werden.

Methodik: Die Studienpopulation bestand aus insgesamt 53 PatientInnen im Alter von 0 bis 53 Jahren, bei denen im Rahmen von Kontrolluntersuchungen GS-Konzentrationen mittels „Liquid chromatography-Tandem-Massenspektrometrie“ (LC-MS/MS) bestimmt wurden. Für die Auswertung wurden die Konzentrationen der Gesamt-GS als auch die unkonjugierten GS bzw. die mit Taurin oder Glycin konjugierten GS herangezogen. Die gemessenen GS-Werte von herzerkrankten PatientInnen wurden mit einer altersentsprechenden herzgesunden Vergleichspopulation verglichen. Es erfolgte eine Einteilung der PatientInnen in die Gruppe „Herzfehler mit Rechtsherzbelastung“ (Fallot-Tetralogie, Pulmonalatresie, Pulmonale Hypertonie, Andere) und in die Gruppe „Herzfehler ohne Rechtsherzbelastung“ (Aortenisthmusstenose, Aortenstenose, Vorhofseptumdefekt, kleiner Ventrikelseptumdefekt). Die Ergebnisse wurden mit klinischen Daten korreliert.

Ergebnisse: Es konnten in den einzelnen Subgruppen der PatientInnen mit Herzfehlern mit bzw. ohne Rechtsherzbelastung unterschiedliche Veränderungen in der Zusammensetzung der GS im Serum gefunden werden. Bei den PatientInnen mit Fallot-Tetralogie hatte jeweils eine Hälfte erhöhte Gesamt-GS-Werte, die andere erniedrigte. Die Änderungen waren bedingt durch Abweichungen der Glycin-konjugierten primären GS Glykocholsäure und

Glykochenodeoxycholsäure. Parallel zu diesem Muster war jenes der PatientInnen mit Atriumseptumdefekt verändert, wobei bei diesen PatientInnen vor allem die Taurin-konjugierten primären GS Taurocholsäure und Taurochenodeoxycholsäure den erhöhten bzw. erniedrigten Gesamt-GS-Wert bedingten. Die Gruppe mit kleinem Ventrikelseptumdefekt zeigte in der Mehrzahl erhöhte Gesamt-GS-Werte, wobei dies durch Taurin-konjugierte primäre GS erklärbar war.

Schlussfolgerung: PatientInnen mit angeborenen Herzfehlern zeigten im Serum Änderungen der Konzentration und Zusammensetzung von GS. Auf Basis unserer Daten sind daher zukünftig prospektive Studien geplant, die den Fokus auf den GS-Metabolismus bei ausgewählten Herzvitien legen werden. Bei PatientInnen mit bestimmten angeborenen Herzfehlern könnte eine GS-Substitution erwogen werden.

Abstract

Background: The bile acid (BA) metabolism in children, adolescents, and adults suffering from congenital heart defects is not investigated until now. These patients can develop a long-term right ventricular load with chronic backflow of blood to the liver. We hypothesised that chronic liver congestion leads to hepatic dysfunction and thus to disturbance in the BA metabolism.

Methods: We investigated serum BA-levels and BA-profiles in 53 patients with congenital heart defects at the age of 0 to 53 years, whereby BA-measurements were performed by "liquid chromatography-tandem mass spectrometry" (LC-MS/MS). The patients were divided into the group "heart defect with right ventricular load" (Tetralogy of Fallot, pulmonary atresia, pulmonary hypertension, others) and the group "heart defect without right ventricular load" (aortic isthmus stenosis, aortic stenosis, atrial septal defect, small ventricular septal defect). The results were correlated with clinical data.

Results: We found changes of serum BA-levels in each subgroup of congenital heart disease. One part of the patients suffering from Tetralogy of Fallot had elevated serum-BA-levels, the other part diminished. Changes were due to the glycin-conjugated primary BA glycocholic acid and glycochenodeoxycholic acid. The changes were similar in patients with atrial septal defect, but in these patients the taurin-conjugated primary BA taurocholic acid and taurochenodeoxycholic acid were changed predominantly. Most patients with small ventricular septal defect showed due to elevated taurin-conjugated BA elevated BA-levels.

Conclusion: Several patients with congenital heart defects showed alterations in serum BA-levels. We plan further studies with focusing on several congenital heart diseases. There could be a need of BA substitutions in patients with certain congenital heart defects.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	ii
Zusammenfassung	iii
Abstract	v
Inhaltsverzeichnis	vi
Glossar und Abkürzungen	viii
Abbildungsverzeichnis	x
Tabellenverzeichnis	xi
1 Einleitung	1
1.1 Hintergrund	1
1.2 Gallensäuren (GS)	2
1.2.1 Synthese der GS	2
1.2.2 Enterohepatischer Kreislauf	2
1.2.3 Physikalische Eigenschaften	4
1.2.4 Physiologische Funktion	5
1.2.5 GS-Transportsysteme im terminalen Ileum	5
1.3 Angeborene Herzerkrankungen	7
1.3.1 Übersicht	7
1.3.2 Gruppe A: Herzfehler mit Rechtsherzbelastung	11
1.3.3 Gruppe B: Herzfehler ohne Rechtsherzbelastung	15
2 Material und Methoden	19
2.1 PatientInnenrekrutierung	19
2.2 GS-Messungen	20
2.3 Methoden zur Bestimmung von GS im Serum	20
2.3.1 Massenspektrometrie	21
2.3.2 High performance liquid chromatography (HPLC)	22
2.3.3 HPLC-MS/MS	22
2.4 Normwerte	23
2.5 Datenerhebung	24
3 Ergebnisse – Resultate	25
3.1 PatientInnencharakterisierung	25
3.2 Serum-GS-Werte: Gruppe A - PatientInnen mit Rechtsherzbelastung... ..	26
3.2.1 GS-Werte A-1: ToF	27

3.2.2	GS-Werte A-2: PA	29
3.2.3	GS-Werte A-3: PH.....	30
3.2.4	GS-Werte A-4: Andere	31
3.3	Serum-GS-Werte: Gruppe B - PatientInnen ohne Rechtsherzbelastung	32
3.3.1	GS-Werte B-1: AIST	33
3.3.2	GS-Werte B-2: AST	33
3.3.3	GS-Werte B-3: ASD.....	34
3.3.4	GS-Werte B-4: Kleiner VSD	37
4	Diskussion.....	39
5	Literaturverzeichnis	42
	Anhang - Projektplan.....	46

Glossar und Abkürzungen

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
AIST	Aortenisthmusstenose
ASBT	apical sodium-dependent bile salt transporter
ASD	Atriumseptumdefekt
AST	Aortenstenose
bzw.	beziehungsweise
CDC	Chenodeoxycholsäure
CL	Cholsäure
CYP7A1	(Cytochrom P450)7-alpha-Hydroxylase
DC	Deoxycholsäure
DORV	Double outlet right ventricle
FXR	Farnesoid X Rezeptor
GC	Glykocholsäure
GCDC	Glykochenodeoxycholsäure
GDC	Glykodeoxycholsäure
GLC	Glykolithocholsäure
GS	Gallensäuren
GUDC	Glykoursodeoxycholsäure
HPLC	High performance liquid chromatography
I-BABT	ileal bile acid-binding protein
kl.	klein
LC	Lithocholsäure
MRP3	Multidrug resistance protein
MS	Massenspektrometrie
n	Norm
PA	Pulmonalatresie
Pat.	Patientin bzw. Patient
PDA	Persistierender Ductus Arteriosus
PH	Pulmonale Hypertonie
s.o.	siehe oben
s.u.	siehe unten

Tab.	Tabelle
TC	Taurocholsäure
TCDC	Taurochenodeoxycholsäure
TDC	Taurodeoxycholsäure
TGA	Transposition der großen Gefäße
TLC	Taurolithocholsäure
ToF	Tetralogy of Fallot
TUDC	Tauroursodeoxycholsäure
UDC, UDCA	Ursodeoxycholsäure
V.	Vena
VCI	Vena cava inferior
VSD	Ventrikelseptumdefekt
z.B.	zum Beispiel
↑	Erhöhter Wert
↓	Erniedrigter Wert

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Enterohepatischer Kreislauf der GS (4).....	3
Abbildung 2: Stereostruktur der Cholsäure (10)	4
Abbildung 3: Fetaler Blutkreislauf (16)	8
Abbildung 4: Massenspektrometrie (51).....	22

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Freie GS	20
Tabelle 2: Taurin-Konjugate	20
Tabelle 3: Glycin-Konjugate	20
Tabelle 4: „Normwerte“ der Gesamt-GS.....	23
Tabelle 5: PatientInnencharakterisierung Gruppe A.....	25
Tabelle 6: PatientInnencharakterisierung Gruppe B.....	26
Tabelle 7: Gruppe A: Übersicht der Gesamt-GS-Serumwerte.....	27
Tabelle 8: Gesamt-GS bei ToF.....	28
Tabelle 9: Glycin-konjugierte GS bei ToF.....	29
Tabelle 10: Gesamt-GS bei PA.....	30
Tabelle 11: GS-Fraktionen bei PA.....	30
Tabelle 12: Gesamt-GS bei PH.....	31
Tabelle 13: Gesamt-GS bei DORV, Hypoplastischem Linksherzsyndrom und TGA	31
Tabelle 14: Gruppe B: Übersicht der Gesamt-GS-Serumwerte.....	32
Tabelle 15: Gesamt-GS bei AIST.....	33
Tabelle 16: Gesamt-GS bei AST.....	33
Tabelle 17: Gesamt-GS bei ASD.....	34
Tabelle 18: Taurin-konjugierte GS bei ASD.....	35
Tabelle 19: Glycin-konjugierte GS bei ASD.....	36
Tabelle 20: Unkonjugierte GS bei ASD.....	36
Tabelle 21: Gesamt-GS bei kl. VSD.....	37
Tabelle 22: Taurin-konjugierte GS bei kl. VSD.....	37
Tabelle 23: Glycin-konjugierte GS bei kl. VSD.....	38
Tabelle 24: Unkonjugierte GS bei kl. VSD.....	38

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Angeborene Herzerkrankungen bei Kindern und Jugendlichen können mit einer chronischen Herzinsuffizienz einhergehen. Eine Komplikation davon kann der Rückstau von Blut in die Lebergefäße sein (Leberstauung), was nach einigen Jahren zur Leberfibrosierung und schließlich, in seltenen Fällen, in einer Leberzirrhose mit Gefahr der Ausbildung eines hepatozellulären Karzinoms enden kann. Betroffen davon sind insbesondere PatientInnen mit angeborenen Herzfehlern mit Rechtsherzbelastung, wie Fallot-Tetralogie, Pulmonalatresie, Pulmonale Hypertonie, Double outlet right ventricle, Hypoplastisches Linksherzsyndrom oder Transposition der großen Gefäße (1).

Die Idee dieser Arbeit war es, dass es im Rahmen der Leberstauung zu einer Funktionseinschränkung der Leberzelle kommen könnte, wodurch der Gallensäuren (GS)-Metabolismus gestört sein könnte. Die Folge wäre eine veränderte GS-Zusammensetzung in der Leber und im Darm, welche indirekt im Serum gemessen werden kann.

Die Bedeutung dieser Arbeit liegt in der Tatsache, dass GS medikamentös substituiert werden können (z.B. Ursodeoxycholsäure = Ursafalk®) und bereits neue Produkte in Entwicklung sind. Bei Vorliegen eines Mangels der GS bei Kindern und Jugendlichen wäre die Substitution zu überdenken. GS spielen eine wichtige Rolle im Lipidstoffwechsel, durch GS-Substitution könnte die Fettresorption im Darm verbessert werden, was wiederum Einfluss auf das Wachstum hat. In den letzten Jahren erkannte man, dass GS im Blut als Hormone gesehen werden müssen und dadurch GS viele Funktionen im Körper erfüllen, die teilweise noch nicht ausführlich untersucht worden sind. Ein möglicher Hinweis auf eine protektive Wirkung von GS könnten Studien bei Erwachsenen mit einer erworbenen Herzinsuffizienz sein, die zeigten, dass GS-Substitutionen einen protektiven Effekt auf das Endothel haben (2-5).

1.2 Gallensäuren (GS)

1.2.1 Synthese der GS

GS werden in den Leberzellen (Hepatozyten) aus Cholesterol synthetisiert und stellen die Endprodukte des Cholesterinstoffwechsels dar. Es gibt zwei Möglichkeiten der Umwandlung von Cholesterol in die *primären* GS Cholsäure (CL) und Chenodeoxycholsäure (CDC):

- Der „klassische Syntheseweg“ wird über das Enzym 7α -Hydroxylase (CYP7A1) eingeleitet und führt über Sterol- 12α -Hydroxylase (CYP8B1) zur Ausbildung von CL.
- Der „alternative Syntheseweg“ führt über Sterol-27-Hydroxylase (CYP27A1) und 25-Hydroxycholesterol- 7α -Hydroxylase (CYP7B1) zur Umwandlung von Cholesterol zu den primären GS (2-4).

Nur ungefähr 10% der GS werden über den alternativen Weg hergestellt, womit der klassische Syntheseweg dominiert. Anschließend werden in der Leber die primären GS mit den Aminosäuren Glycin oder Taurin konjugiert. Später im Colon entstehen die sekundären GS (s.u.) (2-4).

1.2.2 Enterohepatischer Kreislauf

Die konjugierten GS werden von den Hepatozyten in die Galle abgegeben und gelangen über die Gallengänge in die Gallenblase, wo sie bis zu ihrer Verwendung gespeichert werden. Bei Bedarf werden sie ins Duodenum ausgeschüttet und gelangen über den Dünndarm ins terminale Ileum. Der Vorteil der „konjugierten GS“ ist, dass diese erschwert durch die Darmwand diffundieren können und dadurch hohe Konzentrationen im Intestinum gewährleistet sind. Etwa 95% der GS werden im terminalen Ileum über die Darmzellen (Enterozyten) wieder ins Blut reabsorbiert. Dies erfolgt mit Hilfe von spezifischen Transportproteinen (s.u.) an der basalen und apikalen Seite der Enterozyten. Über

das Pfortaderblut gelangen die GS wieder zurück zur Leber (siehe Abb. 1). Somit ergibt sich ein Kreislauf zwischen Leber und Darm, der „enterohepatischer Kreislauf“ genannt wird (4,6-9).

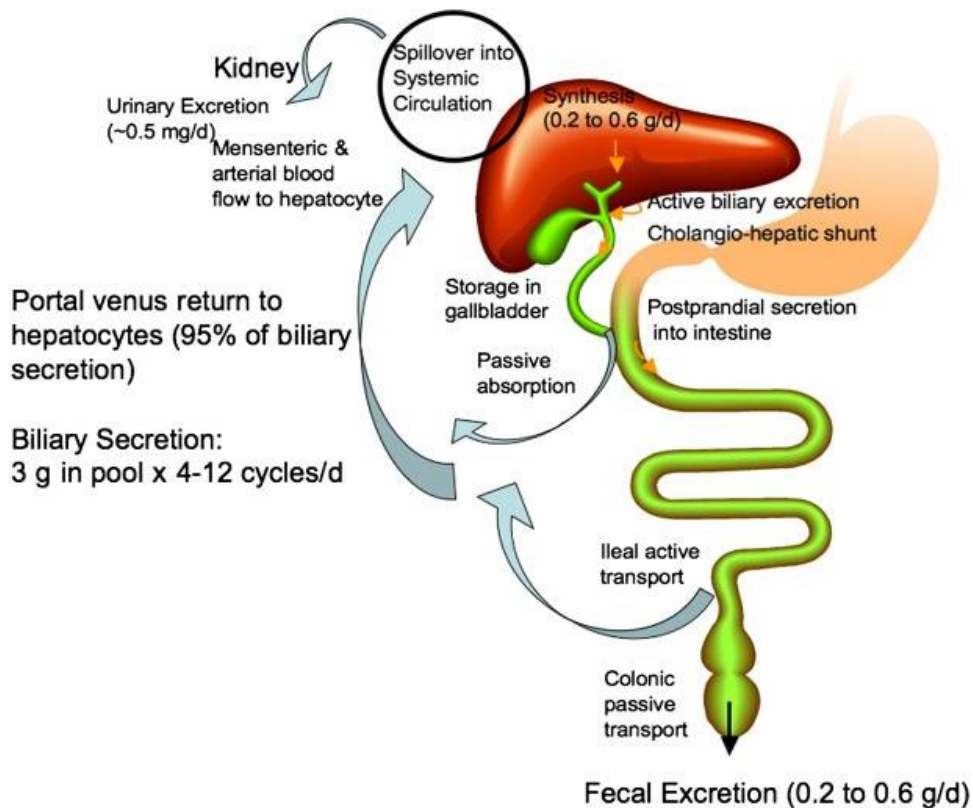


Abbildung 1: Enterohepatischer Kreislauf der GS (4)

Ein kleiner Teil der konjugierten GS entgeht der Reabsorption im terminalen Ileum und gelangt ins Colon, wo Glycin und Taurin durch Darmbakterien abgespalten werden, wobei zunächst wieder primäre GS entstehen. Durch die anschließende Dehydroxylierung entstehen die *sekundären* GS Deoxycholsäure (DC) und Lithocholsäure (LC). Ursodeoxycholsäure (UDC) wird auch zu den sekundären GS gezählt, da sie aus CDC im Colon entsteht. Beim Menschen wird UDC nur in sehr geringen Mengen gebildet, bei Bären ist sie jedoch die wichtigste GS. UDC ist die einzige GS, die oral unbedenklich appliziert werden kann. Die sekundären GS unterliegen ebenfalls teilweise einem enterohepatischen Kreislauf, jedoch erfolgt eine passive Aufnahme der GS ins Portalblut (3).

Um einen konstanten Gallensäurepool von 3 g aufrechtzuerhalten, durchlaufen die

GS diesen Kreislauf täglich 4-12 mal. Nur eine geringe Menge von etwa 0,2-0,6 g an GS gehen täglich über den Stuhl verloren. Um den Verlust auszugleichen, wird diese Menge täglich in der Leber neu synthetisiert (4).

1.2.3 Physikalische Eigenschaften

Eine wichtige Eigenschaft der GS ist ihr amphipathisches Verhalten. Zurückzuführen ist dieses Verhalten auf das Vorhandensein einer *hydrophilen Seite* (α -face, konkave Unterseite) und einer *hydrophoben Seite* (β -face, konvexe Oberseite) (Abb. 2). Die Hydroxylgruppen an der α -Seite und die Carbonsäure-Seitenkette gewähren den hydrophilen Charakter. Die hydrophoben Methylgruppen sind in Richtung der β -Seite orientiert. Diese amphipathische Eigenschaft gewährleistet die wohl wichtigsten Funktionen der GS: den Lipidtransport durch Solubilisierung und die Ausscheidung von Cholesterin in den Darmtrakt (10).

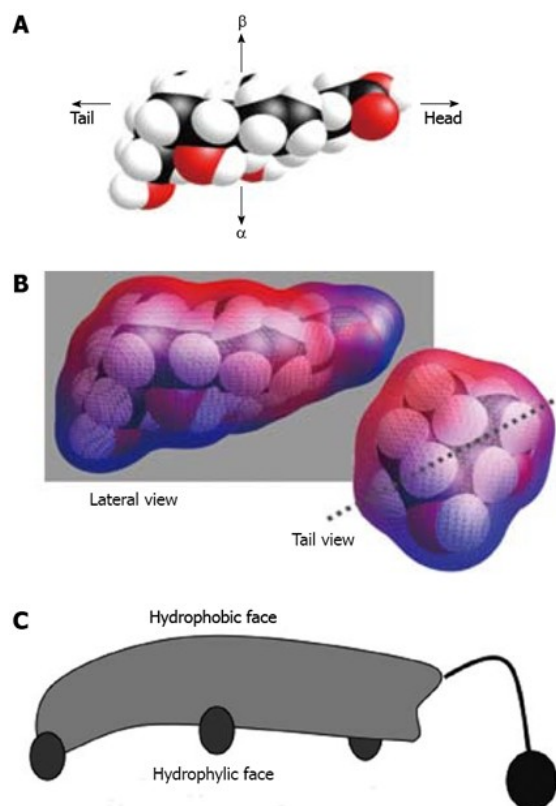


Abbildung 2: Stereostruktur der Cholsäure (10). A: 3D-Modell; B: Darstellung des molekularen-lipophilen Potentials. Die blaue Farbe zeigt die polare, rot die apolare Oberfläche; C: Schematische Darstellung von Cholsäure.

1.2.4 Physiologische Funktion

Eine physiologische Aufgabe der GS ist die Emulsion von Nahrungsfetten und fettlöslichen Vitaminen im Darm, wodurch die Fettresorption im Darm erleichtert wird. In den Gallenwegen stimulieren GS die biliäre Lipidsekretion. Aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften (s.o.) sind GS in der Lage, gemeinsam mit biliären Phospholipiden Mischmizellen zu bilden. Dies ermöglicht die Solubilisierung von Cholesterin und anderen lipophilen Verbindungen in der Galle. Darüber hinaus erleichtern die GS die Aufnahme von Kalzium im Darm. Außerdem haben GS im Darm eine antimikrobielle Wirksamkeit, indem sie das übermäßige Wachstum an Bakterien im Dünndarm verhindern (10).

In der Leber gibt es einen negativen Feedbackmechanismus, der sowohl die GS-Synthese als auch die Cholesterinbiosynthese regelt. Ist die Konzentration an GS in den Hepatozyten hoch, wird die Neusynthese reduziert. Im Gegensatz dazu steigt die Synthese bei niedrigen GS-Konzentrationen. Die Cholesterinsynthese erfährt einen parallelen Anstieg, da die GS aus Cholesterin synthetisiert werden. Einen ähnlichen Feedbackmechanismus gibt es auch zwischen Darm und Leber, wobei das Feedback durch den im Darm produzierten Fibroblast-Growth-Faktor 19 (FGF19) ermöglicht wird. Damit hilft der enterohepatische Kreislauf nicht nur der Rückkopplungshemmung der Gallensäurebiosynthese, sondern dient auch der Steuerung der Lipidhomöostase des Körpers. Gallensäuren haben überdies eine antiinflammatorische und zytoprotektive Wirkung (3-5).

1.2.5 GS-Transportsysteme im terminalen Ileum

Ein entscheidender Schritt für die Aufrechterhaltung der GS-Homöostase ist die Reabsorption der GS im terminalen Ileum. Dies ist ein komplexer Prozess, der durch spezielle Transportproteine ermöglicht wird, wobei hier nur die wichtigsten erwähnt werden. Die konjugierten GS werden über den apikalen Na^+ -abhängigen GS-Transporter **ASBT** (apical sodium-dependent bile salt transporter) in den Enterozyten aufgenommen. Nach erfolgter Aufnahme werden die GS an die basolaterale Membran gependelt. Für den intrazellulären Transport ist **I-BABP**

(ileal bile acid-binding protein) zuständig. An der basolateralen Membran angekommen, werden die GS über **MRP3** (multidrug resistance protein) an den Pfortaderkreislauf abgegeben. ASBT ist nur im Ileum vorhanden, MRP3 ist am häufigsten im terminalen Ileum und teilweise im Colon nachweisbar, im Duodenum ist MRP3 kaum exprimiert. Durch die hohe Expression von MRP3 im terminalen Ileum wird die Rückführung der GS in den Pfortaderkreislauf ermöglicht (2,11).

1.2.5.1 Kernrezeptoren

GS fungieren als Liganden für Kernrezeptoren, die in Leber und Darm exprimiert werden. Die Kernrezeptoren wirken als Transkriptionsfaktoren, die die Genexpression einerseits aktivieren, andererseits aber auch hemmen können. Durch die Aktivierung der Kernrezeptoren kann die Expression der Membrantransportproteine beeinflusst werden (2,11).

Bei der Regulation der GS-Synthese und des GS-Transports spielt der Farnesoid X Rezeptor (**FXR**) eine zentrale Rolle. Während die hydrophobe GS CDC der wirksamste FXR Ligand ist, können hydrophile GS, wie UDCA und Muricholsäure, FXR nicht aktivieren. Durch die Aktivierung von FXR wird u.a. die Expression des intrazellulären Transporters I-BABP erhöht. Andererseits kann FXR auch die Transkription des Gens für die Cholesterin 7 α -Hydroxylase (CYP7A1), dem geschwindigkeitsbestimmenden Enzym der Gallensäuresynthese, unterdrücken. Wäre kein Regelwerk für die Aktivität der GS-Aufnahme und GS-Abgabe gegeben, wäre die Folge eine intrazelluläre Akkumulation der GS, die zur Cholestase, Apoptose der Hepatozyten und zu Parenchymschäden führt (2,4,11).

1.3 Angeborene Herzerkrankungen

1.3.1 Übersicht

1.3.1.1 Inzidenz, Ätiologie

Angeborene Herzerkrankungen gehören zu den häufigsten kongenitalen Erkrankungen beim Menschen. Die Inzidenz von angeborenen Herzerkrankungen wird in der Literatur unterschiedlich angegeben. Im Durchschnitt wird etwa bei jedem 6. Kind unter 1000 Lebendgeburten ein Herzfehler diagnostiziert, ohne geringe, hämodynamisch unwirksame Veränderung mitzuzählen (12).

Die häufigsten Ursachen von kongenitalen Herzerkrankungen sind Störungen in der Herzentwicklung während der Embryonalperiode. Einerseits sind mütterliche Faktoren wie Infektionen, Strahlenexpositionen, Drogenkonsum, Medikamente (z.B. Marcoumar, Antiepileptika, Thalidomid) oder Immunerkrankungen (z.B. Diabetes mellitus, Lupus erythematoses) bekannte prädisponierende Faktoren. Andererseits sind genetische Defekte des Kindes wie Trisomie 13, 18, 21 oder das Turner Syndrom häufig mit angeborenen Herzerkrankungen assoziiert. Zumeist liegt eine multifaktorielle Genese vor (13,14).

Je nach Lokalisation der Defekte innerhalb des Herzens unterscheidet man verschiedene Formen von Herzfehlern (s.u.). Es kommt in den meisten Formen zu einer Änderung des Blutflusses innerhalb des Herzens (s.u.), was Konsequenzen für die Blutversorgung des ganzen Körpers haben kann. Während der Geburt kommt es physiologisch zu einer perinatalen Kreislaufumstellung, weshalb viele Herzfehler erst postpartum durch klinische Symptome offensichtlich werden. Da heutzutage ein pränatales Organscreening sehr häufig durchgeführt wird, kann die Diagnose eines angeborenen Herzfehlers oft schon intrauterin erfolgen und therapeutische Maßnahmen postnatal frühzeitig geplant werden.

1.3.1.2 Fetaler Blutkreislauf

Ab der Fetalperiode (9. Woche post conceptionem bis zur Geburt) erhält der Fetus Sauerstoff und Nährstoffe aus dem Blut der Mutter. Im Austausch dazu gibt der Fetus Kohlendioxid und Stoffwechselabbauprodukte an das mütterliche Blut ab (14,15).

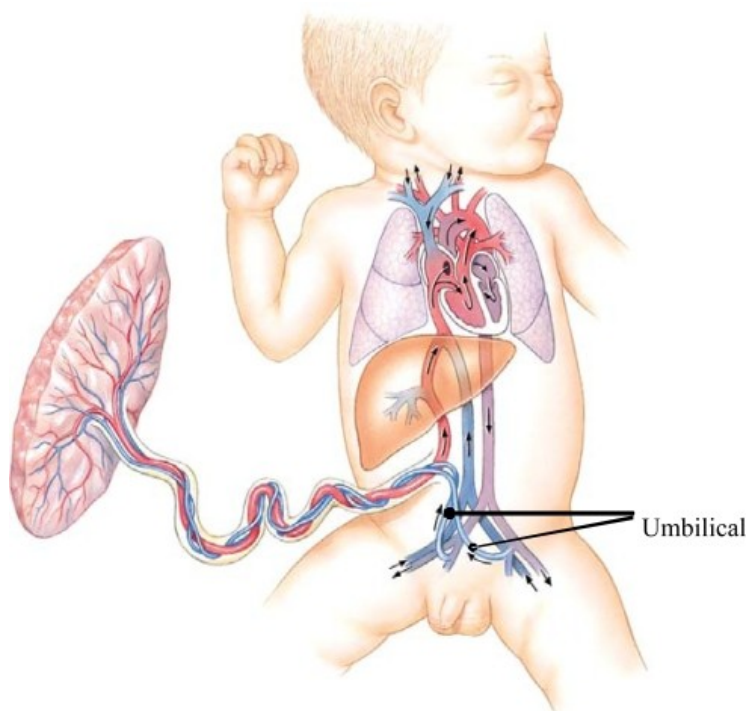


Abbildung 3: Fetaler Blutkreislauf (16)

Die Verbindung zwischen den beiden Kreisläufen stellt die Plazenta (Mutterkuchen) dar. Das sauerstoff- und nährstoffreiche Blut aus der Plazenta fließt über die Nabelvene (V. umbilicalis) zur fetalen Leber. Dort besteht eine Verbindung mit der Lebervene (V. portae), über die ein Teil des Blutes in den Pfortaderkreislauf gelangt. Der Großteil des Blutes gelangt über den Ductus venosus in die Vena cava inferior (VCI) und wird über diesen Kurzschlussweg an der Leber vorbeigeführt. Das Blut fließt über die V. cava inferior in den rechten Vorhof, von dem es über das Foramen ovale in den linken Vorhof geleitet wird. Von dort wird das Blut über den linken Ventrikel in die Aorta ascendens gelenkt,

über deren Äste die Herzmuskulatur, der Kopf und die oberen Extremitäten versorgt werden (Abb. 3) (14,15).

Das sauerstoffarme Blut aus Armen und Kopf des Fetus gelangt über die V. cava superior in den rechten Vorhof, vermischt sich dort mit einem Teil des Blutes aus der VCI und fließt weiter in den rechten Ventrikel und von dort in den Truncus pulmonalis. Aufgrund eines hohen Strömungswiderstandes erreicht nur ein kleiner Teil des Blutes die noch nicht belüfteten Lungen über die Lungenarterien. Der größte Teil des Blutes wird über den sogenannten *Ductus arteriosus Botalli* in die Aorta ascendens geleitet. Das Blut vermischt sich hier mit dem Blut aus der proximalen Aorta und gelangt über die beiden Nabelarterien (Aa. umbilicales) zurück zur Plazenta (14,15).

1.3.1.3 Perinatale Kreislaufumstellung

Bei Geburt kommt es zu Änderungen des fetalen Kreislaufs, da die Verbindung zur Plazenta unterbrochen wird und die Lungen sich entfalten und mit Luft füllen. Während des Geburtsvorganges wird der Brustkorb komprimiert und die Flüssigkeit aus den Lungen gepresst. Infolgedessen nimmt der Gefäßwiderstand der Lungen ab und der Druck im rechten Vorhof und rechten Ventrikel sinkt. Außerdem kommt es durch Kontraktion der Muskelwand allmählich zum Verschluss des Ductus arteriosus, sodass das ganze Blut aus dem rechten Ventrikel durch die Lungengefäße fließt. Das Blut wird nun in den Lungen oxygeniert und fließt über die Lungenvenen in den linken Vorhof. Dieser enorme Anstieg der Blutmenge in den Lungengefäßen führt zu einer Erhöhung des Drucks im linken Vorhof. Durch die Änderung der Druckverhältnisse wird auch das Foramen ovale verschlossen. Mit der Abnabelung wird die Verbindung zwischen Plazenta und den Nabelschnurgefäßen getrennt. Mit der Zeit veröden diese Gefäße. Der Ductus venosus obliteriert und wird zum Ligamentum venosum (14,15).

Ein Beispiel für eine Störung der perinatalen Kreislaufumstellung ist der **Persistierende Ductus arteriosus Botalli (PDA)**, welcher mit einer Häufigkeit von 5-10% aller angeborenen Herzerkrankungen auftritt. Charakteristisch für

diesen Defekt ist ein Offenbleiben der Verbindung zwischen Aorta und Arteria pulmonalis. Beim PDA wird die hämodynamische Wirkung von der Menge des Shuntvolumens bestimmt. Diese hängt wiederum vom Strömungswiderstand des Ductus arteriosus und vom Druckgradienten zwischen Körper- und Lungenkreislauf ab. Aufgrund der vorherrschenden Druckverhältnisse besteht zunächst ein Links-rechts-Shunt, mit einem Blutfluss von der Aorta ascendens über den Ductus arteriosus in die A. pulmonalis. Auf Dauer führt die ständige Druckbelastung des Pulmonalarteriensystems zum morphologischen Umbau mit einer rechtsseitigen Druckerhöhung und als Konsequenz darauf zu einer Shuntumkehr (*Eisenmenger-Reaktion*, s.u.). Die Folgen eines nicht verschlossenen Ductus arteriosus sind Herzinsuffizienz und nach Shuntumkehr Zyanose. Außerdem ist das Endokarditisrisiko erhöht. Therapie der Wahl ist der Verschluss (17,18).

1.3.1.4 Einteilung der angeborenen Herzfehler

Angeborene Herzfehler können in 2 Gruppen eingeteilt werden:

1. **Gruppe A:** Herzfehler mit Rechtsherzbelastung:

A-1: Fallot-Tetralogie (ToF)

A-2: Pulmonalatresie (PA)

A-3: Pulmonale Hypertonie (PH)

A-4: Andere

- Double outlet right ventricle (DORV)

- Hypoplastisches Linksherzsyndrom

- Transposition der großen Gefäße (TGA)

2. **Gruppe B:** Herzfehler ohne Rechtsherzbelastung:

B-1: Aortenisthmusstenose (AIST)

B-2: Aortenstenose (AST)

B-3: Vorhofseptumdefekt (ASD)

B-4: Kleiner Ventrikelseptumdefekt (VSD)

1.3.2 Gruppe A: Herzfehler mit Rechtsherzbelastung

Als Rechtsherzbelastung bezeichnet man eine vermehrte Belastung des rechten Ventrikels. Die Ursache für eine Rechtsherzbelastung bei angeborenen Herzerkrankungen ist meistens die Kombination aus einem vermehrten Ausflusswiderstand und einer erhöhten Volumenbelastung (1).

1.3.2.1 A-1: Fallot-Tetralogie (ToF)

Die Fallot-Tetralogie (Tetralogy of Fallot - ToF) macht ungefähr 10% der angeborenen Herzfehler aus und ist die am häufigsten vorkommende Form der zyanotischen kongenitalen Herzfehlbildungen. Diese Herzerkrankung besteht aus einer Kombination von vier anatomischen Merkmalen (19,20):

1. Ventrikelseptumdefekt
2. Reitende Aorta
3. Pulmonalstenose
4. Rechtsventrikuläre Hypertrophie

Die Aorta, die über dem Ventrikelseptumdefekt reitet, erhält Blut aus beiden Ventrikeln und ist aufgrund der Volumenbelastung meist dilatiert. Abhängig von der Schwere der Pulmonalstenose pendelt das Blut durch den Ventrikelseptumdefekt von der einen Seite zur anderen. Bei einer signifikanten Strombahnbehinderung des rechten Ventrikels ist die Flussrichtung durch den Defekt von rechts nach links (Rechts-links-Shunt). Die Lungendurchblutung ist dadurch eingeschränkt und sauerstoffreiches Blut kann sich mit sauerstoffarmen vermischen. Deoxygeniertes Blut gelangt somit in den Körperkreislauf und führt in Folge zur Zyanose. Umgangssprachlich werden diese Babies deswegen auch als „blue babies“ bezeichnet. Die meisten Neugeborenen weisen anfangs noch eine adäquate Lungendurchblutung auf, weshalb die Zyanose erst im Laufe der ersten Lebensmonate auftritt (21-23).

Die Therapie besteht aus der Korrekturoperation. Durch die chirurgische Intervention können beinahe alle Kinder mit einer ToF das Erwachsenenalter erreichen (21-23).

1.3.2.2 A-2: Pulmonalatresie (PA) ohne VSD

Die PA ohne Shunt, auch bekannt unter dem Namen „PA mit intaktem Ventrikelseptum“, ist eine relativ selten vorkommende Herzerkrankung (weniger als 1% aller angeborenen Herzfehler). Morphologisch äußert sich dieses Herzvitium in einem Verschluss der Pulmonalklappe, einer Hypoplasie des rechten Ventrikels und einer Dysplasie der Trikuspidalklappe. Zudem liegt ein Vorhofseptumdefekt (ASD) vor. Das Ventrikelseptum ist intakt. Über den ASD, ohne diesem kein Blutfluss möglich wäre, liegt ein Rechts-links-Shunt vor, was eine Zyanose des Neugeborenen bedingt (24-27).

Ein Überleben des Neugeborenen ist von einem offenen Ductus arteriosus abhängig, über diesen der pulmonale Blutfluss aufrechterhalten wird. Die initiale Therapie sieht daher ein Offenhalten des Ductus arteriosus mittels Prostaglandin-Infusionen vor. Die weitere Therapie ist die operative Sanierung (25,26).

Die PA mit Ventrikelseptumdefekt stellt eine Extremform der Fallot-Tetralogie dar (28).

1.3.2.3 A-3: Pulmonale Hypertonie (PH)

Die PH wird definiert als ein erhöhter Druck im Pulmonalarteriensystem über 25 mmHg. Als primäre Ursache liegen progressive Lungengefäßerkrankungen vor. Sekundäre Ursachen sind vor allem angeborene Herzfehler mit einem Links-rechts-Shunt, die als Folge darauf zu einer Überlastung des rechten Herzens führen. Dazu zählen unter anderem der Ventrikelseptumdefekt, ein Persistierender Ductus arteriosus Botalli, ein Truncus communis und die totale Lungenvenenfehlmündung (29).

Bei der *primären* PH wird medikamentös versucht den pulmonalen Gefäßwiderstand zu senken. Wirksame Mittel sind hierbei unter anderem ACE-Hemmer, Nitrate, NO, Nifedipin und Sildenafil. Die Therapie der *sekundären* PH sieht eine frühzeitige Korrektur des Herzfehlers vor, um Komplikationen wie die *Eisenmenger-Reaktion* (s.u.) zu vermeiden (29).

1.3.2.4 A-4:Andere

1.3.2.4.1 *Double Outlet Right Ventricle (DORV)*

Der DORV stellt eine Extremvariante der Fallot-Tetralogie dar. Hier entspringen sowohl die Aorta als auch die Pulmonalarterie aus dem rechten Ventrikel. Zudem liegt ein Ventrikelseptumdefekt vor, der die einzige Abflussmöglichkeit aus dem linken Ventrikel darstellt. Häufig sind auch eine Pulmonalstenose und eine Transposition der großen Gefäße vorliegend. Klinisch präsentiert sich diese kongenitale Fehlbildung ähnlich der Fallot-Tetralogie, weshalb ich hier auf das Kapitel 1.3.2.1 verweise (26,30).

1.3.2.4.2 *Hypoplastisches Linksherzsyndrom*

Unter allen kongenitalen Herzfehlern kommt das hypoplastische Linksherzsyndrom mit einer Häufigkeit von 1-3% vor und wird zu den zyanotischen Herzfehlern gezählt. Beim hypoplastischen Linksherzsyndrom handelt es sich um eine Kombination aus mehreren Herzfehlbildungen. Charakteristisch sind die Hypoplasie des linken Ventrikels und der Aorta ascendens, die durch eine Mitralklappenstenose oder -atresie beziehungsweise durch eine Aortenklappenstenose oder -atresie bedingt sind. Das sauerstoffreiche Blut fließt vom linken Vorhof über das Foramen ovale in den rechten Vorhof und weiter in den rechten Ventrikel. Von dort aus erfolgt über den Ductus arteriosus auch die retrograde Perfusion der Aorta ascendens und der Koronararterien. Ein offener Ductus arteriosus ist daher ausschlaggebend für ein Überleben des Neugeborenen (28,29).

Die Diagnose wird heute meist schon pränatal gestellt, was die Planung der therapeutischen Schritte erleichtert. Nach der Geburt muss der Ductus arteriosus mittels Prostaglandin-Infusionen offen gehalten werden, um so die Zeit bis zur Operation überbrücken zu können. Die sogenannte *Norwood-Operation* wird in 3 Schritten durchgeführt, an deren Ende ein univentrikuläres Herz entsteht, wobei der rechte Ventrikel zum Systemventrikel wird. Die letzte therapeutische Möglichkeit stellt die Herztransplantation dar (28,29).

1.3.2.4.3 Transposition der großen Gefäße (TGA)

Die komplette Transposition der großen Arterien (Transposition of Great Arteries - TGA) tritt mit einer Häufigkeit von 5-7% aller angeborenen Herzfehler auf. Charakterisiert ist diese Malformation durch eine atrioventrikuläre Konkordanz und eine ventrikuloarterielle Diskordanz. Dies bedeutet, dass das Blut zwar wie gewohnt vom rechten Vorhof in den rechten Ventrikel und vom linken Vorhof in den linken Ventrikel fließt, Aorta und Pulmonalarterie sind allerdings vertauscht. Infolgedessen entspringt aus dem rechten Ventrikel nicht die Pulmonalarterie sondern die Aorta und aus dem linken Ventrikel entspringt die Pulmonalarterie anstelle der Aorta. Somit entstehen zwei parallel laufende Kreisläufe. Damit dies mit dem Leben vereinbar ist, muss eine Verbindung zwischen beiden Kreisläufen bestehen, entweder durch einen Ventrikelseptumdefekt, einen Atriumseptumdefekt oder den Ductus arteriosus Botalli. Auf diesem Weg kann sich das Blut vermischen und oxygeniertes Blut gelangt in den Körperkreislauf (31,32).

Neugeborene ohne VSD sind meist von Beginn an zyanotisch. Überlebensfähig ist das Kind nur durch den Blutaustausch über den noch offenen Ductus arteriosus Botalli. Verschließt sich der Ductus physiologischerweise nach einigen Tagen, kommt es zu einer massiven Verschlechterung des Zustandsbildes. Um ein Überleben zu ermöglichen, muss eine Atrioseptostomie mit einem Ballonkatheter durchgeführt werden (*Rashkind-Manöver*). Dadurch wird ein künstlicher Atriumseptumdefekt hergestellt, der eine Vermischung des Blutes zwischen den beiden Kreisläufen zulässt. Die Zeit bis zur eigentlichen Korrekturoperation kann so überbrückt werden (31,32).

1.3.3 Gruppe B: Herzfehler ohne Rechtsherzbelastung

1.3.3.1 B-1: Aortenisthmusstenose (AIST)

Die AIST kommt unter allen angeborenen Herzfehlern mit einer Häufigkeit von 8% vor. Die grobe Unterteilung der AIST erfolgt in infantile und adulte Form. Bei der *infantilen* Form mit Hypoplasie des Aortenbogens befindet sich die Stenose vor dem Ductus arteriosus Botalli, weshalb diese Form auch als präduktale Form bezeichnet wird. Abhängig ist diese Form von einem offenen Ductus arteriosus, der die Versorgung der unteren Körperhälfte gewährleistet. Die *adulte* Form wird in Abhängigkeit von der Lage der Stenose in postduktale Form und bei Lage auf Höhe des Ductus in juxtaduktale Form unterteilt. Bei einer ausreichenden Blutversorgung der unteren Körperhälfte über pränatal ausgebildete Kollateralen, können die adulten Formen der AIST lange unentdeckt bleiben. Auffällig wird diese Herzerkrankung meist im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen. Klinische Zeichen sind ein nicht tastbarer Leistenpuls, ein systolisches Herzgeräusch, vor allem paravertebral links und ein Blutdruckgradient zwischen der oberen und unteren Extremität, beziehungsweise eine Rechts- und Linksherzdekompensation nach Verschluss des Ductus arteriosus (28,29).

Die Therapie der Wahl bei hämodynamisch wirksamer AIST ist die operative Sanierung (28,29).

1.3.3.2 B-2: Aortenstenose (AST)

Die AST tritt mit einer Häufigkeit von 4-5% aller angeborenen Herzerkrankungen auf. In Abhängigkeit von der Lokalisation der Stenose unterscheidet man 3 Formen:

1. Valvuläre AST
2. Subvalvuläre AST
3. Supravalvuläre AST

Bei Kindern ohne Beeinträchtigung wird die Diagnose heute meist zufällig im Rahmen von Vorsorgeuntersuchungen gestellt. Typischer Auskultationsbefund ist ein raues systolisches Herzgeräusch mit Fortleitung in die Karotiden (28,29).

Die Therapie sieht hier initial eine Ballondilatation oder Valvulotomie bei einem Druckgradienten über 70-80 mmHg vor. Von einem definitiven Klappenersatz kann aber langfristig nicht abgesehen werden. Früher wurde dieser jedoch vor allem bei Kindern so lange wie möglich hinausgezögert, um wachstumsbedingte wiederholte Operationen zu vermeiden. Heutzutage wird vielmehr die „Ross-Operation“ durchgeführt und hierbei eine Klappe eingesetzt, die das Potential besitzt mitzuwachsen. Dabei wird durch autologe Transplantation der Pulmonalklappe die Aortenklappe ersetzt. Anstelle der Pulmonalklappe wird eine Spenderklappe eingesetzt (28,29,33).

Die kritische Aortenstenose des Neugeborenen tritt sehr früh mit einer globalen Herzinsuffizienz zum Vorschein. Die Dekompensation tritt mit zunehmendem Verschluss des Ductus arteriosus auf, der bis dahin die systemarterielle Durchblutung aufrechterhält. Das therapeutische Vorgehen ist neben der Herzinsuffizienztherapie das gleiche wie oben beschrieben (28,29).

1.3.3.3 B-3: Vorhofseptumdefekt (ASD)

Die Häufigkeit des Vorhofseptumdefekts (Atriumseptumdefekt - ASD) liegt bei 10% aller angeborenen Herzerkrankungen. Beim ASD unterscheidet man mehrere Arten, abhängig von der Lokalisation des Defekts (34-39).

- Beim *Ostium-secundum-Typ* (ASD II) liegt der Defekt in der Mitte des Vorhofseptums innerhalb der Fossa ovalis. Der ASD II ist der am häufigsten vorkommende Vorhofseptumdefekt.
- Der *Ostium-primum-Typ* (ASD I) ist ein Defekt, der im unteren Anteil des Vorhofseptums zu finden ist und geht meist mit einer Fehlfunktion der Mitralklappe einher.

- Der *Sinus-venosus-Defekt* ist ein hochliegender Defekt im Vorhofseptum neben der Einmündung der Vena cava superior. Oft ist dieser Defekt mit einer Lungenvenenfehlmündung kombiniert.

ASDs können lange unentdeckt bleiben und stellen die häufigsten kongenitalen Herzfehler im Erwachsenenalter dar. Je nach Größe des ASDs kommt es auf Vorhofebene zu einem mehr oder weniger ausgeprägten Links-rechts-Shunt. Ein nicht verschlossener ASD kann im Laufe der Jahre Komplikationen wie Herzrhythmusstörungen, eine pulmonale Hypertonie, eine rechtsventrikuläre Volumenüberlastung und in späteren Lebensdekaden paradoxe Embolien hervorrufen (38,40).

Die Therapie ist abhängig von der Lokalisation und Größe des Defekts. Angestrebt wird der interventionelle Verschluss mittels Katheter. Ist der Defekt zu groß oder die Lage ungünstig, muss der Defekt operativ verschlossen werden (41).

1.3.3.4 B-4: Ventrikelseptumdefekt (VSD)

Der VSD stellt mit einer Häufigkeit von 40% aller angeborenen Herzfehler eine der häufigsten kardialen Anomalien dar. Bei dieser Herzerkrankung liegt ein Defekt des interventrikulären Septums vor. Dieser Defekt kann nicht nur isoliert auftreten, sondern auch mit anderen Malformationen wie zum Beispiel der Fallot-Tetralogie oder der Transposition der großen Gefäße assoziiert sein (29,42,43).

Mehrere Faktoren können für die Folgen des VSDs ausschlaggebend sein. Die Menge des interventrikulären Blutflusses wird einerseits durch die Größe des VSDs bestimmt, andererseits auch durch den relativen Widerstand des pulmonalen und systemischen Gefäßbettes. Größere Defekte bedingen ein größeres Shuntvolumen und damit eine größere Volumsbelastung des Herzens. Solange noch kein pulmonaler Hochdruck existiert, besteht die Shuntrichtung, aufgrund des Druckunterschiedes zwischen den beiden Ventrikeln, von links nach rechts (Links-rechts-Shunt). Der Links-rechts-Shunt kann vor allem bei Babies, auch mit großen Septumdefekten, sehr gering ausfallen, da in der Neonatalperiode der pulmonale Gefäßwiderstand noch sehr hoch ist. Mit der

Abnahme dieses Widerstandes kann sich der Blutfluss massiv erhöhen und die Kinder können symptomatisch werden (42,43).

Wird der Defekt nicht verschlossen, resultiert aus der langfristigen Volumsbelastung durch den Links-rechts-Shunt eine strukturelle Veränderung der Lungengefäße mit einer Zunahme des pulmonalen Gefäßwiderstandes. Durch die Änderung der Druckverhältnisse, mit einem Anstieg des pulmonalen Gefäßwiderstandes über den Gefäßwiderstand des Körperkreislaufs, kommt es zur sogenannten Shuntumkehr mit einem nunmehrigen Fluss von rechts nach links (**Eisenmenger-Reaktion**). Der erhöhte Pulmonalarteriendruck ist irreversibel und führt zu einer Entsättigung, Zyanose und sekundären Erythrozytose (42,44).

2 Material und Methoden

2.1 PatientInnenrekrutierung

Kinder und Jugendliche sowie Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern werden an der Klinischen Abteilung für pädiatrische Kardiologie der Medizinischen Universität Graz in regelmäßigen Abständen routinemäßig kontrolliert. Im Rahmen dieser Kontrolluntersuchungen werden auch serologische Parameter gemessen. Wenn die Einschluss- und Ausschlusskriterien für diese Studie (s.u.) erfüllt waren, wurde nach erfolgter Blutbildmessung in der Routine das restliche EDTA-Blut von MitarbeiterInnen des Klinischen Institutes für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Medizinischen Universität Graz zentrifugiert und anschließend das EDTA-Plasma eingefroren. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde das GS-Profil dieser PatientInnenproben mittels Massenspektrometrie (s.u.) analysiert. Ein gültiger Ethikkommissionsbescheid lag vor. Die Blutproben für diese Diplomarbeit wurden im Zeitraum von Oktober 2012 bis Mai 2013 gewonnen.

Einschlusskriterien:

- Vorliegen eines angeborenen Herzfehlers bei Kindern und Jugendlichen von Geburt bis zum 19. Lebensjahr
- Vorliegen eines angeborenen Herzfehlers bei Erwachsenen, die in der Ambulanz für „Erwachsene mit angeborenen Herzfehlern“ an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz betreut werden
- Eindeutig zuordenbares Herzvitium

Ausschlusskriterien:

- Rezente Operation
- Nicht-kardiale Grunderkrankung
- Komplexer Herzfehler, sodass keine Gruppenzuordnung möglich war
- Vorliegen einer primären Lebererkrankung

- Akute kardiale Verschlechterung

2.2 GS-Messungen

Die Messungen der Proben erfolgten in Zusammenarbeit mit dem Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik. Aus dem EDTA-Plasma wurden die Gesamt-GS-Konzentrationen und das GS-Profil (ungebundene und gebundene GS) bestimmt. Insgesamt wurden fünf verschiedene GS untersucht: einerseits als freie GS (Tabelle 1), andererseits als Taurin-Konjugate (Tabelle 2) beziehungsweise als Glycin-Konjugate (Tabelle 3).

Tabelle 1: Freie GS

UDC	Ursodeoxycholsäure
CL	Cholsäure
CDC	Chenodeoxycholsäure
DC	Deoxycholsäure
LC	Lithocholsäure

Tabelle 2: Taurin-Konjugate

TUDC	Tauroursodeoxycholsäure
TC	Taurocholsäure
TCDC	Taurochenodeoxycholsäure
TDC	Taurodeoxycholsäure
TLC	Taurolithocholsäure

Tabelle 3: Glycin-Konjugate

GUDC	Glykoursodeoxycholsäure
GC	Glykocholsäure
GCDC	Glykochenodeoxycholsäure
GDC	Glykodeoxycholsäure
GLC	Glykolithocholsäure

2.3 Methoden zur Bestimmung von GS im Serum

Die Analyse der GS stellt methodisch eine Herausforderung dar, die einerseits durch die Komplexität der GS bedingt ist, andererseits auch durch die niedrige

Konzentration im Serum. Zur Bestimmung der Einzelkomponenten des GS-Spektrums (das sogenannte „GS-Profil“) ist es notwendig, jene GS, welche idente Massen (Molekulargewicht) aufweisen, vor der Detektion chromatographisch aufzutrennen. In der Geschichte der GS-Analytik haben unterschiedliche Verfahren Anwendung gefunden, darunter zählte zum Beispiel die Gaschromatographie mit und ohne Massenspektrometrie. Letztendlich hat sich die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High performance liquid chromatography, HPLC) als „Goldstandard“ etabliert. Insbesondere die Kombination mit Massenspektrometrie als Detektor weist eine besonders hohe Sensitivität und Spezifität auf (45-49).

2.3.1 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie (MS) dient der qualitativen und quantitativen Analyse von Atomen und Molekülen. Hierbei wird eine Substanz, nach Einbringen in die Ionisierungskammer, im Vakuum durch Erhitzen verdampft und ionisiert. Danach werden die Ionen mit Hilfe eines elektrischen Feldes beschleunigt und dem Analysator zugeführt, in dem sich ein magnetisches Feld befindet. Im Analysator werden die eintretenden Ionen je nach ihrer Masse abgelenkt und schließlich in einem Spektrum detektiert (Massenspektrum) (50).

Das *Massenspektrometer* setzt sich im Wesentlichen aus 4 *Bauteilen* zusammen (50):

1. Probeneinlasssystem
2. Ionenquelle (Ionenerzeugung)
3. Massenanalysator (Ionentrennung)
4. Ionendetektor (Ionennachweis)

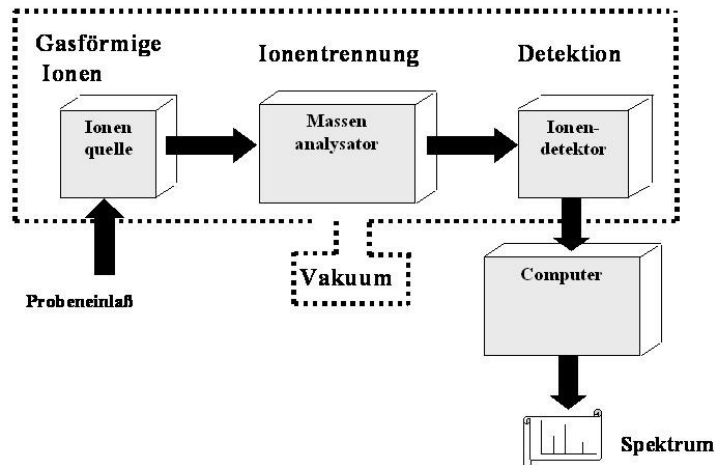


Abbildung 4: Massenspektrometrie (51)

2.3.2 High performance liquid chromatography (HPLC)

HPLC ist ein spezielles Trennverfahren, mit dem flüssige Substanzen analysiert werden können. Die zu untersuchende Substanz wird mit einem Laufmittel, welches als mobile Phase bezeichnet wird, in Verbindung gebracht. Danach wird das Substanzgemisch durch eine sogenannte Trennsäule gepresst, in der die stationäre Phase enthalten ist. In Abhängigkeit von der Wechselwirkung der Bestandteile der Substanz mit der stationären Phase verbleiben die einzelnen Substanzen unterschiedlich lange in der Trennsäule. Am Ende der Trennsäule werden die einzelnen Bestandteile von einem Detektor nachgewiesen und von einem Schreiber als Peaks auf einem Chromatogramm sichtbar gemacht (52,53).

2.3.3 HPLC-MS/MS

Bei sehr komplexen Proben, wie es auf die GS zutrifft, ist es nützlich diese mit einem vorgelegten Trennverfahren aufzutrennen, bevor man sie dem Massenspektrometer zuführt. Bei dem von uns gewählten Verfahren wird die Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) mit der Flüssigkeitschromatographie (High performance liquid chromatography, HPLC) gekoppelt. Die HPLC dient

dabei der Auftrennung der Substanzen, die Massenspektrometrie dient der Quantifizierung. Durch diese Kopplung kann sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität verbessert werden. Bei der Tandem-Massenspektrometrie werden zwei Massenspektrometer hintereinander geschaltet, wodurch die Selektivität wiederum stark erhöht wird (54-56).

2.4 Normwerte

Bisher gibt es in der Literatur kaum Normwerte bzw. Referenzbereiche von GS im Serum, die mit diesem Verfahren bestimmt worden sind. Meine Studienkollegin B. Stering hat Normwerte für GS im Rahmen ihrer Diplomarbeit „Bestimmung von Normwerten der Gallensäuren im Serum bei Kindern und Jugendlichen“ an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz bestimmt. Sie analysierte 194 infektfreie Kinder und Jugendliche ohne Grunderkrankung und stellte fest, dass die GS-Werte abhängig vom Alter sind. Die GS-Werte steigen nach Geburt kontinuierlich an und erreichen im Alter zwischen 6 und 24 Monaten die höchsten Werte. Danach sind die GS-Werte rückläufig und ab dem 11. Lebensjahr sind die Serum-GS-Werte keinen Schwankungen mehr ausgesetzt. Aus diesen statistischen Überlegungen wurden Kinder und Jugendliche in 5 Altersgruppen eingeteilt. Diese Ergebnisse (Tab. 4) dienen uns als Vergleichsparameter, um definieren zu können, ob die gemessenen Ergebnisse mit dem altersentsprechenden Vergleichskollektiv übereinstimmen oder erniedrigt bzw. erhöht sind (57,58).

Tabelle 4: „Normwerte“ der Gesamt-GS

Alter	Normwerte* ($\mu\text{mol/l}$)
0-5 Monate	3,9 - 6,3
6-24 Monate	6,6 - 9,4
3-5 Jahre	4,3 - 6,4
6-11 Jahre	3,6 - 5,1
> 11 Jahre	3,1 - 4,1

* Die angegebenen Werte entsprechen den Werten zwischen der 5. und 95. Perzentile

2.5 Datenerhebung

Zuerst wurden gemeinsam mit den betreuenden KardiologInnen der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde die PatientInnen, welche die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten, der jeweiligen Herzvitium-Gruppe zugeordnet und anonymisiert in einer „Excel“-Tabelle eingetragen. Die Tabelle wurde mit klinischen Daten der PatientInnen (Alter, Geschlecht, Symptome, rezente Erkrankungen) ergänzt, welche mit dem Krankenhausinformationssystem „Medocs“ erhoben wurden. Nach Erhalt der ausgewerteten Laborbefunde vom Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik konnte die PatientInnentabelle vervollständigt werden. Im Anschluss erfolgte die Datenanalyse. Es wurden zuerst die Gesamt-GS-Werte gruppenintern und im Vergleich zu anderen Gruppen verglichen. In den Fällen, wo PatientInnen besonders erhöhte oder erniedrigte GS-Werte aufwiesen, wurde das GS-Profil eingehend analysiert.

3 Ergebnisse – Resultate

3.1 PatientInnencharakterisierung

Insgesamt konnten 53 PatientInnen in die Studie eingeschlossen werden. Die PatientInnen wurden je nach ihrem angeborenen Herzfehler in die zutreffenden Gruppen (siehe 1.3.1.4) eingeteilt. Die Anzahl der PatientInnen mit Rechtsherzbelastung (Gruppe A; n=26) war vergleichbar mit jenen ohne Rechtsherzbelastung (Gruppe B, n=27).

Die meisten PatientInnen mit Rechtsherzbelastung (Gruppe A) hatten eine ToF (n=9) (Tab. 5). Das Alter der PatientInnen war sehr unterschiedlich, zwischen 2 Jahren und 53 Jahren, das Geschlecht war ausgeglichen. Die zweitgrößte PatientInnengruppe war jene sogenannte „andere Gruppe“ (n=8), die mehrere seltene Herzvitien zusammenfasst. Diese Herzfehler konnten laut Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossen werden, in Summe waren die PatientInnenzahlen pro Herzfehler gering, weswegen sie zu einer heterogenen Gruppe zusammengefasst wurden. Überraschend gering war die Anzahl der PatientInnen mit PA (n=5) und PH (n=4). Bei beiden Herzfehlern war die Geschlechtsverteilung ausgeglichen, aber die Altersstreuung groß.

Tabelle 5: PatientInnencharakterisierung Gruppe A

	A-1 ToF	A-2 PA	A-3 PH	A-4 Andere*
Anzahl (n=26)	9	5	4	8
Geschlecht (weibl./männl.)	4 / 5	3 / 2	2 / 2	3 / 5
Alter (Jahre)	2 - 53	9 - 39	3 - 35	4 - 37

* DORV, Hypoplastisches Linksherzsyndrom, TGA

Die meisten PatientInnen mit einem Herzfehler ohne Rechtsherzbelastung (Gruppe B) hatten einen ASD (n=14) (Tab. 6). Auffällig war, dass es sich um die einzige Gruppe mit unausgeglichener Geschlechtsverteilung handelte (w:m = 6:1). Im Gegensatz zur Gruppe A waren die PatientInnen mit Herzfehlern ohne Rechtsherzbelastung deutlich jünger, keine Patientin/kein Patient der Gruppe B war über 17 Jahre alt. Die PatientInnenzahlen mit AIST, AST und kl. VSD waren jeweils gering, jedoch war die Geschlechtsverteilung ausgeglichen.

Tabelle 6: PatientInnencharakterisierung Gruppe B

	B-1 AIST	B-2 AST	B-3 ASD	B-4 kl. VSD
Anzahl (n=27)	3	4	14	6
Geschlecht (weibl./männl.)	2 / 1	2 / 2	12 / 2	2 / 4
Alter (Jahre)	0 - 10	0 - 16	0 - 17	0 - 17

3.2 Serum-GS-Werte: Gruppe A - PatientInnen mit Rechtsherzbelastung

Im ersten Schritt der Datenanalyse wurden die Gesamt-GS-Werte der PatientInnen mit Rechtsherzbelastung (Gruppe A) ausgewertet. In Tabelle 7 sind alle Gesamt-GS-Serumwerte der Gruppe A zusammengefasst dargestellt. Bei ausgeprägten Abweichungen der Gesamt-GS-Werte in Bezug auf die Normwerte (s.o.) wurde das GS-Profil näher untersucht.

Tabelle 7: Gruppe A: Übersicht der Gesamt-GS-Serumwerte

Diagnose	Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
A-1: ToF	1	8,3	3,6 - 5,1
	2	5,6	3,1 - 4,1
	3	8,7	3,1 - 4,1
	4	4,8	3,1 - 4,1
	5	4,0	3,1 - 4,1
	6	5,5	6,6 - 9,4
	7	2,9	3,1 - 4,1
	8	2,1	3,1 - 4,1
	9	2,2	3,1 - 4,1
A-2: PA	10	9,2	3,6 - 5,1
	11	10,5	3,1 - 4,1
	12	4,4	3,1 - 4,1
	13	3,0	3,1 - 4,1
	14	3,7	3,1 - 4,1
A-3: PH	15	8,4	4,3 - 6,4
	16	3,3	3,1 - 4,1
	17	3,4	3,1 - 4,1
	18	1,4	3,1 - 4,1
A-4: Andere	19	5,2	3,6 - 5,1
	20	4,6	3,1 - 4,1
	21	6,7	3,6 - 5,1
	22	4,4	4,2 - 6,4
	23	1,4	3,6 - 5,1
	24	2,7	3,1 - 4,1
	25	1,2	3,1 - 4,1
	26	0,6	3,1 - 4,1

3.2.1 GS-Werte A-1: ToF

Die 9 gemessenen GS-Werte bei PatientInnen mit ToF zeigten ein kontroverses Bild (Tabelle 8). Jeweils 4 Proben zeigten erhöhte und erniedrigte Werte, nur ein Wert war vergleichbar mit der gesunden Vergleichspopulation.

Tabelle 8: Gesamt-GS bei ToF

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
1	8,3 ↑	3,6 - 5,1
2	5,6 ↑	3,1 - 4,1
3	8,7 ↑	3,1 - 4,1
4	4,8 (↑)	3,1 - 4,1
5	4,0	3,1 - 4,1
6	5,5 ↓	6,6 - 9,4
7	2,9 (↓)	3,1 - 4,1
8	2,1 ↓	3,1 - 4,1
9	2,2 ↓	3,1 - 4,1

Bei 3 PatientInnen waren die Gesamt-GS-Werte in Bezug auf das altersentsprechende Vergleichskollektiv erhöht und bei 2 PatientInnen erniedrigt. 3 PatientInnen hatten grenzwertige Befunde. Da es altersabhängig verschiedene Normbereiche gibt (siehe 2.4), kann es wie zum Beispiel bei Patient 6 vorkommen, dass ein Wert primär hoch erscheint, jedoch im Vergleich zu Gleichaltrigen erniedrigt ist. Wenn man einen Mittelwert aller ToF-PatientInnen über 11 Jahren berechnet, ergibt sich mit 4,3 $\mu\text{mol/l}$ ein leicht über der Norm liegender Wert.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass es 2 Gruppen von ToF-PatientInnen gibt: jene mit erhöhten GS-Werten und jene mit erniedrigten. Um die Gruppen besser charakterisieren zu können, werteten wir die einzelnen GS aus. Die Werte von Taurin-konjugierten GS und dekonjugierten GS zeigten keine auffälligen Veränderungen (Daten nicht gezeigt). Bei den Glycin-konjugierten GS konnte man trendmäßige Verschiebungen erkennen (Tab. 9).

Tabelle 9: Glycin-konjugierte GS bei ToF

Pat.	GCDC	GC	GDC	GUDC	GLC
1	4,2↑	2,6 ↑	0,3 (↓)	0,1 (↓)	0
2	2,1 ↑	0,8 ↑	0,6 ↑	0,1 (↓)	0
3	4,1 ↑	1,0 ↑	1,0 ↑	1,2 ↑	0,1
4	2,3 ↑	0,5	0	1,1 ↑	0
6	1,8 ↓	1,6	0,2	0,8 ↑	0,2 ↑
7	1,5 (↑)	0,3 (↓)	0,1 ↓	0,2 (↓)	0
8	0,8 ↓	0,3 (↓)	0,6 ↑	0	0
9	0,4 ↓	0	0,1 ↓	0,9 ↑	0,1

In Tabelle 9 sind die an Glycin konjugierten GS bei ToF bei jenen PatientInnen dargestellt, bei denen ein geänderter Gesamt-GS-Wert beobachtet wurde. GCDC und GC sind primäre, in der Leber gebildete GS. Erhöhte und teilweise erniedrigte Werte wurden etwa bei jenen PatientInnen beobachtet, die auch erhöhte Gesamt-GS-Werte im Serum zeigten. Bei den sekundären konjugierten GS GDC und GUDC, welche im Darm aus primären GS entstehen, waren die Ergebnisse nicht einheitlich, kein Trend zu erhöhten oder erniedrigten Werten war erkennbar. Eindeutig ist, dass die toxische GS GLC bei ToF nicht vermehrt auftritt.

Zusammenfassend können Gesamt-GS im Serum von ToF-PatientInnen sowohl erhöht als auch erniedrigt sein, wobei die Änderungen vor allem mit Schwankungen bei den Glycin-konjugierten primären GS-Werten korrelieren.

3.2.2 GS-Werte A-2: PA

In die Gruppe mit PA konnten 5 PatientInnen eingeschlossen werden, wovon 4 im Erwachsenenalter waren. 2 Patienten hatten erhöhte Gesamt-GS-Werte, die anderen PatientInnen hingegen hatten weitgehend unauffällige Werte (Tab. 10).

Tabelle 10: Gesamt-GS bei PA

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
10	9,2 ↑	3,6 - 5,1
11	10,5 ↑	3,1 - 4,1
12	4,4 (↑)	3,1 - 4,1
13	3,0 (↓)	3,1 - 4,1
14	3,7	3,1 - 4,1

Wir untersuchten die Zusammensetzung der Gesamt-GS im Detail bei jenen 2 Patienten, die Werte über der Norm aufwiesen (Tab. 11). Erhöht zeigte sich die unkonjugierte und die konjugierte CDC. Vor allem die GCDC war bei beiden Patienten deutlich über den Werten der VergleichspatientInnen. Die zweite gemessene primäre GS CS war unkonjugiert im Normbereich, bei den gebundenen Formen zeigte jeweils ein Patient erhöhte Werte. LC lag praktisch in allen Formen nicht vor. UDC ist kaum im Serum zu finden, nur geringe Mengen an Glycin-gebundenen Formen sind zu detektieren. UDC ist die wichtigste GS beim Bären und lässt sich beim Menschen generell nur in kleinen Mengen nachweisen, sofern keine Substitution mit UDC-Produkten erfolgt.

Tabelle 11: GS-Fractionen bei PA

Pat.	TUDC	TC	TCDC	TDC	TLC	GCDC	GC	GDC	GUDC	GLC	UDC	CL	CDC	DC	LC
10	0	0,1	0,5 (↑)	0,1 (↓)	0	2,9 ↑	0,9	0,2 ↓	0,2	0,1	0	0,8 ↑	3,2 ↑	0,1 (↓)	0
11	0	0,1	1,4 ↑	0	0	6,4 ↑	1,5 ↑	0,3	0,4 ↑	0	0	0,1 (↓)	0,3	0	0

3.2.3 GS-Werte A-3: PH

In die Gruppe mit PH haben wir 4 PatientInnen eingeschlossen, wobei eine Patientin erhöhte und eine Patientin erniedrigte Werte aufwies (Tab. 12). Im GS-Profil fiel auf, dass bei der Patientin mit erhöhten Werten die konjugierten primären GS (TCDC, TC, GCDC und GC) erhöht waren, die unkonjugierten GS zeigten sich vergleichbar mit jenen der Vergleichspopulation (Daten nicht gezeigt). Bei jener

Patientin mit erniedrigten Werten waren vor allem die Glycin-konjugierten und die unkonjugierten GS erniedrigt (Daten nicht gezeigt).

Tabelle 12: Gesamt-GS bei PH

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
15	8,4 ↑	4,3 - 6,4
16	3,3	3,1 - 4,1
17	3,4	3,1 - 4,1
18	1,4 ↓	3,1 - 4,1

3.2.4 GS-Werte A-4: Andere

Zu den hier zusammengefassten angeborenen Herzfehlern zählen DORV, Hypoplastisches Linksherzsyndrom und TGA. Nur ein Patient mit Hypoplastischem Linksherzsyndrom zeigte erhöhte GS-Werte und einer erniedrigte, die anderen 6 PatientInnen zeigten nur geringe oder keine Abweichungen (Tab. 13). Auf die Abbildung der GS-Profile wurde aufgrund der Heterogenität der Grunderkrankungen und aufgrund der nur geringen Abweichungen verzichtet.

Tabelle 13: Gesamt-GS bei DORV, Hypoplastischem Linksherzsyndrom und TGA

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
19	5,2 (↑)	3,6 - 5,1
20	4,6 (↑)	3,1 - 4,1
21	6,7 ↑	3,6 - 5,1
22	4,4	4,2 - 6,4
23	1,4 ↓	3,6 - 5,1
24	2,7 (↓)	3,1 - 4,1
25	1,2 ↓	3,1 - 4,1
26	0,6 ↓	3,1 - 4,1

3.3 Serum-GS-Werte: Gruppe B - PatientInnen ohne Rechtsherzbelastung

Im zweiten Schritt der Datenanalyse wurden die Gesamt-GS-Werte der PatientInnen ohne Rechtsherzbelastung (Gruppe B) ausgewertet (Tab. 14).

Tabelle 14: Gruppe B: Übersicht der Gesamt-GS-Serumwerte

Diagnose	Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
B-1: AIST	1	8,3	3,9 - 6,3
	2	6,6	3,9 - 6,3
	3	2,8	3,6 - 5,1
B-2: AST	4	7,4	3,9 - 6,3
	5	3,7	3,6 - 5,1
	6	3,2	3,1 - 4,1
	7	1,1	3,6 - 5,1
B-3: ASD	8	23,9	6,6 - 9,4
	9	16,0	3,9 - 6,3
	10	10,3	6,6 - 9,4
	11	10,7	6,6 - 9,4
	12	6,9	3,1 - 4,1
	13	14,7	6,6 - 9,4
	14	5,1	3,6 - 5,1
	15	7,7	6,6 - 9,4
	16	3,4	3,1 - 4,1
	17	7,1	6,6 - 9,4
	18	3,6	6,6 - 9,4
	19	6,2	6,6 - 9,4
	20	5,5	6,6 - 9,4
	21	1,3	3,6 - 5,1
B-4: KI. VSD	22	7,4	4,3 - 6,4
	23	9,0	3,9 - 6,3
	24	15,8	3,9 - 6,3
	25	6,9	3,6 - 5,1
	26	4,7	4,3 - 6,4
	27	1,0	3,1 - 4,1

3.3.1 GS-Werte B-1: AIST

In diese Gruppe konnten insgesamt nur 3 PatientInnen eingeschlossen werden. Eine Patientin zeigte etwas erhöhte, eine andere Patientin grenzwertige und der dritte Patient reduzierte Gesamt-GS-Werte. Im GS-Profil zeigte sich kein einheitlicher Trend, bei der ersten Patientin war der erhöhte Wert durch den Anstieg von primären GS (TC, GC, CL, GCDC, CDC) erklärbar (Daten nicht gezeigt).

Tabelle 15: Gesamt-GS bei AIST

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
1	8,3 ↑	3,9 - 6,3
2	6,6 (↑)	3,9 - 6,3
3	2,8 ↓	3,6 - 5,1

3.3.2 GS-Werte B-2: AST

In die Gruppe der PatientInnen mit AST konnten 4 PatientInnen eingeschlossen werden, wobei ein Patient gering erhöhte, eine Patientin erniedrigte und 2 PatientInnen unauffällige Serum-GS-Werte aufwiesen (Tab. 16). Interessant war das GS-Profil bei der Patientin mit erniedrigten Werten, welches durch Fehlen von Taurin-konjugierten GS auffiel (Daten nicht gezeigt).

Tabelle 16: Gesamt-GS bei AST

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
4	7,4 ↑	3,9 - 6,3
5	3,7	3,6 - 5,1
6	3,2	3,1 - 4,1
7	1,1 ↓	3,6 - 5,1

3.3.3 GS-Werte B-3: ASD

Die Gruppe der ASD-PatientInnen bildete die größte Gruppe dieser Studie. Von den 14 StudienteilnehmerInnen mit ASD zeigten 6 PatientInnen erhöhte Serum-GS-Werte, 4 PatientInnen hatten unauffällige Werte und 4 hatten erniedrigte Werte (Tab. 17). Patient Nr. 8 hatte mit 23,9 $\mu\text{mol/l}$ den höchsten in dieser Studie gemessenen Gesamt-GS-Wert.

Tabelle 17: Gesamt-GS bei ASD

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
8	23,9 ↑	6,6 - 9,4
9	16,0 ↑	3,9 - 6,3
10	10,3 ↑	6,6 - 9,4
11	10,7 ↑	6,6 - 9,4
12	6,9 ↑	3,1 - 4,1
13	14,7 ↑	6,6 - 9,4
14	5,1	3,6 - 5,1
15	7,7	6,6 - 9,4
16	3,4	3,1 - 4,1
17	7,1	6,6 - 9,4
18	3,6 ↓	6,6 - 9,4
19	6,2 (↓)	6,6 - 9,4
20	5,5 ↓	6,6 - 9,4
21	1,3 ↓	3,6 - 5,1

Im GS-Profil fiel bei den Taurin-konjugierten GS auf, dass vor allem die primären GS TC und TCDC bei PatientInnen mit erhöhten Gesamt-GS-Werten erhöht waren (Tab. 18). Bei PatientInnen mit verminderter Gesamt-GS-Konzentration war TCDC vermindert. TLC konnte bei den untersuchten PatientInnen nicht nachgewiesen werden. TUDC war bei 2 PatientInnen leicht erhöht.

Tabelle 18: Taurin-konjugierte GS bei ASD

Pat.	TUDC	TC	TCDC	TDC	TLC
8	0,3 ↑	0,9 ↑	4,3 ↑	0,3 ↑	0
9	0	1,9 ↑	5,3 ↑	0	0
10	0	1,1 ↑	2,9 ↑	0,1	0
11	0,3 ↑	0,5 ↑	2,2 (↑)	0	0
12	0	0,3 ↑	0,4 (↑)	0,1	0
13	0	0,9 ↑	2,8 ↑	0	0
14	0	0,1	0,2	0,1 (↓)	0
15	0	0,1	1,4	0,1	0
16	0	0,1	0,2	0	0
17	0	0,4 ↑	1,5	0	0
18	0	0	0,2 ↓	0,1	0
19	0,1	0,4 ↑	1,1 ↓	0	0
20	0	0,3	0,8 ↓	0,1	0
21	0	0	0,1	0	0

Ein ähnliches Bild zeigte sich bei den Glycin-konjugierten GS bei ASD (Tab. 19). Die primären GS GCDC und GDC waren bei den meisten PatientInnen mit erhöhten Gesamt-GS-Werten erhöht und bei den PatientInnen mit erniedrigten Gesamt-GS-Werten erniedrigt. Die sekundären GS GDC, GUDC und GLC waren prinzipiell bei allen PatientInnen unverändert.

Die unkonjugierten GS zeigten keine einheitlichen Veränderungen (Tab. 20). Bei allen PatientInnen mit ASD waren die Werte vergleichbar mit PatientInnen ohne kardiale Grunderkrankung. Auffällig war, dass 6 PatientInnen leicht erhöhte LC-Werte aufwiesen – bei den Konjugaten zeigte keine einzige Patientin/kein einziger Patient einen erhöhten TLC-Wert und auch GLC war nur bei 2 PatientInnen nachweisbar.

Tabelle 19: Glycin-konjugierte GS bei ASD

Pat.	GCDC	GC	GDC	GUDC	GLC
8	8,8 ↑	7,1 ↑	0	1,7 ↑	0
9	6,2 ↑	2,0 (↑)	0	0	0
10	3,2	2,7 ↑	0	0	0
11	5,1 ↑	1,7	0,2	0,3	0
12	1,6 ↑	2,6 ↑	0,6 ↑	0,1 (↓)	0
13	6,2 ↑	3,1 ↑	0,7 ↑	0,7 ↑	0
14	1,7	0,5 ↓	0,2 ↓	0,2 (↓)	0
15	4,2	1,2	0,2	0,3	0,1 (↑)
16	1,6 ↑	0,5	0,1 ↓	0,1 ↓	0,1 (↓)
17	3,1	1,1 (↓)	0	0,3	0
18	2,3 ↓	0,8 ↓	0	0,2	0
19	1,9 ↓	1,7	0,1	0,6 ↑	0
20	2,3 ↓	0,5 ↓	0,1	0,3	0,1
21	0,3 ↓	0,1 ↓	0,1 ↓	0	0

Tabelle 20: Unkonjugierte GS bei ASD

Pat.	UDC	CL	CDC	DC	LC
8	0,1 (↑)	0,1	0,2	0	0
9	0	0,4 ↑	0,2 ↑	0	0
10	0	0,1	0,2	0	0
11	0	0,1	0,4	0	0
12	0,3 ↑	0	0	0,7 ↑	0,3 ↑
13	0	0	0,4 (↑)	0	0
14	0,1 ↑	0,5 ↑	1,0 ↑	0,3 ↑	0,2 ↑
15	0	0	0,1	0	0
16	0	0,2	0	0,2 ↓	0,4 ↑
17	0	0	0,4 (↑)	0,1	0,2 ↑
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0,1	0,3 ↑
20	0,2 ↑	0	0,8 ↑	0	0
21	0,2 ↑	0	0,3	0,1	0,2 ↑

3.3.4 GS-Werte B-4: Kleiner VSD

Die Gruppe von PatientInnen mit kleinem VSD wurde von 6 PatientInnen gebildet. Diese Gruppe zeigte die einheitlichsten Gesamt-GS-Werte aller Gruppen. Bei 4 PatientInnen waren die Gesamt-GS-Werte erhöht, ein Patient zeigte unauffällige Werte und eine Patientin hatte erniedrigte Gesamt-GS-Werte (Tab. 21). Der Patient mit der Nummer 24 wies Gesamt-GS-Werte auf, die mehr als doppelt so hoch als unsere Normwerte waren.

Tabelle 21: Gesamt-GS bei kl. VSD

Pat.	GS gesamt ($\mu\text{mol/l}$)	Normwerte (altersabhängig; $\mu\text{mol/l}$)
22	7,4 ↑	4,3 - 6,4
23	9,0 ↑	3,9 - 6,3
24	15,8 ↑	3,9 - 6,3
25	6,9 ↑	3,6 - 5,1
26	4,7	4,3 - 6,4
27	1,0 ↓	3,1 - 4,1

Um herauszufinden, wodurch es zum Anstieg der Gesamt-GS kam, verglichen wir die einzelnen untersuchten GS. Bei den Taurin-konjugierten GS zeigte sich bei jenen 2 PatientInnen, die deutlich erhöhte Gesamt-GS-Werte aufwiesen, erhöhte TC- und TCDC-Werte (Tab. 22). Sekundäre Taurin-konjugierte GS (TUDC, TDC, TLC) waren praktisch nicht vorhanden.

Tabelle 22: Taurin-konjugierte GS bei kl. VSD

Pat.	TUDC	TC	TCDC	TDC	TLC
22	0	0,1 (↓)	0,4	0	0
23	0	1,9 ↑	2,8 ↑	0	0
24	0	3,0 ↑	4,3 ↑	0	0
25	0	0,1	0,4	0,1	0

Ein ähnliches Bild wurde bei den Glycin-konjugierten GS bei kl. VSD beobachtet. Auch da waren die primären GS erhöht (GCDC, GC) (Tab. 23).

Tabelle 23: Glycin-konjugierte GS bei kl. VSD

Pat.	GCDC	GC	GDC	GUDC	GLC
22	4,2 ↑	1,6 ↑	0	0,8 ↑	0
23	1,5 (↑)	1,3 (↓)	0	0	0
24	3,9 ↑	3,6 ↑	0	0	0
25	3,7 ↑	1,3 ↑	0,2 ↓	0,8 ↑	0

Die unkonjugierten GS waren nur gering bei jenen 2 PatientInnen erhöht, die deutlich erhöhte Gesamt-GS aufwiesen (Tab. 24). LC war – so wie GLC und TLC – bei keiner Patientin/keinem Patienten nachweisbar.

Tabelle 24: Unkonjugierte GS bei kl. VSD

Pat.	UDC	CL	CDC	DC	LC
22	0,1	0,1	0,2	0	0
23	0	0,3 ↑	1,2 ↑	0	0
24	0	0,4 ↑	0,6 ↑	0	0
25	0,1 (↑)	0	0,1 ↓	0,1 ↓	0

4 Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkung von Herzerkrankungen auf die Leber zu untersuchen. Eine verminderte Pumpfunktion des Herzens aufgrund eines angeborenen Herzfehlers kann zu einem chronischen Rückstau von Blut in die Leber führen. Die KardiologInnen der Klinischen Abteilung für pädiatrische Kardiologie der Medizinischen Universität Graz beobachteten bei der sonographischen Untersuchung der PatientInnen mit einem Herzvitium mit Rechtsherzbelastung häufig eine Leberstauung, weshalb Leberfunktionsuntersuchungen bei diesen PatientInnen durchgeführt wurden. In der Literatur wird beschrieben, dass diese PatientInnen unter einer kontinuierlichen Fibrosierung der Leber leiden und dies in einer Leberzirrhose enden kann, die auch „Cirrhose cardiaque“ genannt wird. In der serologischen Diagnostik fällt bei diesen PatientInnen meistens nicht der Anstieg der Transaminasen Aspartat-Aminotransferase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT) auf, sondern ein Anstieg von Bilirubin und eine Verkürzung der Prothrombinzeit (1).

Über Änderungen von GS im Serum bei PatientInnen mit einem angeborenen Herzvitium gibt es bisher keine Literatur. Zuletzt wurden einige Artikel über den Einsatz von GS-Produkten bei erworbenen chronischen Herzerkrankungen publiziert. Von Haehling et al. therapierten PatientInnen mit koronarer Herzerkrankung oder dilatativer Kardiomyopathie mit UDCA und sahen, dass sich der periphere Blutfluss verbesserte und dass sich die Leberparameter normalisierten. Die Erklärung der Autoren für den positiven Effekt war die antiinflammatorische und zellprotektive Wirkung von UDCA (5). Neueste Publikationen belegen, dass einige GS Herzrhythmusstörungen auslösen können und UDCA im Gegensatz dazu eher kardioprotektiv wirkt (59). Unsere Idee war, dass sich durch eine chronische Leberstauung die Serumkonzentration von GS verändert und dass sich eventuell das Verhältnis zwischen kardioprotektiven und arrhythmogenen GS ändern könnte. Da eine Leberstauung eher bei PatientInnen mit angeborener Herzerkrankung und Rechtsherzbelastung gesehen wird und nicht bei jenen ohne Rechtsherzbelastung, teilten wir die PatientInnen in diese 2

Gruppen ein. Wir erwarteten uns in der ersten Gruppe deutliche Veränderungen der GS-Werte und in der zweiten Gruppe eher geringere.

Es wurden unterschiedlich hohe Gesamt-GS-Werte in allen Gruppen dieser Studie beobachtet. Eine Zerteilung der Gruppen in jene PatientInnen mit erhöhten und in jene mit erniedrigten Gesamt-GS-Werten war bei ToF und ASD möglich. Eine Gemeinsamkeit der PatientInnen oder einen gemeinsamen Grund für die Zerteilung konnte bei beiden Herzvitien nicht beobachtet werden, obwohl mehrere Parameter wie Geschlecht, Alter, Medikamentenanamnese, Operationsanamnese, Lebensstil oder Komorbiditäten verglichen wurden (Daten nicht gezeigt). Beim ASD wurden die höchsten Gesamt-GS-Werte gemessen, der Maximalwert war bei einem Patienten 23 $\mu\text{mol/l}$. Unsere Hypothese, dass die Rechtsherzbelastung ein entscheidender Faktor für Änderungen des GS-Stoffwechsels sein könnte, konnte somit mit unseren Daten nicht bestätigt werden. Der Mechanismus, der zu GS-Änderungen im Serum bei PatientInnen mit angeborenen Herzfehlern führt, ist derzeit nicht bekannt. Interessant ist, dass vor allem die Konzentrationen der primären konjugierten GS im Serum verändert sind. Dies lässt darauf schließen, dass bei den jeweiligen PatientInnen in der Leber eine bisher unbekannte Änderung vorliegt und dass der Darm eher eine geringere Rolle hat.

Verglichen mit primär lebererkrankten PatientInnen sind die bei unserem PatientInnenkollektiv erhobenen GS moderat erhöht. Die Erfahrung aus der Grazer pädiatrischen Leberambulanz zeigt, dass Kinder mit Gallengangsverengungen wie bei der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC) Werte über 100 $\mu\text{mol/l}$ haben können. Ein Patient aus der Leberambulanz mit PFIC2 (Progressiver familiärer intrahepatischer Cholestase) wies einen GS-Wert von 463 $\mu\text{mol/l}$ auf, was aber größtenteils durch die Therapie mit UDC erklärbar war. Derzeit kann die Bedeutung der veränderten GS-Werte im Serum bei angeborenen Herzfehlern nicht ausreichend interpretiert werden.

Die Durchführung von Studien bei PatientInnen mit angeborenen Herzfehlern ist komplex. Es können eine Vielzahl von unterschiedlichen Herzvitien beobachtet werden, die meistens eine niedrige Inzidenz haben. Viele PatientInnen haben eine

lange Krankheitsanamnese mit unterschiedlichen Korrekturoperationen. Häufig sind die Operationserfolge und die kardialen Restproblematiken innerhalb einer Herzvitium-Gruppe unterschiedlich. Viele PatientInnen nehmen regelmäßig Medikamente ein, wodurch Detoxifikationsprozesse und somit auch der GS-Stoffwechsel beeinflusst werden können. Aufgrund dieser Vielzahl von Faktoren war das Ziel dieser Studie, einen Überblick über Änderungen der GS-Spiegel bei den verschiedenen Herzerkrankungen zu erhalten. Für die nachfolgenden Projekte ist geplant, speziell auf einzelne PatientInnengruppen mit angeborenen Herzfehlern einzugehen (ToF, ASD und kl. VSD). Es sollen nicht nur die PatientInnenzahlen erhöht werden, sondern auch die Anamneseerhebung ausgedehnt werden und Korrelationen mit sonographisch messbaren Herzparametern oder mit dem Vorliegen von Herzrhythmusstörungen erfolgen.

Zusammenfassend konnten wir mit dieser Studie zeigen, dass der GS-Stoffwechsel bei PatientInnen mit angeborenen Herzerkrankungen beeinflusst wird. Die untersuchten PatientInnen zeigten teilweise erhöhte oder erniedrigte Gesamt-GS-Werte im Vergleich zum altersentsprechenden, herzgesunden Bevölkerungskollektiv. Nachfolgende Studien werden die Ursachen und die Änderungsmuster näher untersuchen. Diese Untersuchungen werden die Grundlagen für die Fragestellung sein, ob und bei welchen PatientInnen die Substitution der GS notwendig sein wird. In Zukunft wird es mehrere GS-Präparate *per se* geben, aber auch spezielle Agonisten für den GS-Kernrezeptor FXR, wodurch der Stoffwechsel der GS deutlich beeinflusst werden kann.

5 Literaturverzeichnis

- (1) Asrani SK, Asrani NS, Freese DK, Phillips SD, Warnes CA, Heimbach J, et al. Congenital heart disease and the liver. *Hepatology* 2012 Sep;56(3):1160-1169.
- (2) Kullak-Ublick GA, Stieger B, Meier PJ. Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease. *Gastroenterology* 2004 Jan;126(1):322-342.
- (3) Hofmann AF. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. *Arch Intern Med* 1999 Dec 13-27;159(22):2647-2658.
- (4) Chiang JY. Bile acids: regulation of synthesis. *J Lipid Res* 2009 Oct;50(10):1955-1966.
- (5) von Haehling S, Schefold JC, Jankowska EA, Springer J, Vazir A, Kalra PR, et al. Ursodeoxycholic acid in patients with chronic heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled, crossover trial. *J Am Coll Cardiol* 2012 Feb 7;59(6):585-592.
- (6) Russell DW. Fifty years of advances in bile acid synthesis and metabolism. *J Lipid Res* 2009 Apr;50 Suppl:S120-5.
- (7) Kir S, Zhang Y, Gerard RD, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptors HNF4alpha and LRH-1 cooperate in regulating Cyp7a1 in vivo. *J Biol Chem* 2012 Nov 30;287(49):41334-41341.
- (8) Hofmann AF, Hagey LR. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. *Cell Mol Life Sci* 2008 Aug;65(16):2461-2483.
- (9) Kok T, Hulzebos CV, Wolters H, Havinga R, Agellon LB, Stellaard F, et al. Enterohepatic circulation of bile salts in farnesoid X receptor-deficient mice: efficient intestinal bile salt absorption in the absence of ileal bile acid-binding protein. *J Biol Chem* 2003 Oct 24;278(43):41930-41937.
- (10) Monte MJ, Marin JJ, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology. *World J Gastroenterol* 2009 Feb 21;15(7):804-816.
- (11) Trauner M, Boyer JL. Bile salt transporters: molecular characterization, function, and regulation. *Physiol Rev* 2003 Apr;83(2):633-671.
- (12) Hoffman JI, Kaplan S. The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol* 2002 Jun 19;39(12):1890-1900.
- (13) Fahed AC, Gelb BD, Seidman JG, Seidman CE. Genetics of congenital heart disease: the glass half empty. *Circ Res* 2013 Feb 15;112(4):707-720.
- (14) Sadler TW. *Medizinische Embryologie: Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen*. 10., korrigierte Auflage. Stuttgart: Thieme; 2003.
- (15) Fritsch H, Kühnel W. *Taschenatlas Anatomie. Bd. 2. Innere Organe*. 9., überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart: Thieme; 2005.

- (16) Bogin B, Varela-Silva MI. Leg length, body proportion, and health: a review with a note on beauty. *Int J Environ Res Public Health* 2010 Mar;7(3):1047-1075.
- (17) Park YA, Kim NK, Park SJ, Yun BS, Choi JY, Sul JH. Clinical outcome of transcatheter closure of patent ductus arteriosus in small children weighing 10 kg or less. *Korean J Pediatr* 2010 Dec;53(12):1012-1017.
- (18) Schneider DJ, Moore JW. Patent ductus arteriosus. *Circulation* 2006 Oct 24;114(17):1873-1882.
- (19) Le Gloan L, Mongeon FP, Mercier LA, Dore A, Marcotte F, Ibrahim R, et al. Tetralogy of Fallot and aortic root disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2013 Feb;11(2):233-238.
- (20) Monaco M, Williams I. Tetralogy of Fallot: fetal diagnosis to surgical correction. *Minerva Pediatr* 2012 Oct;64(5):461-470.
- (21) Apitz C, Webb GD, Redington AN. Tetralogy of Fallot. *Lancet* 2009 Oct 24;374(9699):1462-1471.
- (22) Bailliard F, Anderson RH. Tetralogy of Fallot. *Orphanet J Rare Dis* 2009 Jan 13;4:2-1172-4-2.
- (23) Fox D, Devendra GP, Hart SA, Krasuski RA. When 'blue babies' grow up: What you need to know about tetralogy of Fallot. *Cleve Clin J Med* 2010 Nov;77(11):821-828.
- (24) Hasan BS, Bautista-Hernandez V, McElhinney DB, Salvin J, Laussen PC, Prakash A, et al. Outcomes of transcatheter approach for initial treatment of pulmonary atresia with intact ventricular septum. *Catheter Cardiovasc Interv* 2013 Jan 1;81(1):111-118.
- (25) Joshi SV, Brawn WJ, Mee RB. Pulmonary atresia with intact ventricular septum. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986 Feb;91(2):192-199.
- (26) Schmid C, Asfour B. Leitfaden Kinderherzchirurgie. 2., überarbeitete Auflage. Steinkopff; 2009.
- (27) Najm HK, Williams WG, Coles JG, Rebeyka IM, Freedom RM. Pulmonary atresia with intact ventricular septum: results of the Fontan procedure. *Ann Thorac Surg* 1997 Mar;63(3):669-675.
- (28) Mayatepek E. Pädiatrie. 1. Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2007.
- (29) Kerbl R, Kurz R, Roos R, Wessel L. Checkliste Pädiatrie. 4. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2011.
- (30) Schumacher G, Hess J, Bühlmeier K. Klinische Kinderkardiologie: Diagnostik und Therapie der angeborenen Herzfehler. 4. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer; 2008.
- (31) Warnes CA. Transposition of the great arteries. *Circulation* 2006 Dec 12;114(24):2699-2709.

- (32) Martins P, Castela E. Transposition of the great arteries. *Orphanet J Rare Dis* 2008 Oct 13;3:27-1172-3-27.
- (33) Clark JB, Pauliks LB, Rogerson A, Kunselman AR, Myers JL. The Ross operation in children and young adults: a fifteen-year, single-institution experience. *Ann Thorac Surg* 2011 Jun;91(6):1936-41; discussion 1941-2.
- (34) Fang ZF, Tang L, Zhou SH. Ischemic stroke caused by paradoxical embolism after an unsuccessful transcatheter atrial septal defect closure procedure: a word of caution. *Pediatr Cardiol* 2012 Feb;33(2):366-369.
- (35) Vereczkey A, Kosa Z, Csaky-Szunyogh M, Urban R, Czeizel AE. Birth outcomes of cases with isolated atrial septal defect type II - a population-based case-control study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2012 Dec 5.
- (36) Agarwal V, Aggarwal SK, Voleti CD. Factors predicting the progress of mitral valve disease in surgically treated adults with ostium primum atrial septal defects. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009 Mar;137(3):543-547.
- (37) Fernandez RS, Diaz CM, Garcia ER, Calvo AM, Pan AR, Reboredo AR, et al. Atrial abnormalities: spectrum on MRI. *AJR Am J Roentgenol* 2011 Oct;197(4):W635-42.
- (38) Rojas CA, El-Sherief A, Medina HM, Chung JH, Choy G, Ghoshhajra BB, et al. Embryology and developmental defects of the interatrial septum. *AJR Am J Roentgenol* 2010 Nov;195(5):1100-1104.
- (39) Gervasi L, Basu S. Atrial septal defect devices used in the cardiac catheterization laboratory. *Prog Cardiovasc Nurs* 2009 Sep;24(3):86-89.
- (40) Vijarnsorn C, Durongpisitkul K, Chanthong P, Chungsomprasong P, Soongswang J, Loahaprasitiporn D, et al. Transcatheter closure of atrial septal defects in children, middle-aged adults, and older adults: failure rates, early complications; and balloon sizing effects. *Cardiol Res Pract* 2012;2012:584236.
- (41) van den Bosch AE, Ten Harkel DJ, McGhie JS, Roos-Hesselink JW, Simoons ML, Bogers AJ, et al. Characterization of atrial septal defect assessed by real-time 3-dimensional echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2006 Jun;19(6):815-821.
- (42) Minette MS, Sahn DJ. Ventricular septal defects. *Circulation* 2006 Nov 14;114(20):2190-2197.
- (43) Penny DJ, Vick GW,3rd. Ventricular septal defect. *Lancet* 2011 Mar 26;377(9771):1103-1112.
- (44) Huang JB, Liang J, Zhou LY. Eisenmenger syndrome: not always inoperable. *Respir Care* 2012 Sep;57(9):1488-1495.
- (45) Griffiths WJ, Sjovall J. Bile acids: analysis in biological fluids and tissues. *J Lipid Res* 2010 Jan;51(1):23-41.

- (46) Neumann S, Böcker S. Computational mass spectrometry for metabolomics: identification of metabolites and small molecules. *Anal Bioanal Chem* 2010 Dec;398(7-8):2779-2788.
- (47) Nikolin B, Imamovic B, Medanhodzic-Vuk S, Sober M. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses. *Bosn J Basic Med Sci* 2004 May;4(2):5-9.
- (48) Roda A, Piazza F, Baraldini M. Separation techniques for bile salts analysis. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998 Oct 9;717(1-2):263-278.
- (49) Scalia S. Bile acid separation. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1995 Sep 15;671(1-2):299-317.
- (50) Budzikiewicz H, Schäfer M. *Massenspektrometrie - Eine Einführung*. 5. Auflage. Weinheim: Wiley-VCH; 2005.
- (51) <http://www.umm.uni-heidelberg.de/inst/ikc/proteomics/>.
- (52) Lindsay S. *Analytical Chemistry by Open Learning: High Performance Liquid Chromatography*. 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons; 1992.
- (53) Prichard E, Stuart B. *Practical Laboratory Skills Training Guide: High Performance Liquid Chromatography*. 1st ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2003.
- (54) O'Mahony J, Clarke L, Whelan M, O'Kennedy R, Lehotay SJ, Danaher M. The use of ultra-high pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection in the analysis of agrochemical residues and mycotoxins in food - challenges and applications. *J Chromatogr A* 2013 May 31;1292:83-95.
- (55) Abdel-Khalik J, Bjorklund E, Hansen M. Simultaneous determination of endogenous steroid hormones in human and animal plasma and serum by liquid or gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2013 Jun 1;928:58-77.
- (56) Motilva MJ, Serra A, Macia A. Analysis of food polyphenols by ultra high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: an overview. *J Chromatogr A* 2013 May 31;1292:66-82.
- (57) Polkowska G, Polkowski W, Kudlicka A, Wallner G, Chrzastek-Spruch H. Range of serum bile acid concentrations in neonates, infants, older children, and in adults. *Med Sci Monit* 2001 May;7 Suppl 1:268-270.
- (58) Stering B, et al. Bestimmung von Normwerten der Gallensäuren im Serum bei Kindern und Jugendlichen. Graz: Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde; 2013.
- (59) Rainer PP, Primessnig U, Harenkamp S, Doleschal B, Wallner M, Fauler G, et al. Bile acids induce arrhythmias in human atrial myocardium--implications for altered serum bile acid composition in patients with atrial fibrillation. *Heart* 2013 Jul 26.

Anhang - Projektplan

- Jänner 2013 Kontaktaufnahme mit Betreuer
Erstgespräch und Themenauswahl
Wöchentliche Besprechung mit Betreuer (01-09.2013)

- Februar 2013 Beginn mit Literatursuche
Gespräche mit MitarbeiterInnen des Labors
Erstellung eines Studienprotokolls
Detailplanung der Ablaufprozesse
Einschluss der ersten PatientInnen (Ambulanz, Station)
Erstellung einer Excel-Tabelle
Beginn mit „Einleitung“ der Diplomarbeit

- März 2013 Erhalt der ersten GS-Werte
Auswertung der Daten, erste Trends

- April 2013 Beginn mit Tabellengestaltung
Verfassen von „Material und Methoden“ der Diplomarbeit

- Mai 2013 Erhalt des 2. und 3. Teiles der Daten
Ergänzung der Tabellen
Beginn mit „Ergebnissen“ der Diplomarbeit

- Juni 2013 Erhalt der Normwerte von Kollegin
Vergleich der Daten anhand der Normwerte

- 20. Juni 2013 Präsentation der Diplomarbeit im Rahmen der „Mariatroster
Forschungsklausurtagung 2013“ (15min öffentlicher Vortrag)

- Juni-September Verfassen der restlichen Teile der Diplomarbeit

- September 2013 Fertigstellung und Einreichen der Diplomarbeit