

Diplomarbeit

**Bestimmung von Gallensäurewerten im Serum bei
Frühgeborenen**

eingereicht von

Annemarie Saringer

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde
(Dr.ⁱⁿ med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Universitätsklinik für Kinder und Jugendheilkunde Graz

unter der Anleitung von

**OA Dr. Jörg Jahnel
Univ.-Prof. Dr. Bernhard Resch**

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, am 14. April 2015

Annemarie Saringer eh

DANKSAGUNG

Zuallererst möchte ich mich bei Hr. OA Dr. Jörg Jahnel für die gute und vor allem geduldige Betreuung meiner Diplomarbeit bedanken. *Durch Sie wurde diese Arbeit erst möglich und Ihre Begeisterung motivierte mich, mich tiefer mit diesem Thema zu beschäftigen und ein reges Interesse daran zu entwickeln.*

Ein großes Dankeschön gebührt Univ.-Prof. Bernhard Resch und seine Bereitschaft, diese Arbeit mit zu betreuen. *Ihre bereitwillig Unterstützung in schweren Zeiten und Ihr Wissen um die Besonderheiten - aber auch Eigenheiten - der Neonatologie hat diese Diplomarbeit ungemein bereichert.*

Ebenso ergeht mein Dank an Hr. PD Dr. Günter Fauler und dem gesamten Team des klinischen Instituts für Medizinische und Chemische Labordiagnostik für die Messungen der Gallensäuren. *Ohne Ihr Engagement hätte ein wesentlicher (wenn nicht sogar der Wesentlichste) Grundbaustein dieser Arbeit gefehlt.*

Vielen Dank an MSc. Evelyn Zöhrer für die Hilfsbereitschaft und schnellen Korrekturen. *Deine Anregungen und das gute Feedback spornten mich an, mich ständig zu verbessern.*

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern Roland und Silvana. *Kein Wort kann beschreiben, wie sehr ich euch schätze. Ihr seid der Grund, warum es mich gibt und durch eure Großzügigkeit und eurer Vertrauen konnte ich dies alles erst erreichen.*

Meinem Ehemann Christian möchte ich aus tiefstem Herzen für seine Unterstützung und seine Liebe seit nun zehn Jahren danken. *Vielen Dank, dass du diesen Weg mit mir gemeinsam gehst, dass du mir auch in schweren Zeiten Halt gibst, und dass ich mich zu jeder Zeit darauf verlassen kann, dich an meiner Seite zu wissen.*

Meiner Familie danke ich für die vielen unterstützenden Worte und die tatkräftige Hilfe. *Ich schätze mich sehr glücklich, Teil einer so wunderbaren Familie zu sein.*

Meinen Freunden möchte ich für die vielen anregenden Gespräche und gemeinsamen Stunden meinen Dank aussprechen. *Dank euch wurde diese Zeit zu einem unvergesslichen Erlebnis und ich bin froh, euch getroffen zu haben, da ihr mein Leben auf so besondere und schöne Weise bereichert.*

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund: Frühgeborene nehmen in der Pädiatrie aufgrund ihrer Unreife eine Sonderstellung ein und ihre Stoffwechselprozesse sind nicht mit Reifgeborenen oder Erwachsenen vergleichbar. Über ihren Gallensäuren-Metabolismus ist wenig bekannt. Ziel dieser Arbeit ist es, mittels Bestimmung von Gallensäuren im Serum mehr Kenntnisse über die Zusammensetzung der Gallensäuren bei Frühgeborenen zu erfahren.

Methodik: Es wurden 79 Frühgeborene (Gestationsalter bis 36 + 6 Schwangerschaftswochen) hinsichtlich ihrer Gallensäurekonzentration im Serum in der ersten Lebenswoche untersucht. Restblut von Routineblutabnahmen wurde mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie und der Tandem-Massenspektrometrie untersucht und die Gallensäuren-Konzentrationen von unkonjugierten und Taurin- bzw. Glycin-konjugierten Gallensäuren ermittelt. Die Frühgeborenen wurden in Gruppen nach Gestationsalter, Geburtsgewicht und nach dem Zeitpunkt der Blutabnahme eingeteilt und ihre Werte mit denen einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.

Ergebnisse: Die Untersuchungen ergeben signifikant höhere Gesamt-Gallensäure-Werte bei Frühgeborenen mit einem Wert von 12,7 $\mu\text{mol/L}$ gegenüber der Kontrollgruppe mit einem Wert von 5,3 $\mu\text{mol/L}$ (p-Wert: 0,01). Die Konzentrationen sind bis zu einem Gestationsalter von 34 SSW bzw. bis zu einem Geburtsgewicht von 2500 g signifikant höher gegenüber der Kontrollgruppe. Ab der 35. SSW bzw. einem Geburtsgewicht von über 2500 g besteht keine statistische Signifikanz mehr. Bei höherem Gestationsalter bzw. höherem Geburtsgewicht kommt es zu einem mehr oder weniger kontinuierlichen Abfall der GS-Konzentrationen. Die Produktion an Gallensäuren steigt in der ersten Lebenswoche vor allem am dritten bis siebten Lebenstag rasant an. Ab dem zweiten Lebenstag besteht auch ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe. Hinsichtlich ihrer Zusammensetzung überwiegen bei Frühgeborenen primäre, konjugierte Gallensäuren-Formen mit einer deutlichen zeitlichen Zunahme der Taurin-Komponente gegenüber der Glycin-Komponente. Die Taurin-konjugierten GS weisen bis zur 34. SSW bzw. bis zu 2500 g einen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe auf; dieser signifikante Unterschied besteht auch ab dem 2. Lebenstag. Die Glycin-konjugierten GS sind nur am 3. - 7.

Lebenstag signifikant höher gegenüber der Kontrollgruppe. Unkonjugierte Gallensäuren, sowie sekundäre konjugierte Formen sind nur minimal nachweisbar und liefern keine signifikanten Ergebnisse.

Schlussfolgerungen: Gallensäuren-Konzentrationen bei Frühgeborenen sind deutlich höher als bei anderen Altersgruppen der Pädiatrie und bei Erwachsenen. Die Mechanismen sind derzeit noch nicht vollständig geklärt, jedoch wird ein Zusammenhang mit der unreifen frühkindlichen Stoffwechsellage vermutet.

ABSTRACT

Background: Preterm infants hold a special position in paediatrics due to their immaturity. Their metabolism processes are not comparable to those of mature infants or adults and today only little is known about their bile acid metabolism. Therefore, the aim of this work is increase the knowledge about bile acids of preterm infants by the determination of the bile acid concentration in the serum.

Methods: Within this work, bile acid concentration was investigated in the serum of 79 patients shortly after birth. Inclusion criteria were the presence of a preterm birth (gestational age, week of pregnancy $\leq 36 + 6$) and sample collection within the first seven days of life. These samples - all residual blood of routinely drawn blood samples - were measured using high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Thus, bile acid concentration of conjugated and unconjugated bile acids (glycine and taurine) was determined. To analyze possible trends patients were classified according to their gestational age, birth weight and development within the first days of life.

Results: The investigations showed, that the overall bile acid of preterm infants, with a value of 12,7 $\mu\text{mol/L}$, is significantly increased compared to the reference group, with 5,3 $\mu\text{mol/L}$ (p-value: 0,01). The concentrations are significantly higher for infants with a gestational age of less than 34 weeks and a birth weight of less than 2500 g. From the 35th week of pregnancy and a birth weight of 2500 g on no statistic significance is detectable. At higher gestational age and birth weight a somewhat continuous decrease of the bile acid concentration is evident. The production of bile acids severely rises within the first week of life, especially between the third and the seventh day. From the second day onwards a significant difference to the reference group is visible as well. Regarding the composition preterm infants show a predominance of the conjugated bile acid forms with a clear temporarily increase of the taurine-conjugated component as compared to the glycine component. The taurine-conjugated bile acids show a significant difference to the reference group until the 34th week of pregnancy and below 2500 g, which is still persistent after the second day of life. The glycine-conjugated bile acid values are only significantly higher from the 3rd to the 7th day of life. Unconjugated bile acids, as well as

secondarily conjugated forms are only negligibly traceable and did not provide significant results.

Conclusion: Bile acid concentrations of preterm infants are considerably higher compared to other paediatric age groups and adults. Although the mechanisms are not entirely understood, a correlation between bile acid concentration and the immature metabolic condition of preterm infants can be assumed.

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	I
ABSTRACT	III
GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN	VI
ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	VIII
TABELLENVERZEICHNIS.....	X
1. EINLEITUNG	1
1.1. FRÜHGEBURT	2
1.1.1. DEFINITION.....	2
1.1.2. URSACHEN UND RISIKEN	3
1.2. GALLENSÄUREN (GS)	5
1.2.1. DEFINITION UND FUNKTION.....	5
1.2.2. PRIMÄRE GS	6
1.2.3. SEKUNDÄRE GS	8
1.2.4. GS- KONJUGATION	9
1.2.5. ZUSAMMENSETZUNG DER GESAMT-GS.....	11
1.2.6. ENTEROHEPATISCHER KREISLAUF	11
1.2.7. THERAPEUTISCHER EINSATZ VON GS	13
1.3. ARBEITSHYPOTHESE	15
2. METHODEN	17
2.1. ABNAHMEBEDINGUNGEN.....	17
2.2. EINSCHLUSSKRITERIEN	17
2.3. METHODENWAHL	18
2.3.1. DIE HOCHLEISTUNGSFLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE.....	18
2.3.2. DAS MASSENSPEKTROMETER.....	19
2.3.3. ANALYSE MITTELS HPLC UND TANDEM-MS	21
3. ERGEBNISSE	22
3.2. GS-VERTEILUNG NACH SSW.....	33
3.3. GESAMT-GS NACH GG.....	38
3.4. GS-VERTEILUNG NACH GG	46
3.5. GESAMT-GS NACH ABNAHMEZEITPUNKT.....	52
3.6. GS-VERTEILUNG NACH DEM ABNAHMEZEITPUNKT	58
4. DISKUSSION	62
LITERATURVERZEICHNIS	67
PROJEKTPLAN.....	72

GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN

ASBT	Active Sodium Bile Salt Transporter
CA	Cholsäure
CDCA	Chenodeoxycholsäure
CE	Kapillarelektrodenphorese
CYP27A1	Sterol-27 α -Hydroxylase
CYP7A1	Cholesterol-7 α -Hydroxylase
CYP7B1	Oxysterol-7 α -Hydroxylase
CYP8B1	Sterol-12 α -Hydroxylase
DCA	Deoxycholsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FXR	Farsenoid x Rezeptor
g	Gramm
GC	Gaschromatografie
GCA	Glychocholsäure
GCDCA	Glychochenodeoxycholsäure
GDCA	Glycodeoxycholsäure
GG	Geburtsgewicht
GLA	Glycolithocholsäure
GS	Gallensäuren
GUDCA	Glycoursodeoxycholsäure
HCPL	Hochleistungsflüssigkeitschromatografie
LA	Lithocholsäure
LT	Lebenstag
m/z	Masse zu Ladung
MS	Massenspektrometer
MS/MS	Tandem- Massenspektrometer
NTCP	Na ⁺ taurocholat cotransporting polypeptide
SFC	Überkritische Fluidchromatografie
SGA	Small for gestional age
SSW	Schwangerschaftswoche
TCA	Taurocholsäure

TCDCA	Taurochenodeoxycholsäure
TDCA	Taurodeoxycholsäure
TLA	Taurolithocholsäure
TLC	Dünnschichtchromatografie
TUDCA	Tauroursodeoxycholsäure
UDCA	Ursodeoxycholsäure

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Mögliche Ursachen für eine Frühgeburt	3
Abbildung 2: Auflistung verschiedener GS-Funktionen	5
Abbildung 3: Schematische Darstellung von Cholesterin und Cholsäure.....	6
Abbildung 4: Entstehung der Gallensäuren aus Cholesterin	8
Abbildung 5: Strukturformel einer sekundären GS.	9
Abbildung 6: Entstehung der verschiedenen Gallensäuren in der Leberzelle und ihr Weg im enterohepatischen Kreislauf.....	10
Abbildung 7: Darstellung des enterohepatischen Kreislaufes.....	12
Abbildung 8: Schematischer Aufbau einer Hochleistungsflüssigkeitschromatografie	19
Abbildung 9: Bild eines Massenspektrometers	20
Abbildung 10: Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers.	21
Abbildung 11: Grafische Darstellung der Summe aller gemessenen Gallensäuren-Werte nach Gestationsalter.	27
Abbildung 12: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 23. - 28. Schwangerschaftswoche	34
Abbildung 13: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 29. - 31. Schwangerschaftswoche	35
Abbildung 14: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 32. - 34. Schwangerschaftswoche	36
Abbildung 15: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 35. - 36. Schwangerschaftswoche	37
Abbildung 16: Grafische Darstellung der Summe aller gemessenen GS-Werte nach dem bei der Geburt gemessenen Gewicht.	38
Abbildung 17: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von >500 - 1000 g.....	47
Abbildung 18: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von >1000 - 1500 g.....	48
Abbildung 19: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von >1500 - 2000 g.....	49
Abbildung 20: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von >2000 - 2500 g.....	50

Abbildung 21: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von >2500 g	51
Abbildung 22: Grafische Darstellung der Summe aller gemessenen GS-Werte nach Abnahmezeitpunkt	52
Abbildung 23: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einer Gallensäuren-Bestimmung am ersten Lebenstag.....	59
Abbildung 24: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einer Gallensäuren-Bestimmung am zweiten Lebenstag	60
Abbildung 25: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einer Gallensäuren-Bestimmung am dritten bis siebenden Lebenstag.....	61

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Risikofaktoren, die die Frühgeburtlichkeit beeinflussen können.....	4
Tabelle 2: Übersicht über die 15 messbaren GS	11
Tabelle 3: Statistisch errechnete GS-Werte von den 79 Frühgeborenen und den 11 Kindern der Kontrollgruppe in $\mu\text{mol/L}$	22
Tabelle 4: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe mit 11 Kindern und der Studiengruppe mit 79 Frühgeborenen.	23
Tabelle 5: Aufteilung der 79 Frühgeborenen nach Gestationsalter und Geburtsgewicht.....	25
Tabelle 6: Aufteilung der 79 Frühgeborenen nach Gestationsalter und Zeitpunkt der Gallensäuren-Bestimmung in der ersten Lebenswoche	26
Tabelle 7: Darstellung der einzelnen Gruppen nach Gestationsalter mit Gallensäure-Mittelwerten, Standardabweichung und 95%- Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze in $\mu\text{mol/L}$	28
Tabelle 8: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen 23 - 28 und 29 - 31 Schwangerschaftswoche der Studiengruppe.....	29
Tabelle 9: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen 32 - 34 und 35 - 36 Schwangerschaftswoche der Studiengruppe.....	31
Tabelle 10: Summe der Mittelwerte der konjugierten und unkonjugierten Gallensäuren im Verhältnis zu den Gesamt-Gallensäure in $\mu\text{mol/L}$ eingeteilt nach Gestationsalter	33
Tabelle 11: Darstellung der einzelnen Gruppen nach Geburtsgewicht mit Gallensäure-Mittelwerten, Standardabweichung und 95%- Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze in $\mu\text{mol/L}$	39
Tabelle 12: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen > 500 g - 1000 g und > 1000 g - 1500 g der Studiengruppe.	40
Tabelle 13: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen > 1500 g - 2000 g und > 2000 g - 2500 g der Studiengruppe	42

Tabelle 14: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und der Gruppe > 2500 g der Studiengruppe	44
Tabelle 15: Summe der Mittelwerte der konjugierten und unkonjugierten Gallensäuren im Verhältnis zur Gesamt-Gallensäure in $\mu\text{mol/L}$ eingeteilt nach Geburtsgewicht.....	46
Tabelle 16: Darstellung der einzelnen Gruppen nach Abnahmezeitpunkt mit Gallensäure-Mittelwerten, Standardabweichung und 95%-Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze in $\mu\text{mol/L}$	53
Tabelle 17: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen 1. und 2. Lebenstag der Studiengruppe.....	54
Tabelle 18: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und der Gruppe 3. - 7. Lebenstag der Studiengruppe	56
Tabelle 19: Summe der Mittelwerte der konjugierten und unkonjugierten GS im Verhältnis zur Gesamt-Gallensäure in $\mu\text{mol/L}$ eingeteilt nach Abnahmezeitpunkt ...	58

1. EINLEITUNG

In der Medizin ist man allzeit bestrebt, zu forschen und Neues herauszufinden, um die Wunderwelt des menschlichen Körpers besser verstehen und begreifen zu können. Im Laufe der Zeit konnte so immer mehr über physiologische und pathologische Vorgänge im Menschen erkannt, Krankheiten beschrieben und behandelt, Medikamente entwickelt und verbessert werden. Mit dem Fortschritt der Technik wurden auch die Methoden zur Erlangung neuen Wissens stetig besser. Diese Arbeit soll diesen Umstand verdeutlichen.

Vor ein paar Hundert Jahren war es ein großes Glück, wenn Kinder ihre Geburt oder das erste Lebensjahr überlebten. Kam ein Kind zu früh auf die Welt war in dieser Zeit sein Weiterleben scheinbar ein Ding der Unmöglichkeit. Heutzutage ist die Medizin so weit, auch extrem unreifen Kindern ein lebenswertes Leben zu ermöglichen und nicht nur das - in unserer Zeit ermöglicht uns die Technik sogar, bei solchen Frühgeborenen unter ethisch vertretbaren Bedingungen die Physiologie, aber vor allem auch die Pathologie in einer solchen Extremsituation, wie sie eine Frühgeburt ist, zu erforschen, und somit schlussendlich die Überlebenschance dieser Kinder zu verbessern.

Dieser Arbeit beschäftigt sich mit Gallensäuren bei Frühgeborenen, da darüber noch äußerst wenig bekannt ist. Gallensäuren wurden bisher in der Kinder- und Jugendheilkunde und insbesondere in der Neonatologie aufgrund der Schwierigkeit der Probenbeschaffung eher stiefmütterlich behandelt, dabei erkennt man nun immer deutlicher ihre Wichtigkeit, da sie vielseitige Funktionen im Körper und der Verdauung übernehmen und in den letzten Jahren auch medikamentös gegen Lebererkrankungen eingesetzt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wird nun näher darauf eingegangen, in welchen Konzentrationen und in welcher Zusammensetzung Gallensäuren bei Frühgeborenen vorkommen und in welcher Form der Umstand einer Frühgeburt auf diese Einfluss nimmt. Vorweg werden zum besseren Verständnis des Themas einige allgemeine Informationen über die Frühgeburt und den Gallensäuren gegeben.

1.1. FRÜHGEBURT

2013 kamen in Österreich 79.294 Kinder zur Welt- ca. 8,2 % und somit 6.526 dieser Geburten waren Frühgeburten (1). Diese Zahl hat sich trotz steigender Vorsorge-maßnahmen und –untersuchungen nicht wesentlich geändert. Positiv zu berichten ist, dass sich die Überlebenschance in der Neonatalperiode seit den 1970er Jahren aufgrund der verbesserten Betreuung und des medizinischen Fortschrittes der Intensivmedizin von 15 bis 40 % auf 60 bis 75 % gesteigert hat (2). Frühgeburtenlichkeit hat oft schwere Komplikationen zur Folge und trägt erheblich zu perinataler Sterblichkeit bei (3).

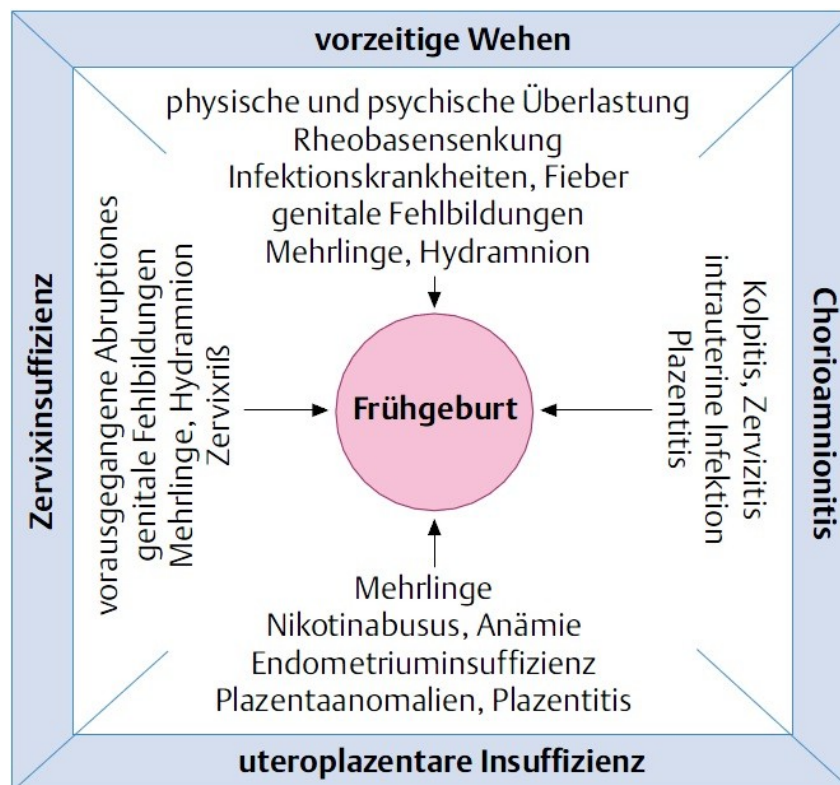
1.1.1. DEFINITION

Es gibt zwei Möglichkeiten eine Frühgeburtenlichkeit einzuteilen: In Schwangerschafts-wochen (SSW) bzw. Länge der Tragzeit oder nach dem Geburtsgewicht. Neugeborene, die vor der vollendeten 37. SSW post menstruationem (36 + 7 bzw. 37 + 0) auf die Welt kommen, gelten als frühgeboren. Diese Einteilung kann man auch auf die Länge der Tragzeit der Mutter beziehen. Somit sind Kinder mit einer Tragzeit, die kürzer ist als 259 Tage post menstruationem, als Frühgeborene zu werten. Epidemiologisch kann man sagen, dass 1% aller Schwangerschaften vor der 32. SSW beendet und ca. 5-6 % der Kinder zwischen der 32. und 36. SSW geboren werden. Neben der Einteilung nach dem Gestationsalter gibt es auch eine Einteilung nach dem Geburtsgewicht, welches vor allem eine Rolle bei der Unterscheidung zwischen der Definition Frühgeburt und Fehlgeburt spielt. Grundsätzlich sind alle lebendgeborenen Kinder, sofern sie der Definition $< 37 + 0$ SSW entsprechen, frühgeboren. Ein totgeborenes Kind mit einem Gewicht von unter 500 Gramm zählt als Fehlgeburt (4). Außerdem ist es wichtig, dass man den Begriff „small for date“ bzw. „small for gestational age“ (SGA) von dem Begriff der Frühgeburt klar abgrenzt. Ein SGA wird nur über das Gewicht definiert (unter der 10. Perzentile bzw. kleiner als zwei Standardabweichungen vom Durchschnitt). Das Gestationsalter wird in dieser Definition nicht berücksichtigt, auch wenn sehr viele zu früh geborene Kinder für ihr Alter entsprechend zu wenig Gewicht aufweisen und beide Diagnosen (Frühgeburt und SGA) gehäuft zusammen auftreten (3).

1.1.2. URSACHEN UND RISIKEN

Anlässe einer Frühgeburt sind vielfach multifaktoriell und in Einzelfällen auch gar nicht erkennbar. Man kann zwischen Ursachen, die von der Mutter ausgehen, und Ursachen, die vom Kind ausgehen, unterscheiden. Wobei man grob in vier Hauptursachen einteilen kann: Infektionen, Störungen der Plazenta, Störungen des Uterus und Pathologien des Fetus. Einen kurzen Überblick über die häufigsten Ätiologien einer Frühgeburt soll die folgende Abbildung 1 aufzeigen.

Abbildung 1: Mögliche Ursachen für eine Frühgeburt (4)



Darüber hinaus gibt es Risikofaktoren, die eine Frühgeburt begünstigen. Diese Einflüsse werden in Tabelle 1 angeführt.

Tabelle 1: Risikofaktoren, die die Frühgeburtlichkeit beeinflussen können (5)

Sozioökonomisches Risiko	Anamnestische Belastung	Schwangerschaftskomplikationen
<ul style="list-style-type: none"> • Niedrige soziale Schicht • Mütterliches Alter (<18 bzw. >35) • Multiparität • Alleinstehend • Raucherin 	<ul style="list-style-type: none"> • Vorausgegangene Frühgeburten • Vorausgegangene Totgeburten • > 2 Fehlgeburten (spontan oder artifiziell) 	<ul style="list-style-type: none"> • Aszendierende Infektion • Störungen der Plazentation und Plazentaentwicklungsstörungen • Uteruspathologien • Fetale Ursachen wie Fehlbildungen oder Mehrlinge

Bei bestehenden Risikofaktoren sollten vermehrt Vorsorgeuntersuchungen durchgeführt werden, sowie die Möglichkeit der Frühkarenzierung und unter Umständen eine frühzeitige Aufnahme in ein geburtshilfliches Krankenhaus genutzt werden (5).

1.2. GALLENSÄUREN (GS)

1.2.1. DEFINITION UND FUNKTION

Das klinische Wörterbuch *Pschyrembel* beschreibt GS als Steroide, die in den Hepatozyten aus Cholesterol gebildet werden. Neben den Phospholipiden sind sie die wichtigsten Bestandteile der Gallenflüssigkeit und wesentlich für die Lipid-Verdauung. Eingeteilt werden GS in primäre (Cholsäure und Chenodeoxycholsäure) und sekundäre GS (Deoxycholsäure, Lithocholsäure); es gibt sie in konjugierter und unkonjugierter Form (6, 7). GS haben in unserem Körper viele unterschiedliche Funktionen. Zum einen werden sie für die Elimination von Cholesterin benötigt und ermöglichen mit Hilfe von Mizellenbildung den Transport und die Aufnahme von Lipiden, den Vitaminen A, D, F und K und vieler weiterer fettlöslicher Nährstoffe. Zum anderen stimulieren sie den Gallenfluss und die biliäre Phospholipidsekretion. Eine hohe Phospholipidkonzentration in der Gallenflüssigkeit resultiert in einer hohen Mizellenkonzentration und wirkt sich somit protektiv gegen eine Zerstörung des Gallengangsepithels aus, welche durch Akkumulation von GS induziert werden kann. Darüber hinaus zeigten Studien, dass GS die Muzinsekretion und Darmmotilität steigern, bakteriostatische Eigenschaften aufweisen, Metalle wie Eisen und Kalzium löslicher und somit leichter aufnehmbar machen, sowie im Glucose- und Lipidstoffwechsel als Signalmoleküle agieren.

Abbildung 2: Auflistung verschiedener GS-Funktionen (8)

Process	Site	Mechanism
Whole Organism		
Cholesterol elimination	Hepatocyte	Conversion to bile acids
	Biliary tract	Stimulation of biliary cholesterol secretion
	Intestine	Solubilization of cholesterol in mixed micelles Fecal excretion of cholesterol and bile acids
Hepatobiliary		
Stimulation of bile flow	Hepatocyte	Canalicular secretion of osmotically active membrane-impermeable molecules
Stimulation of biliary PC secretion	Cholangiocyte	Potentialiation of secretin-stimulated bicarbonate secretion
	Hepatocyte	Detachment of PC from canalicular membrane
Feedback inhibition of bile acid and cholesterol biosynthesis	Biliary tract	Solubilization of PC in mixed micelles
	Hepatocyte	Repression of cholesterol 7 α -hydroxylase and HMG-CoA reductase
Intestinal		
Enhancement of lipid absorption	Small intestine	Formation of mixed micelles that promote diffusion through the unstirred layer
Cleaning of absorptive surface†	Small intestine	Surface activity of the bile acid anions
Stimulation of intestinal motility†	Large intestine	Neural arc

*PC indicates phosphatidylcholine; HMG-CoA, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A.

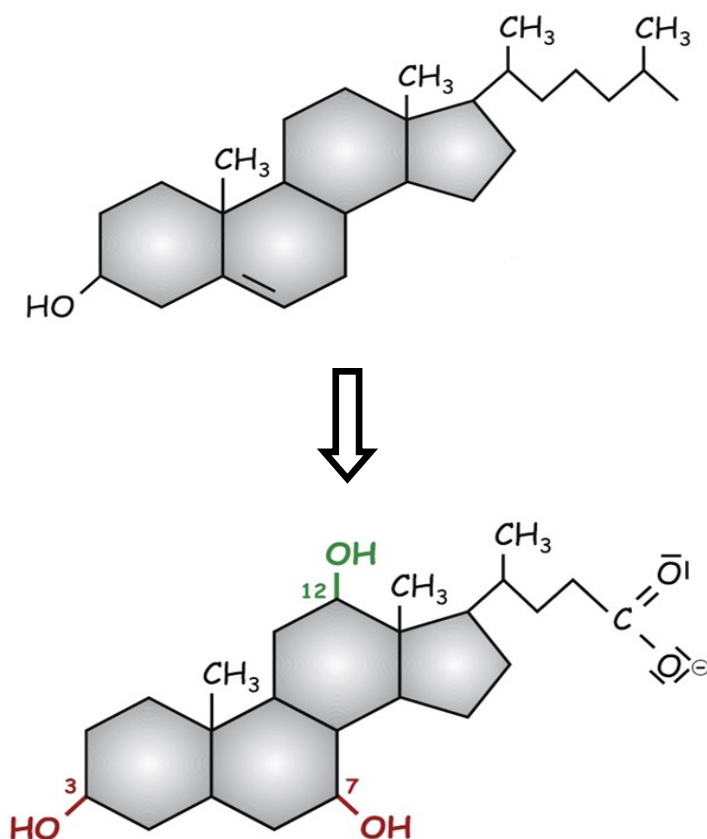
†Postulated, not an established function.

Die GS-*de-novo*-Synthese wird über einen negativen Feedback-Mechanismus mit Hilfe von Rezeptoren im intestinalen und hepatischen Bereich streng reguliert (8, 9). Herrscht in der Gallenflüssigkeit und im Blut ein physiologischer pH-Wert, liegen die GS in einer anionischen Salz-Form vor und werden Gallensalze genannt. Dies sind hauptsächlich die Transportformen der konjugierten GS (10).

1.2.2. PRIMÄRE GS

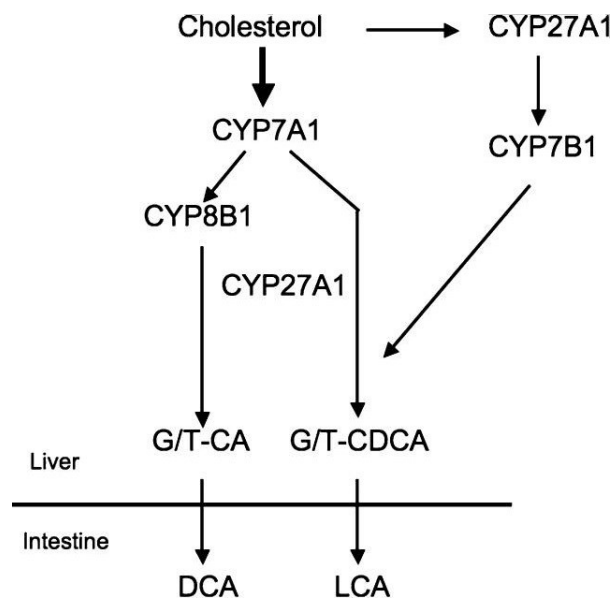
Zu den primären GS zählen Chenodeoxycholsäure (chenodeoxycholic acid, CDCA) und Cholsäure (cholic acid, CA). Für die Produktion von primären GS wird Cholesterin benötigt, wobei OH-Gruppen hydroxyliert, sowie die Doppelbindung reduziert werden und die Seitenkette auf 24 C-Atome gekürzt wird. CDCA und CA gelten als Endprodukte dieses Syntheseprozesses (7).

Abbildung 3: Schematische Darstellung von Cholesterin und Cholsäure. Cholesterin (oben) wird in die primäre GS Cholsäure (unten) umgewandelt (7).



Hinsichtlich ihres Entstehungsprozesses und den Enzymen, die darin involviert sind, kann man zwischen dem klassischen und dem alternativen Pathway unterscheiden. Der klassische oder auch neutrale Entstehungsweg wird mittels der Cholesterol-7 α -Hydroxylase (CYP7A1), die sich im Endoplasmatischen Retikulum der Leberzelle befindet, in Gang gesetzt. Man geht davon aus, dass auf diesem Weg der Großteil der primären GS produziert wird. Studien haben gezeigt, dass ein erhöhter Insulinspiegel die Expression von CYP7A1 begünstigt, während proinflammatorische Zytokine und Glykogen diese unterdrücken. Im weiteren Verlauf wird für die Herstellung von CA das Enzym Sterol-12 α -Hydroxylase (CYP8B1) benötigt. Bei der Herstellung von CDCA kommen Oxysterol-7 α -Hydroxylase (CYP7B1) oder Sterol-27 α -Hydroxylase (CYP27A1) zum Einsatz (Abbildung 3) (11). Der alternative oder auch azidische Entstehungsweg benötigt CYP27A1 zur Umwandlung von Cholesterol in GS. CYP27A1 befindet sich in der inneren Membran der Mitochondrien. Anders als beim klassischen Weg wird hier nicht nur in der Leberzelle synthetisiert, sondern auch in Makrophagen und vielen anderen kleinen Entstehungsorten, wie etwa im Gehirn (mittels 24-Hydroxylase). Zusätzlich findet im ganzen Körper ein unspezifischer CYP7B1 vermittelter Mechanismus statt, der Oxysterole (oxydierte Metaboliten) produziert, die dann anschließend zur Leber transportiert und dort in CDCA umgewandelt werden (11). Unter normalen Bedingungen liefert der alternative Pathway lediglich 10 % der täglich neugebildeten GS, bei Patienten mit Lebererkrankungen kann er jedoch zu einem wichtigen Hauptentstehungsweg werden (12).

Abbildung 4: Entstehung der Gallensäuren aus Cholesterin. Links in der Abbildung ist der klassische, rechts der alternative Entstehungsweg dargestellt (11).

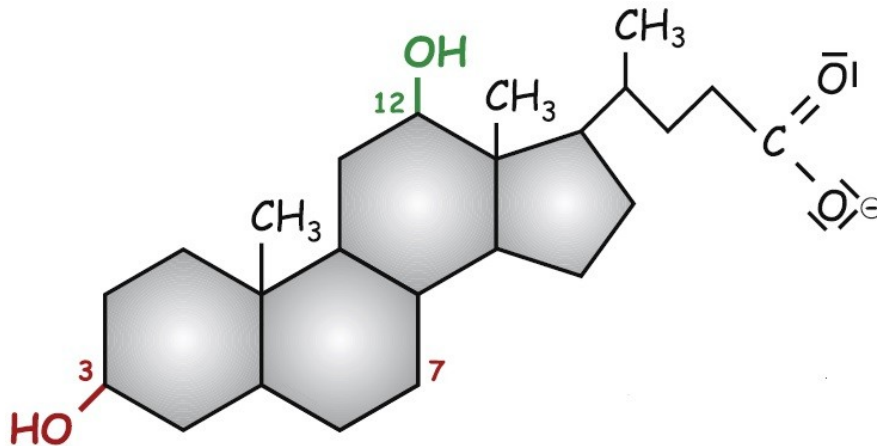


Legende: CYP27A1= Sterol-27 α -Hydroxylase; CYP7B1= Oxysterol-7 α -Hydroxylase; CYP8B1= Sterol-12 α -Hydroxylase; CA= Cholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; LCA= Lithocholsäure; G/T= Glycin/Taurin

1.2.3. SEKUNDÄRE GS

Die sekundären GS entstehen aus ihren primären Vorstufen im unteren Dünndarm, wobei sie mit Hilfe von Darmbakterien umgewandelt werden. Dies geschieht durch Dehydroxylierungsprozesse, wobei die sekundären GS Deoxycholsäure (deoxycholic acid, DCA) und Lithocholsäure (lithocholic acid, LA) entstehen (7). Säuglinge besitzen vorwiegend primäre GS, da ihre Darmflora noch nicht vollständig ausgebildet ist und die Bakterien, welche bei den Umwandlungsprozessen der GS beteiligt sind, den Darm erst mit der Zeit besiedeln (8).

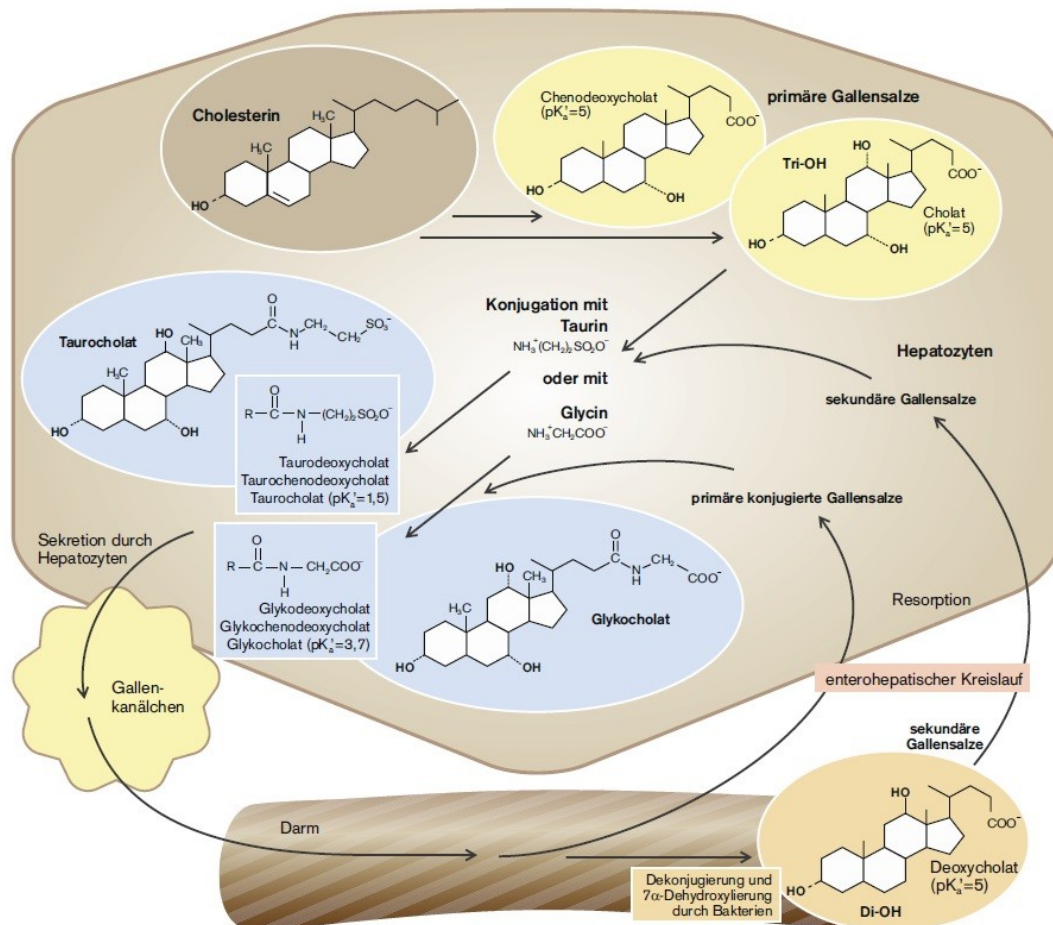
Abbildung 5: Strukturformel einer sekundären GS. Hier am Beispiel der Deoxycholsäure (7).



1.2.4. GS- KONJUGATION

Neben den vielen positiven Eigenschaften, welche den GS zugeschrieben werden, führen die starken hydrophoben Eigenschaften vor allem der sekundären GS zu einer steigenden Zelltoxizität. Hohe Konzentrationen solcher hydrophoben GS in Blut, Galle und Faeces werden mit der Entstehung von Cholesteringallensteinen und Darmkrebs in Verbindung gebracht (12). Um eine bessere Wasserlöslichkeit zu erreichen und somit die Toxizität zu vermindern, werden Gallensäuren im Körper mit anderen Substanzen konjugiert (Abbildung 5). Bevorzugt werden hierfür Taurin und Glycin verwendet, aber auch Konjugationen mit Glukuronat und Sulfat sind möglich. Durch diese Verbindung sinkt der pKa-Wert und GS liegen nun in ihrer protonierten Form als Gallensalze vor.

Abbildung 6: Entstehung der verschiedenen Gallensäuren in der Leberzelle und ihr Weg im enterohepatischen Kreislauf. In der Mitte des Bildes ist die Konjugation der primären GS mit Taurin und Glycin abgebildet (13).



Beim Erwachsenen wird vor allem die Aminosäure Glycin zur Konjugation der Gallensäuren verwendet. Aufgrund dessen überwiegen im GS-Pool eines gesunden Erwachsenen die Glycin-Konjugate (7). Im Gegensatz dazu überwiegen bei Neugeborenen die Taurin-konjugierten gegenüber den Glycin-konjugierten GS. Dieser Umstand gleicht sich mit zunehmender Reife der Kinder den Verhältnissen der Erwachsenen an (14). In frühen Studien über Taurin-Konzentrationen im Blut konnte herausgefunden werden, dass Neugeborene doppelt bis dreifach höhere Werte aufweisen, als ihre Mütter zum Zeitpunkt der Geburt. Außerdem waren die Taurin-Konzentrationen bei Frühgeborenen wesentlich höher als bei Reifgeborenen (15).

1.2.5. ZUSAMMENSETZUNG DER GESAMT-GS

Der GS-Pool setzt sich aus den primären und sekundären sowie den unkonjugierten und konjugierten Formen der GS zusammen. Einen kurzen Überblick über alle fünfzehn derzeit messbaren GS soll die folgende Tabelle 2 liefern.

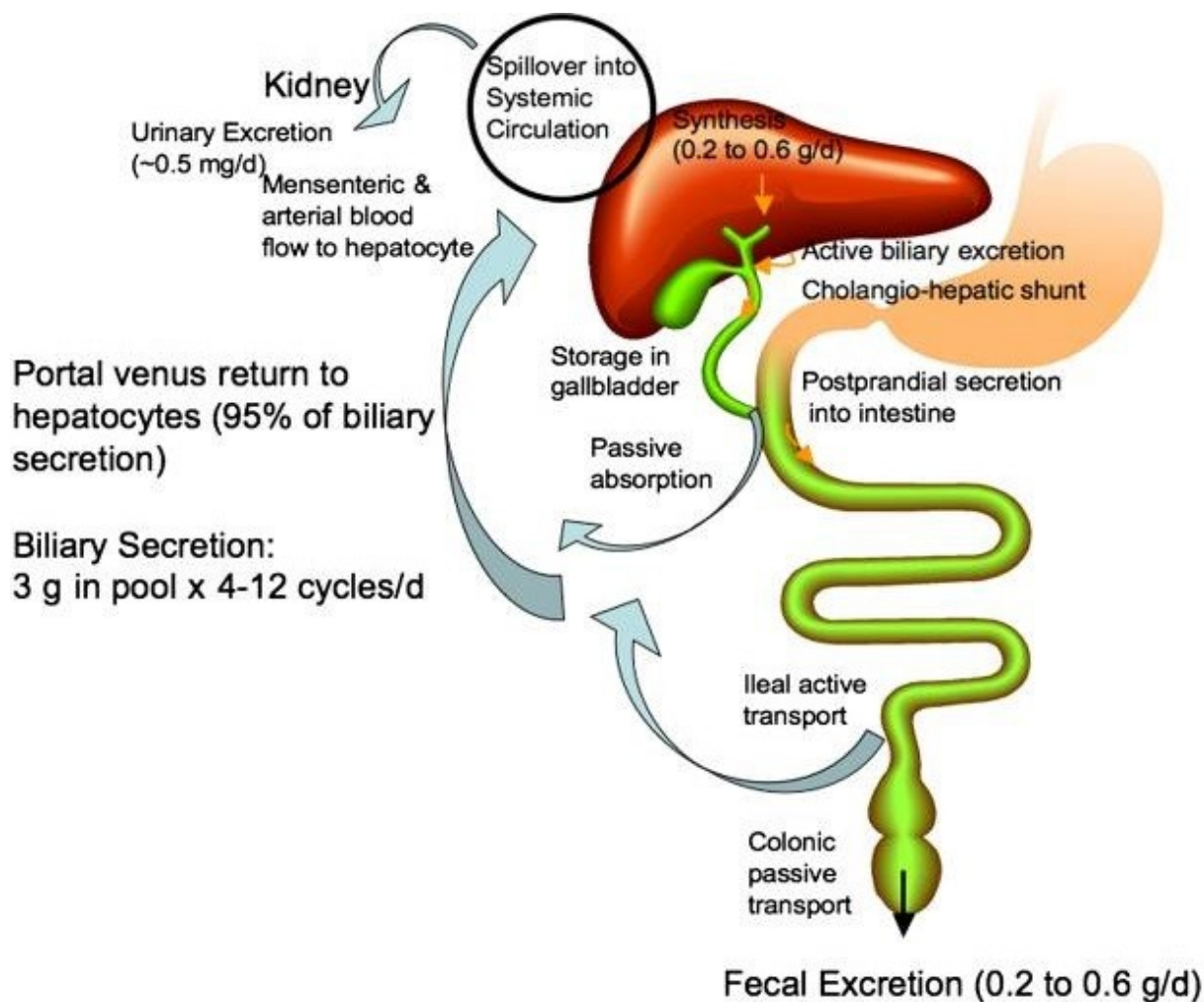
Tabelle 2: Übersicht über die 15 messbaren GS

	Unkonjugiert	Taurin-konjugiert	Glycin-konjugiert
Primäre Gallensäuren	Cholsäure (CA)	Taurocholsäure (TCA)	Glycocholsäure (GCA)
	Chenodeoxycholsäure (CDCA)	Taurochenodeoxycholsäure (TCDCA)	Glycochenodeoxycholsäure (GCDCA)
Sekundäre Gallensäuren	Deoxycholsäure (DCA)	Taurodeoxycholsäure (TDCA)	Glycodeoxycholsäure (GDCA)
	Lithocholsäure (LA)	Taurolithocholsäure (TLA)	Glycolithocholsäure (GLA)
	Ursodeoxycholsäure (UDCA)	Tauroursodeoxycholsäure (TUDCA)	Glycoursodeoxycholsäure (GUDCA)

1.2.6. ENTEROHEPATISCHER KREISLAUF

Der menschliche Körper benötigt täglich 12 - 36 g GS, die von der Leber sezerniert werden. Bis zu 20 g an GS werden allein für die Verdauung einer fettreichen Mahlzeit benötigt. Allerdings beträgt der GS-Gehalt im Körper in etwa 3 - 4 g und pro Tag werden nur ca. 200 - 600 mg neu synthetisiert. Dieses Missverhältnis zwischen Synthese und Bedarf umgeht der Körper, indem er bis zu 95% der GS im terminalen Ileum wieder resorbiert, über die Pfortader zur Leber zurückbringt und anschließend wiederverwertet (Abbildung 7). Diese Resorption passiert zu einem kleineren Teil durch eine passive Diffusion der unkonjugierten GS; zum größten Teil werden die GS jedoch mit Hilfe eines Na⁺-Cotransporter, dem Na⁺-Gallensalz-Symporter (Active Sodium Bile Salt Transporter, ASBT), wiederaufgenommen.

Abbildung 7: Darstellung des enterohepatischen Kreislaufes (11).



Die Leberzellen nehmen die GS zum größten Teil über den Na⁺-Symporter (Na⁺ taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP) auf. Bei Neugeborenen ist die Aktivität dieses Symporters äußerst gering, wodurch die GS-Sekretion und -Rezirkulation herabgesetzt ist und sich erst entwickeln muss. Innerhalb dieses enterohepatischen Kreislaufs zirkulieren die GS innerhalb von 24 Stunden vier- bis zwölfmal im Körper zwischen Leber und Darm. Entsprechend der täglichen Neubildungsrate werden nur ca. 0,2 - 0,6 g/Tag mit dem Stuhl und 0,5 mg/Tag mit dem Harn ausgeschieden. Auch die Ausscheidung der GS stellt einen wichtigen Prozess dar, da der Körper nur so die Möglichkeit hat, Cholesterin und seine Derivate zu entsorgen (7, 8, 13, 16).

1.2.7. THERAPEUTISCHER EINSATZ VON GS

GS werden therapeutisch eingesetzt: Zum einen als Ersatztherapie (englisch: replacement therapy), um GS-Defizite auszugleichen und/oder um eine gestörte GS-Funktion wiederherzustellen, zum anderen als Verschiebetherapie (englisch: displacement therapy), um die Zusammensetzung der zirkulierenden GS zu verändern und den Cholesterin-Stoffwechsel zu steuern und/oder um mögliche zelltoxische Eigenschaften der zirkulierenden Gallensäuren zu vermindern (17). Man verwendete die primäre GS Chenodeoxycholsäure, um ein Absinken der Cholesterin-Konzentration in der Gallenflüssigkeit zu erreichen. Dies hatte den Effekt, dass sich Cholesterinsteine in der Gallenblase allmählich auflösten. Allerdings kam es bei einer solchen Therapie häufig zu gastrointestinalen Nebenwirkungen im Sinne einer Diarrhoe. Weitere Untersuchungen ergaben, dass die Anwendung von Ursodeoxycholsäure (UDCA) zum selben Effekt führt, allerdings bei eineinhalb bis zwei Dritteln der Dosis ohne gastrointestinale Beschwerden zu verursachen (18). Außerdem sollte eine Kombination beider GS zu einem stärkeren Absinken der Cholesterin-Konzentrationen in der Galle führen, als eine alleinige Anwendung beider (19).

Die UDCA, sowie ihre konjugierten Formen, zählen zu den sekundären GS und werden beim Menschen nur in sehr geringen Mengen produziert. Der Anteil der UDCA gemessen an der totalen GS-Konzentration beträgt durchschnittlich etwa 3 %. Sie erfüllt im medizinischen Bereich eine sehr wichtige Rolle und wird häufig als Therapeutikum bei Lebererkrankungen, wie primäre biliäre Zirrhose und primäre sklerotisierende Cholangitis, eingesetzt. Historisch gesehen hat dieser Einsatz seinen Ursprung in der traditionellen Chinesischen Medizin, bei der man Schwarzbärenleber gegen Lebererkrankungen verwendet hat. UDCA kommt bei diesen Tieren in hohen Konzentrationen vor. Heutzutage geht man davon aus, dass UDCA in therapeutischen Dosen folgende Hauptaufgaben erfüllt:

1. Der Schutz von Cholangiozyten gegen die zytotoxischen Eigenschaften hydrophiler Gallensäuren (LCA, DCA, CDCA).
2. Stimulation der hepatobiliären Sekretion.
3. Der Schutz der Hepatozyten vor Apoptose, die durch GS induziert wird (20).
4. Die Reduktion der relativen und absoluten Cholesterin-Aufnahme und -Produktion (21).

In weiterer Folge werden auch Rezeptor- Agonisten, wie der Farnesoid X Rezeptor (FXR) eingesetzt, um auf Gen-Ebene die Cholesterin-Synthese in GS und die hepatozelluläre Aufnahme und Sekretion zu vermindern und so den enterohepatischen Kreislauf an unterschiedlichen Stellen zu beeinflussen (22).

1.3. ARBEITSHYPOTHESE

Bisher ist der GS-Stoffwechsel bei Frühgeborenen aufgrund der Schwierigkeit der Probenbeschaffung noch wenig untersucht. Einige Unterschiede zwischen Erwachsenen und Kindern hinsichtlich der GS sind bereits bekannt:

- Je jünger die Kinder sind, umso niedrigere GS-Werte weisen sie im Darmlumen und im Duodenalsekret auf (14, 23).
- Im Gegensatz dazu werden bei Neugeborenen im Serum hohe Konzentrationen an primären GS (CA und CDCA) gemessen (24, 25).
- Hinsichtlich der Zusammensetzung des GS-Pool zeigt sich bei Neugeborenen eine Dominanz der Taurin-konjugierten GS, welche sich erst mit der Zeit zurückbildet und sich den Werten von Erwachsenen mit einem Überwiegen von Glycin-konjugierten GS anpasst (14, 26, 27).
- Der GS-Pool bei Kindern weist eine geringe Größe auf. Dies betrifft im Besonderen Neugeborene. Hier wird von einer Unreife des aktiven Transportsystems im Ileum in der Neonatalperiode ausgegangen (28, 29).
- Kinder zeigen eine verminderte GS-Synthese im Sinne einer "physiologischen Cholestase", diese ähnelt dem Bild einer pathologischen Cholestase bei Erwachsenen (25, 30, 31).

In der Arbeit von *Stering* (32) wurden in Zusammenarbeit mit der Kinder- und Jugendheilkunde Graz Normwerte für die GS-Konzentrationen bei Kindern ermittelt. Im Laufe ihrer Forschung fand sie heraus, dass die GS-Werte altersabhängig sind; diese steigen bis zu einem Alter von 6 - 24 Monaten an und sinken dann kontinuierlich ab, bis sie im Alter von 11 Jahren annähernd den Werten von Erwachsenen entsprechen. Für die vorliegende Arbeit sind vor allem die Werte aus der Gruppe 0 - 5 Monate relevant. Diese ergaben einen Mittelwert von 5,09 $\mu\text{mol/L}$ mit einer Standardabweichung von 2,20 $\mu\text{mol/L}$. Das 95 %- Konfidenzintervall ergab eine Untergrenze von 3,85 $\mu\text{mol/L}$ und eine Obergrenze von 6,32 $\mu\text{mol/L}$. Im Weiteren wurden die einzelnen GS-Komponenten untersucht und auch hier konnte man ein Überwiegen an konjugierten primären GS (vor allem TCDCA, GCDCA, GCA und TCA) in annähernd ausgeglichenem Taurin:Glycin Verhältnis feststellen. Freie GS waren nur in sehr geringen Mengen nachweisbar. Allerdings bestand die Gruppe nur aus 17 Kindern, welche hauptsächlich reife Neugeborene waren (32).

In dieser Arbeit soll nun näher auf die GS-Werte bei Frühgeborenen eingegangen werden. Da sich diese Altersgruppe aufgrund der häufig problematischen Verhältnisse, die ihre frühe Geburt bedingen und den folgenden oftmals schwerwiegenden Erkrankungen, die aufgrund der Unreife der Kinder entstehen, erheblich von Reifgeborenen oder gar älteren Säuglingen unterscheidet, wird in dieser Arbeit davon ausgegangen, dass man in der Gruppe der Frühgeborenen auch von anderen GS-Werten ausgehen muss, als sie *Stering* in der Gruppe der 0 - 5 Monate alten Säuglingen festgelegt hat. Daraus ergeben sich folgende Fragen:

1. Wie hoch sind die Gesamt-GS Serum-Werte bei Frühgeborenen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe?
2. Welche Veränderungen ergeben sich in der Zusammensetzung der GS bei Frühgeborenen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe?
3. Gibt es Faktoren (wie Gestationsalter, Geburtsgewicht, Abnahmezeitpunkt), welche die GS-Serumwerte und deren Zusammensetzung beeinflussen?

2. METHODEN

2.1. ABNAHMEBEDINGUNGEN

Nach Vorliegen eines gültigen Ethikantrages wurden im Zeitraum von Juni 2013 bis Juni 2014 an der Abteilung für Neonatologie an der Universitätsklinik St. Leonhard in Graz Proben gesammelt. Da viele Frühgeborene nach der Geburt oftmals intensive Pflege und medizinische Betreuung benötigen, werden während dem stationären Aufenthalt der Frühgeborenen routinemäßig Blutabnahmen durchgeführt, um diverse Laborparameter zu kontrollieren und zu beobachten. Die Reste dieses EDTA-Blutes, die nach der Analyse nicht mehr benötigt wurden, wurden vom Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Medizinischen Universität Graz zentrifugiert und anschließend das Plasma abgeschöpft und eingefroren. Zu einem späteren Zeitpunkt wurden diese Proben dazu verwendet, mittels Massenspektrometrie die GS-Profile der Frühgeborenen zu analysieren. Ein Vorteil dieser Methode ist, dass schon geringste Probenmengen für eine Analyse ausreichen. Somit lässt sich dieses Verfahren gut in der Neonatologie einsetzen, da man hier aufgrund der Größe und des Blutvolumens der Patienten hinsichtlich der Probenmengen sehr eingeschränkt ist.

2.2. EINSCHLUSSKRITERIEN

Nach erfolgreicher Rekrutierung wurde auf folgende Einschlusskriterien geachtet:

- Das Erfüllen der Kriterien für eine Frühgeburt (Geburt vor der 37 + 0 SSW)
- Der Abnahmezeitpunkt überschreitet nicht den siebten Lebenstag (LT)

Je größer der Abstand zwischen der Geburt und dem Abnahmezeitpunkt ist, umso eher werden die Werte zunehmend von äußeren (Nahrungsaufnahme) und inneren Faktoren (Entwicklung der Verdauung) beeinflusst. In weiterer Folge wurden die Frühgeborenen hinsichtlich ihres Gestationsalters nach SSW (23 - 28, 29 - 31, 32 - 34 und 35 - 36 SSW), ihres Geburtsgewichts (GG) in Gramm (> 500 - 1000, > 1000 - 1500, > 1500 - 2000, > 2000 - 2500 und > 2500 g) und den Zeitpunkt der Probenabnahme in den ersten sieben LT (1., 2. und 3. - 7. LT) eingeteilt.

2.3. METHODENWAHL

Die Serumkonzentration der GS ist mit ungefähr 0,1 – 1 μmol sehr gering und bedarf deshalb eines sehr sensitiven Verfahrens (33). Um die Proben analysieren zu können müssen die GS vom Untersuchungsmaterial (in diesem Fall Serum) isoliert und anschließend in die einzelnen konjugierten und unkonjugierten Komponenten aufgespalten werden. Hierfür können verschiedene Systeme, je nach Art des Untersuchungsmaterials, verwendet werden:

- Dünnschichtchromatografie (thin layer chromatography, TLC)
- Gaschromatografie (gas chromatography, GC)
- Überkritische Fluidchromatografie (supercritical fluid chromatography, SFC)
- Kapillarelektrophorese (capillary electrophoresis, CE)
- Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (high performance liquid chromatography, HPLC)

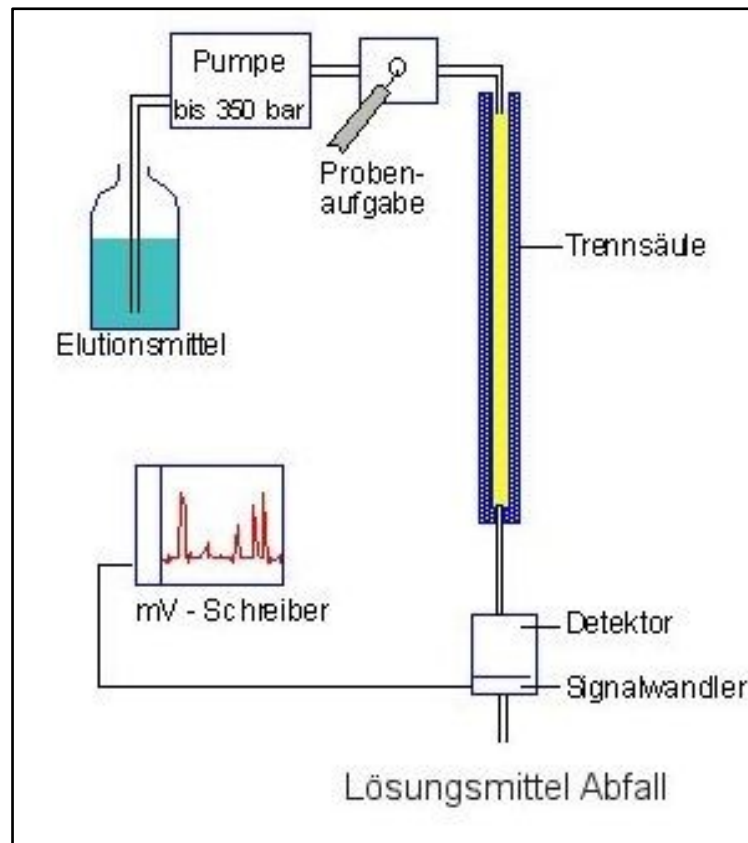
Alle Verfahren können in Kombination mit einem Massenspektrometer (MS) zur Detektion verwendet werden. In diesem Fall wurde die HPLC zur Auftrennung des Probenmaterials genutzt, da hiermit eine direkte und vergleichsweise schnelle Analyse der unkonjugierten und Glycin- und Taurin- konjugierten GS möglich ist (34).

2.3.1. DIE HOCHLEISTUNGSFLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE

Die HPLC ersetzte die GC und viele weitere Verfahren in der qualitativen und quantitativen Analyse. Sie wird vor allem zur Untersuchung von Medikamenten und Körperflüssigkeiten wie Plasma, Serum und Urin verwendet (35). Bei der Auswertung der GS vollführt die HPLC drei wichtige Schritte, die für die weitere Verarbeitung mittels MS essentiell sind:

1. Die Extraktion der GS aus dem Probenmaterial
2. Auftrennung der GS in konjugierte (Taurin und Glycin) und unkonjugierte Formen
3. Auftrennung der einzelnen Formen in die 15 bestimmbaren GS (Tabelle 2) (33)

Abbildung 8: Schematischer Aufbau einer Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (36). Die Probe wird auf der "Probenaufgabe" aufgetragen, wo sie mit dem Elutionsmittel vermischt wird. Danach durchläuft sie die Trennsäule, in der es zur Aufspaltung der verschiedenen Gallensäuren kommt, welche im Detektor erfasst und mittels Signalwandler grafisch dargestellt werden.



2.3.2. DAS MASSENSPEKTROMETER

Das MS wird verwendet, um aus Substanzen Ionen zu erzeugen und diese nach ihrem Verhältnis von Masse zu Ladung (m/z) zu trennen, um sie anschließend qualitativ und quantitativ zu erfassen (37). Die Ionisation kann mittels Hitze, Elektrizität oder Beschuss mit energiereichen Elektronen, Ionen oder Photonen geschehen. Zu den Vorrichtungen eines MS zählen:

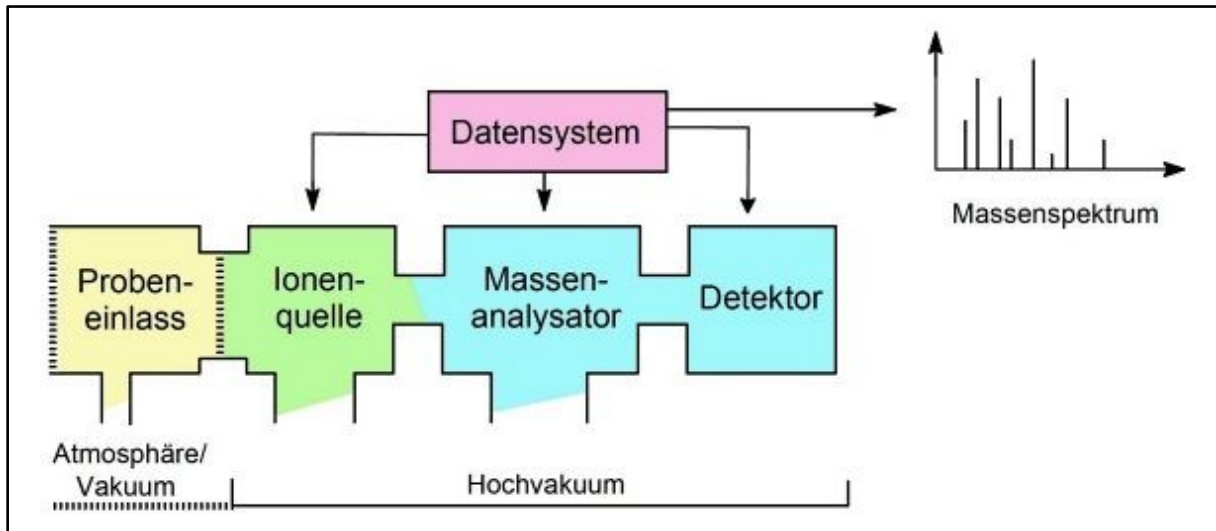
1. Probeneinlasssystem
2. Ionenquelle
3. Massenanalysator
4. Ionendetektor

Abbildung 9: Bild eines Massenspektrometers. Standort: klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik Universitätsklinikum Graz



Das Probeneinlasssystem dient im Wesentlichen der Probenzuführung; anders als die nachfolgenden Teile des MS (Punkt 2 - 4) besteht in diesem Teil kein Hochvakuum. Die Ionenquelle dient der Ionenerzeugung mittels Verdampfung und Ionisation. Die hier entstandenen Ionen werden im Massenanalysator aufgetrennt und anschließend im Ionendetektor erfasst. Resultat dieses Verfahrens ist ein Massenspektrum. Dies ist eine Darstellung der Signalintensität gegen m/z . Hierbei entspricht die Höhe der Peaks der Häufigkeit der detektierten Ionen. Das MS-Verfahren ist eine der genauesten Methoden zur Bestimmung von Molmassen- mit ihr können Daten aus Proben im Nanogramm-Bereich erhoben werden (38, 39).

Abbildung 10: Schematischer Aufbau eines Massenspektrometers. Die verschiedenen Abschnitte, welche die Proben durchlaufen (von links nach rechts) sind farblich gekennzeichnet (40).



2.3.3. ANALYSE MITTELS HPLC UND TANDEM-MS

Bei der Analyse der GS wurden die HPLC zur Auftrennung und das MS zur Quantifizierung der Proben verwendet. Die GS wurden zuvor für dieses Verfahren aus den Proben extrahiert. Dies kann mittels Alkohol, Acetonitril, Natriumhydroxyd, Ammonium, Erhitzen oder Ultraschall geschehen. Die Aufteilung der GS in ihre Formen (konjugiert und unkonjugiert) und in die Art der Konjugation (Taurin, Glycin) ist anhand der unterschiedlichen Ladungen der Konjugate und der ungleichen Polarität der Kerne möglich (35). Nach dieser Aufspaltung werden die Proben wie oben beschrieben dem MS zugeführt, ionisiert und anschließend detektiert. Um eine höhere Selektivität zu erreichen wurde für diese Arbeit ein Tandem-Massenspektrometer (MS/MS) benutzt. Dieses besteht aus zwei hintereinander geschalteten Massenspektrometern. Die Kopplung der HPLC an das MS/MS führt wiederum zu einer Steigerung der Sensitivität und Spezifität (41, 42). Anschließend erfolgte die statistische Analyse der Daten mittels des Programms IMB SPSS Statistics.

3. ERGEBNISSE

Für diese Arbeit konnten insgesamt 79 Frühgeborene rekrutiert werden. Das mittlere Gestationsalter lag in der 32. SSW (Bereich von 23 + 3 bis 36 + 6 SSW), das GG lag im Mittel bei 1894 g (Bereich 528 bis 2750 g) und 59,5% waren männlichen Geschlechts. Für eine Kontrollgruppe wurden die Daten der Kinder aus der Gruppe von 0 - 5 Monaten von *Stering* analysiert und den strengeren Einschlusskriterien dieser Arbeit angepasst. Dabei wurde die Gruppe von anfangs 17 auf 11 Kinder dezimiert. Mittelwert, Standardabweichung und das 95 % - Konfidenzintervall der gesamten GS-Werte der Frühgeborenen, sowie der Kontrollgruppe sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Statistisch errechnete GS-Werte von den 79 Frühgeborenen und den 11 Kindern der Kontrollgruppe in $\mu\text{mol/L}$.

Altersgruppe	Anzahl	Mittelwert	Standardabweichung	95 % - Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
Frühgeborene	79	12,7	11,7	10,1	15,3
Kontrollgruppe	11	5,3	2,1	3,9	6,7

Es ist deutlich zu erkennen, dass Frühgeborene höhere Werte aufweisen, als die Kinder der Kontrollgruppe. Zum einen ist in der vorliegenden Arbeit die Gruppengröße mit 79 Frühgeborenen um ein vielfaches größer, zum anderen sind in der Kontrollgruppe kaum Proben von Frühgeborenen enthalten.

Tabelle 4: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe mit 11 Kindern und der Studiengruppe mit 79 Frühgeborenen. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Frühgeborene	
Anzahl	11	79	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Werte
GS-Gesamt	5,30 \pm 2,13	12,67 \pm 11,71	0,01
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,09 \pm 0,64	0,09
TCA	0,65 \pm 0,73	2,52 \pm 3,00	< 0,01
TCDCA	1,60 \pm 1,12	4,52 \pm 4,40	< 0,01
TDCA	0,04 \pm 0,06	0,14 \pm 0,57	0,32
TLA	0,01 \pm 0,02	0,09 \pm 0,64	0,09
Taurin gesamt	2,30 \pm 1,54	7,28 \pm 7,15	0,01
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,04 \pm 0,12	0,27
GCA	1,75 \pm 1,05	4,40 \pm 7,21	0,07
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,71 \pm 0,48	0,22
GDCA	0,11 \pm 0,13	0,03 \pm 0,13	0,01
GLA	0,03 \pm 0,07	0,00 \pm 0,03	0,35
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	5,18 \pm 7,25	0,32
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,04 \pm 0,17	0,31
CA	0,03 \pm 0,03	0,07 \pm 0,10	0,02
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,07 \pm 0,14	0,28
DCA	0,02 \pm 0,02	0,02 \pm 0,08	0,05
LA	0,02 \pm 0,05	0,01 \pm 0,02	0,41
Unkonjugierte GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,21 \pm 0,29	0,62

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; blau gefärbte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der gesamten Studiengruppe mit 79 Frühgeborenen im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 11 Kindern. Bei den Frühgeborenen ist der Mittelwert der Gesamt-GS mit einem Wert von $12,67 \mu\text{mol/L}$ ($\pm 11,71 \mu\text{mol/L}$ Standardabweichung) signifikant höher als der, der Kontrollgruppe mit $5,30 \mu\text{mol/L}$ ($\pm 2,13 \mu\text{mol/L}$ Standardabweichung). Insgesamt waren die Taurin-konjugierten GS mit einem Wert von $7,28 \mu\text{mol/L}$ ($\pm 7,15 \mu\text{mol/L}$ Standardabweichung) auch signifikant höher als bei der Kontrollgruppe ($2,30 \pm 1,54 \mu\text{mol/L}$). Die Werte der gesamten Glycin-konjugierten, sowie der gesamten unkonjugierten GS sind mit $5,18 \pm 7,25 \mu\text{mol/L}$ und $0,21 \pm 0,29 \mu\text{mol/L}$ höher als die der Kontrollgruppe ($2,86 \pm 1,43 \mu\text{mol/L}$ und $0,13 \pm 0,11 \mu\text{mol/L}$), weisen jedoch keine statistische Signifikanz auf. In den einzelnen Fraktionen sind TCA, TCDCA und CA signifikant höher als in der Kontrollgruppe; TUDCA, TDCA, TLA, GCA, UDCA und CDCA waren ebenfalls höher, jedoch ergaben die Berechnungen keine statistisch Signifikanz. GCDCA, GDCA, GLA und LA wiesen niedrigere Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe auf- davon GDCA statistisch signifikant. DCA war signifikant und GUDCA nicht-signifikant gleichbleibend gegenüber der Kontrollgruppe.

Aufgrund der Inhomogenität (unterschiedliche Reife, Größe und Geburtsgewicht der Frühgeborenen, sowie unterschiedliche Zeitpunkte der Probenabnahme) und Multimorbidität (häufiges Auftreten eines multifaktoriellen Krankheitsgeschehens in Zusammenhang mit der Unreife der verschiedenen Organsysteme und unterschiedlichen Ursachen der Frühgeburtlichkeit) des Studienkollektives ergibt sich beim uneingeschränkten Analysieren aller Werte eine sehr hohe Standardabweichung. Um bessere Aussagen treffen zu können, wurde der Versuch unternommen, die Resultate in verschiedene Einteilungen zusammenzufassen. Hierzu wurden Einflussfaktoren, welche sich auf die GS-Konzentration und deren Zusammensetzung auswirken könnten, herangezogen. Da das Gestationsalter einen direkten Einfluss auf die Reife des Frühgeborenen hat und sich somit auch auf die Organfunktion erheblich auswirkt, erschien eine Einteilung nach dem Gestationsalter als sinnvoll. Aufgrund des Umstandes, dass das Gewicht bis zu einem gewissen Grad von der Stoffwechselsituation bedingt wird, beziehungsweise das Körpergewicht umgekehrt Einfluss auf den Stoffwechsel nimmt, wurde bei der Bearbeitung der Daten versucht, auch hierauf einzugehen. Zuletzt wollte man die GS-Werte in den ersten Lebenstagen (LT) betrachten und mögliche Auswirkungen auf die Konzentration und Zusammensetzung der GS in dieser postnatalen Phase

genauer analysieren. Außerdem wurde versucht, die Gruppengrößen möglichst gleichmäßig zu halten. Unter Beachtung dieser Überlegungen ergaben sich folgende Gruppierungen:

- a) Die Einteilung nach Gestationsalter mit insgesamt vier Untergruppen (23 - 28, 29 - 31, 32 - 34 und 35 - 36 SSW)
- b) Die Einteilung nach Gewicht bei der Geburt mit insgesamt fünf Untergruppen (> 500 - 1000, > 1000 - 1500, > 1500 - 2000, > 2000 - 2500 und > 2500 g)
- c) Die Einteilung nach Zeitpunkt der Gallensäuren-Bestimmung in der ersten Lebenswoche (1. LT, 2. LT und 3. - 7. LT)

In den nachfolgenden Tabellen wird näher auf die Verteilung der Frühgeborenen hinsichtlich des Gestationsalters in Bezug auf das Gewicht bei der Geburt (Tabelle 5) und in Bezug auf den Abnahmezeitpunkt (Tabelle 6) eingegangen.

Tabelle 5: Aufteilung der 79 Frühgeborenen nach Gestationsalter und Geburtsgewicht.

SSW	Anzahl	GG = >500 - 1000 g	GG = >1000 - 1500 g	GG = >1500 - 2000 g	GG = >2000g - 2500 g	GG = >2500 g
23 - 28	13 (17)	11 (85)	2 (15)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
29 - 31	18 (23)	1 (6)	13 (72)	4 (22)	0 (0)	0 (0)
32 - 34	28 (35)	0 (0)	1 (4)	9 (32)	14 (50)	4 (14)
35 - 36	20 (25)	0 (0)	0 (0)	2 (10)	5 (25)	13 (65)
	Σ 79 (100)	Σ 12 (15)	Σ 16 (20)	Σ 15 (19)	Σ 19 (24)	Σ 17 (22)

Daten sind angegeben als n (%)

Legende: n= Anzahl; SSW= Schwangerschaftswoche; GG= Geburtsgewicht; g= Gramm; Σ=Summe

Bemerkung zu Tabelle 5: Aufgrund der physiologischen Umstände besteht eine proportionale Beziehung zwischen Gestationsalter und GG. Deshalb liegen für die Studiengruppen 23 - 28 und 29 - 31 SSW nur wenige (> 1000 - 1500 g und > 1500 - 2000 g) bis keine (> 2000 -2500 g und > 2500 g) Daten in den höheren Gewichtsklassen vor. Das gleiche gilt für die Gruppen 32 - 34 und 35 - 36 SSW in den unteren Gewichtsklassen (> 500 - 1000 g und > 1000 - 1500 g).

Tabelle 6: Aufteilung der 79 Frühgeborenen nach Gestationsalter und Zeitpunkt der Gallensäuren-Bestimmung in der ersten Lebenswoche.

SSW	Anzahl	n = 1.LT	n = 2.LT	n = 3.-7. LT
23 - 28	13 (17)	0 (0)	7 (54)	6 (46)
29 - 31	18 (23)	7 (39)	8 (44)	3 (17)
32 - 34	28 (35)	6 (21)	18 (64)	4 (14)
35 - 36	20 (25)	2 (10)	13 (65)	5 (25)
	Σ 79 (100)	Σ 15 (19)	Σ 46 (58)	Σ 18 (23)

Daten sind angegeben als n (%)

Legende: n= Anzahl; SSW= Schwangerschaftswoche; LT= Lebenstag; Σ =Summe

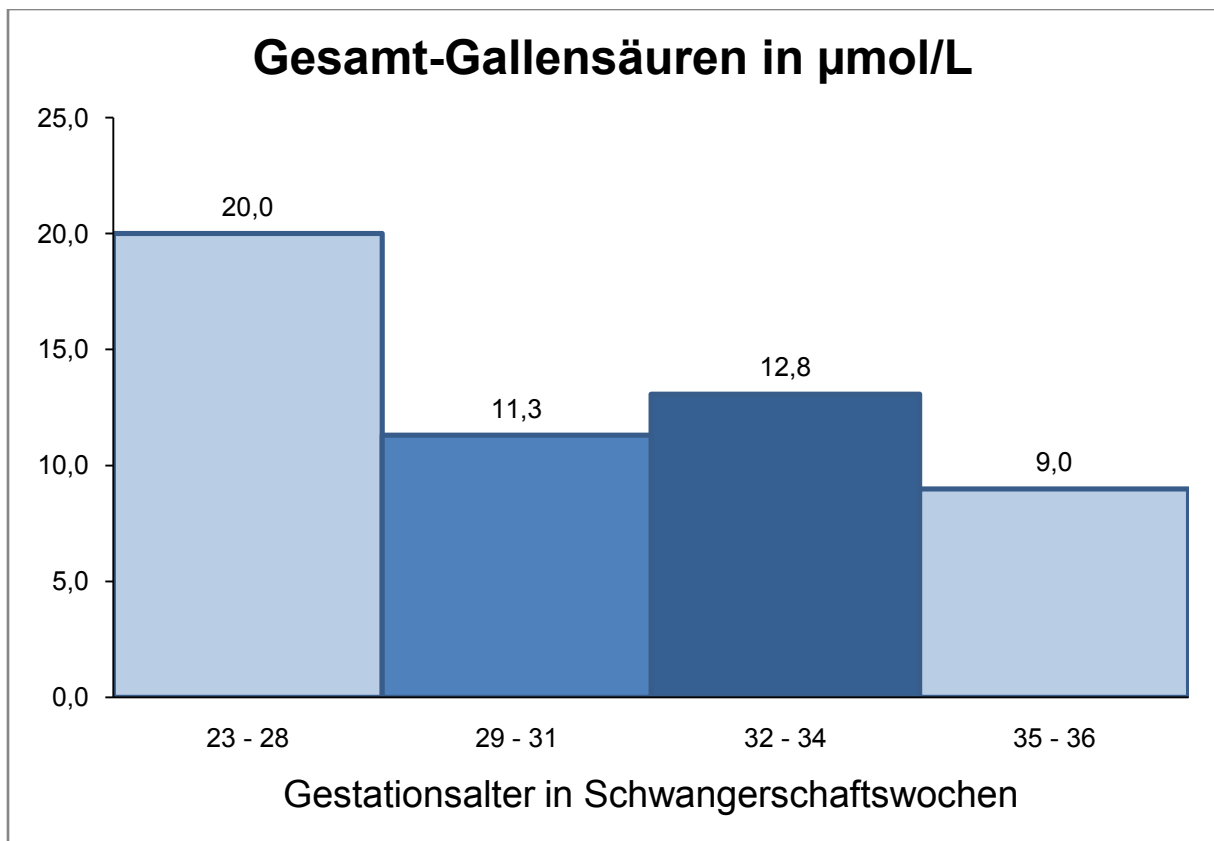
Bemerkung zu Tabelle 6: Die Mehrzahl (58 %) der GS-Bestimmungen in der Studiengruppe erfolgte am 2. LT. Für die Gruppe 23 - 28 SSW liegen am ersten LT keine Daten vor.

Die Gruppe 23 - 28 SSW hat mit 13 Frühgeborenen im Vergleich zu den anderen eine geringere Gruppengröße. In der 32 - 34 SSW konnten mit 28 Datensätzen die meisten Frühgeborenen rekrutiert werden. In der 29. - 31. und 35. - 26. SSW konnten annähernd gleich große Gruppen gebildet werden (Tabelle 5 und Tabelle 6). Bei der Einteilung nach Geburtsgewicht wurde eine beinahe gleich große Gruppengröße erreicht (Bereich: zwischen 12 und 19 Frühgeborene pro Gruppe) (Tabelle 5). Am ersten LT und am dritten bis siebenden LT sind circa gleich viele Abnahmen vorgenommen worden. Die Gruppe des 2. LT ist mit insgesamt 46 Frühgeborenen mehr als zweieinhalbmal so groß wie die anderen beiden Gruppen, da wie oben erwähnt am zweiten LT die meisten Abnahmen stattfanden.

3.1. GESAMT-GS NACH SSW

In der nachfolgenden Abbildung 11 werden die Mittelwerte aller bestimmten GS für die einzelnen Gruppen angezeigt. Man kann der Grafik entnehmen, dass, je unreifer die Frühgeborenen sind, sie umso höhere Gesamt-GS-Werte aufweisen. Der GS-Wert der Gruppe 23 - 28 SSW ist mehr als doppelt so hoch, als der der Gruppe 35 - 36 SSW und beinahe viermal so hoch, als der Mittelwert der Kontrollgruppe mit 5,3 $\mu\text{mol/L}$ (32).

Abbildung 11: Grafische Darstellung der Summe aller gemessenen Gallensäuren-Werte nach Gestationsalter.



In Tabelle 7 sieht man, dass es nach Aufteilung in die einzelnen Gruppen unter Beachtung des Gestationsalters zu einer deutlich geringeren Standardabweichung kommt. Das 95 % - Konfidenzintervall mit der Unter- und Obergrenze wurde ebenfalls für jede Gruppe errechnet.

Tabelle 7: Darstellung der einzelnen Gruppen nach Gestationsalter mit Gallensäure-Mittelwerten, Standardabweichung und 95 % - Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze in $\mu\text{mol/L}$.

SSW	Anzahl ($\Sigma 79$)	Mittelwert	Standardabweichung	95 % - Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
23 - 28	13	20,0	20,2	7,8	32,2
29 - 31	18	11,3	9,9	6,4	16,2
32 - 34	28	12,8	8,7	9,6	16,5
35 - 36	20	9,0	7,6	5,4	12,5

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; Σ = Summe

Anschließend wurde eine explorative Datenanalyse durchgeführt, um mögliche Signifikanzen zu errechnen. Aufgrund der fehlenden Normalverteilung der Proben wurde der Mann-Whitney-U-Test als statistisches Verfahren gewählt. In der unten angeführten Tabellen (Tabelle 8 und Tabelle 9) wurden die Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen und den statistischen Ergebnissen mit den p-Werten für jede GS in den einzelnen Gruppen nach Gestationsalter angeführt.

Tabelle 8: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen 23 - 28 und 29 - 31 Schwangerschaftswoche der Studiengruppe. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Studiengruppe 23 - 28 SSW		Studiengruppe 29 - 31 SSW	
Anzahl	11	13		18	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Wert	MW \pm SD	p-Wert
GS gesamt	5,28 \pm 2,13	20,00 \pm 20,18	0,03	11,30 \pm 9,91	0,02
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,02 \pm 0,06	0,40	0,03 \pm 0,05	0,03
TCA	0,65 \pm 0,73	4,28 \pm 5,28	0,02	1,93 \pm 1,52	0,01
TCDCA	1,60 \pm 1,12	5,96 \pm 7,21	0,05	3,60 \pm 2,67	0,04
TDCA	0,04 \pm 0,06	0,11 \pm 0,26	0,77	0,17 \pm 0,64	0,46
TLA	0,01 \pm 0,02	0,01 \pm 0,01	0,16	0,01 \pm 0,01	0,14
Taurin gesamt	2,30 \pm 1,54	10,38 \pm 12,09	0,02	5,73 \pm 3,71	0,01
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,02 \pm 0,05	0,22	0,09 \pm 0,21	0,12
GCA	1,75 \pm 1,05	8,55 \pm 13,03	0,05	4,63 \pm 8,84	0,23
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,74 \pm 0,62	0,21	0,57 \pm 0,43	0,03
GDCA	0,11 \pm 0,14	0,03 \pm 0,07	0,04	0,05 \pm 0,16	0,06
GLA	0,03 \pm 0,07	0,00 \pm 0,00	0,12	0,00 \pm 0,00	0,07
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	9,34 \pm 12,99	0,13	5,34 \pm 8,84	0,82
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,06	0,49	0,12 \pm 0,34	0,17
CA	0,03 \pm 0,03	0,06 \pm 0,04	0,02	0,04 \pm 0,03	0,62
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,10 \pm 0,17	0,70	0,06 \pm 0,12	0,27
DCA	0,02 \pm 0,02	0,09 \pm 0,19	0,30	0,01 \pm 0,01	0,02
LA	0,02 \pm 0,06	0,00 \pm 0,01	0,04	0,01 \pm 0,01	0,44
unkonjugierte GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,27 \pm 0,34	0,37	0,23 \pm 0,42	0,69

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Tauroolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; hell hinterlegte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

Tabelle 8 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der statistischen Berechnungen der Studiengruppen 23 -28 SSW mit 13 Frühgeborenen und 29 - 31 SSW mit 18 Frühgeborenen gegenüber der Kontrollgruppe mit 11 Kindern. Betrachtet man die Gesamt-GS-Werte, erkennt man, dass die Werte der Studiengruppen mit $20,00 \pm 20,18 \mu\text{mol/L}$ für die Gruppe 23 - 28 SSW und mit $11,30 \pm 9,91 \mu\text{mol/L}$ für die Gruppe 29 - 31 SSW signifikant höher sind als die der Kontrollgruppe ($5,28 \pm 2,13 \mu\text{mol/L}$). Die gesamten Taurin-konjugierten GS weisen in beiden Gruppen mit Werten von $10,38 \pm 12,09 \mu\text{mol/L}$ und $5,73 \pm 3,71 \mu\text{mol/L}$ ebenfalls signifikant höhere Ergebnisse auf (Kontrollgruppe: $2,30 \pm 1,54 \mu\text{mol/L}$). Auch die gesamten Glycin-konjugierten GS ($10,38 \pm 12,09 \mu\text{mol/L}$ und $5,34 \pm 8,84 \mu\text{mol/L}$) und unkonjugierten GS ($0,27 \pm 0,34 \mu\text{mol/L}$ und $5,34 \pm 8,84 \mu\text{mol/L}$) sind in beiden Gruppen höher als bei der Kontrollgruppe (Glycin-konjugiert: $2,86 \pm 1,43 \mu\text{mol/L}$; unkonjugiert: $0,13 \pm 0,11 \mu\text{mol/L}$). In den einzelnen Fraktionen sind in der Gruppe 23 - 28 SSW TCA, TCDCA, GCA und CA signifikant höher als in der Kontrollgruppe. TUDCA, TDCA, UDCA, CDCA und DCA sind ebenso höher, jedoch nicht signifikant. GUDCA, GCDCA, GCDCA, GLA und LA sind niedriger als in der Kontrollgruppe; LA als einzige auch signifikant. TLA ist als einzige GS in dieser Gruppe gleichbleibend (nicht signifikant). In der Gruppe 29 - 31 SSW sind TUDCA, TCA und TCDCA signifikant, sowie TDCA, GUDCA, GCA, UDCA und CA nicht signifikant höher im Vergleich zur Kontrollgruppe. GCDCA und DCA sind signifikant, GDCA, GLA und LA nicht-signifikant niedriger. TLA und CDCA sind gleichbleibend, liefern jedoch keine statistische Signifikanz.

Tabelle 9: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen 32 - 34 und 35 - 36 Schwangerschaftswoche der Studiengruppe. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Studiengruppe 32. - 34. SSW		Studiengruppe 35. - 36. SSW	
Anzahl	11	28		20	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Wert	MW \pm SD	p-Wert
GS-Gesamt	5,28 \pm 2,13	12,79 \pm 8,68	< 0,01	8,98 \pm 7,61	0,41
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,21 \pm 1,07	0,19	0,01 \pm 0,01	0,08
TCA	0,65 \pm 0,73	2,54 \pm 2,53	< 0,01	1,90 \pm 2,32	0,05
TCDCA	1,60 \pm 1,12	5,52 \pm 4,30	< 0,01	3,00 \pm 2,77	0,17
TDCA	0,04 \pm 0,06	0,22 \pm 0,78	0,40	0,03 \pm 0,10	0,19
TLA	0,01 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	0,06	0,01 \pm 0,01	0,26
Taurin gesamt	2,30 \pm 1,54	8,50 \pm 6,73	< 0,01	4,93 \pm 4,88	0,15
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,01 \pm 0,01	0,75	0,04 \pm 0,10	0,28
GCA	1,75 \pm 1,05	3,30 \pm 2,25	0,02	3,04 \pm 3,64	0,65
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,74 \pm 0,48	0,52	0,77 \pm 0,45	0,68
GDCA	0,11 \pm 0,14	0,04 \pm 0,16	0,01	0,02 \pm 0,06	0,02
GLA	0,03 \pm 0,07	0,01 \pm 0,05	0,67	0,00 \pm 0,00	0,91
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	4,09 \pm 2,55	0,19	3,87 \pm 3,80	0,79
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,02	0,37	0,03 \pm 0,03	0,56
CA	0,03 \pm 0,03	0,10 \pm 0,14	0,01	0,09 \pm 0,10	0,03
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,07 \pm 0,19	0,19	0,05 \pm 0,06	0,59
DCA	0,02 \pm 0,02	0,01 \pm 0,02	0,03	0,02 \pm 0,03	0,37
LA	0,02 \pm 0,06	0,01 \pm 0,03	0,56	0,01 \pm 0,02	0,96
unkonjugierte GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,20 \pm 0,24	0,67	0,18 \pm 0,17	0,41

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; hell hinterlegte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse der statistischen Berechnungen der Studiengruppen 32 -34 SSW mit 28 Frühgeborenen und 35 - 36 SSW mit 20 Frühgeborenen gegenüber der Kontrollgruppe mit 11 Kindern. Die Gesamt-GS sind in beiden Gruppen ($12,79 \pm 8,68 \mu\text{mol/L}$ und $8,98 \pm 7,61 \mu\text{mol/L}$) zwar höher als in der Kontrollgruppe ($5,28 \pm 2,13 \mu\text{mol/L}$), jedoch sind sie nur in der Gruppe 32 - 34 SSW statistisch signifikant. Ebenso verhält es sich bei den gesamten Taurin-konjugierten GS (32 - 34 SSW: $8,50 \pm 6,73 \mu\text{mol/L}$; 35 - 36 SSW: $4,93 \pm 4,88 \mu\text{mol/L}$; Kontrollgruppe: $2,30 \pm 1,54 \mu\text{mol/L}$). Die Glycin-konjugierten GS (32 - 34 SSW: $4,09 \pm 2,55 \mu\text{mol/L}$; 35 - 36 SSW: $3,87 \pm 3,80 \mu\text{mol/L}$; Kontrollgruppe: $2,86 \pm 1,43 \mu\text{mol/L}$) und unkonjugierten GS (32 - 34 SSW: $0,20 \pm 0,24 \mu\text{mol/L}$; 35 - 36 SSW: $0,18 \pm 0,17 \mu\text{mol/L}$; Kontrollgruppe: $0,13 \pm 0,11 \mu\text{mol/L}$) sind zwar allesamt höher, jedoch nicht signifikant. Sieht man sich die einzelnen GS in der 32 - 34 SSW an, weisen TCA, TCDCA, GCA und CA ein signifikant höheres Ergebnis auf als die Kontrollgruppe. TUDCA, TDCA, TLA und CDCA sind auch höher, aber nicht signifikant. GDCA und DCA sind signifikant, GUDCA, GCDCA, GLA und LA dagegen nicht-signifikant kleiner im Vergleich zur Kontrollgruppe. UDCA ist in dieser Gruppe gleichbleibend. In der Gruppe 35 -36 SSW gibt es insgesamt sehr wenige signifikante Ergebnisse. TCA, TCDCA, GCA, UDCA und CA sind höher als in der Kontrollgruppe; davon jedoch nur TCA und CA mit einer statistischen Signifikanz. TDCA, GCDCA, GDCA (signifikant), GLA, CDCA und LA weisen niedrigere Werte auf. TUDCA, TLA, GUDCA und DCA haben gleichbleibende Werte.

3.2. GS-VERTEILUNG NACH SSW

Sieht man sich in der folgenden Tabelle 10 die Aufteilung der konjugierten (Taurin, Glycin) und unkonjugierten GS auf die verschiedenen Gruppen an, erkennt man, dass der Anteil der unkonjugierten GS in allen Fraktionen verschwindend gering ist.

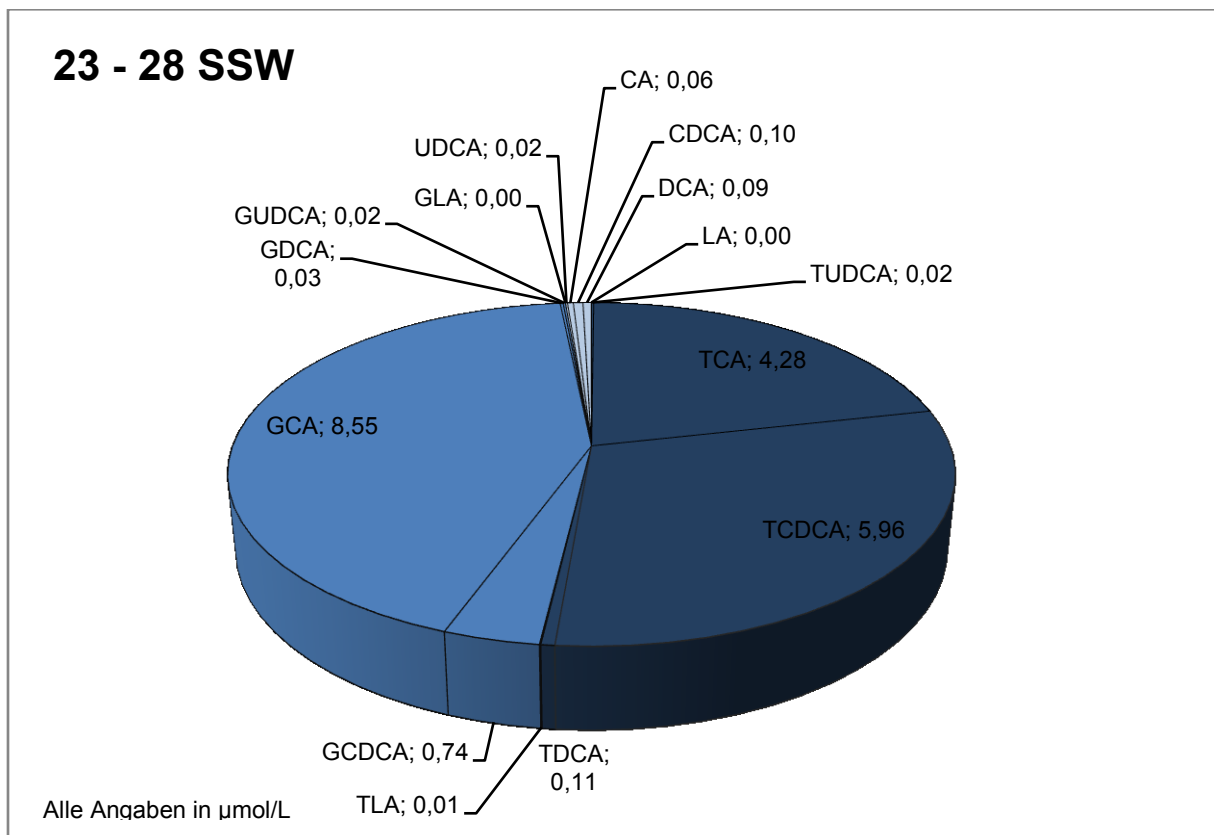
Tabelle 10: Summe der Mittelwerte der konjugierten und unkonjugierten Gallensäuren im Verhältnis zu den Gesamt-Gallensäure in $\mu\text{mol/L}$ eingeteilt nach Gestationsalter

SSW	Anzahl (Σ 79)	GS Gesamt	GS Taurin-konjugiert	GS Glycin-konjugiert	GS Unkonjugiert
23 - 28	13	20,0	10,4	9,3	0,3
29 - 31	18	11,3	5,7	5,3	0,2
32 - 34	28	12,8	8,5	4,1	0,2
35 - 36	20	9,0	4,9	3,9	0,2

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; Σ = Summe; GS= Gallensäuren

In weiterer Folge werden die 15 verschiedenen GS mittels Tortendiagrammen dargestellt, beschrieben und die einzelnen Gruppen gegenübergestellt.

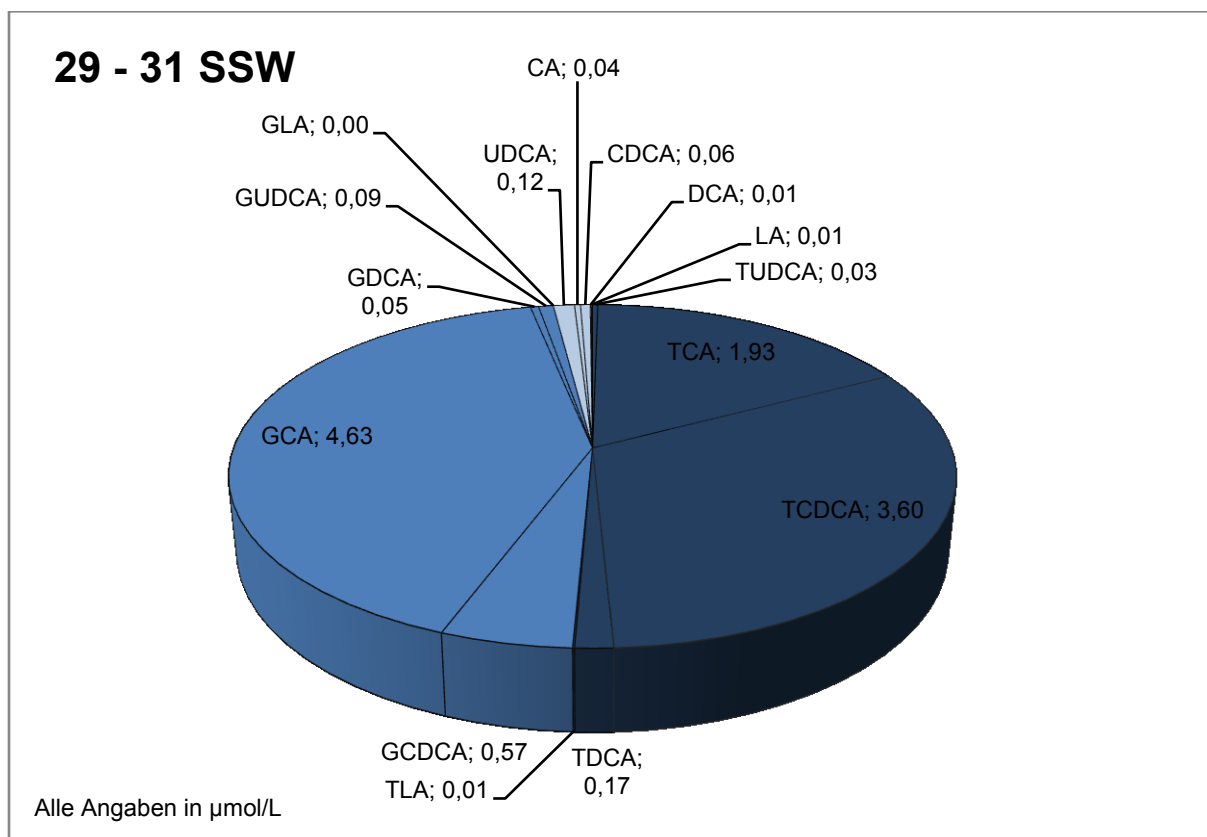
Abbildung 12: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 23. - 28. Schwangerschaftswoche



Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

In der Gruppe 23 - 28 SSW (Abbildung 12) überwiegen die Taurin-konjugierten GS gegenüber den Glycin- konjugierten GS leicht, wobei jedoch GCA mit 8,55 µmol/L den größten Anteil ausmacht. Außerdem sind TCDCA mit 5,96 µmol/L und TCA mit 4,28 µmol/L ebenfalls sehr ausgeprägt. Die unkonjugierten GS sind nur in sehr geringen Mengen nachweisbar.

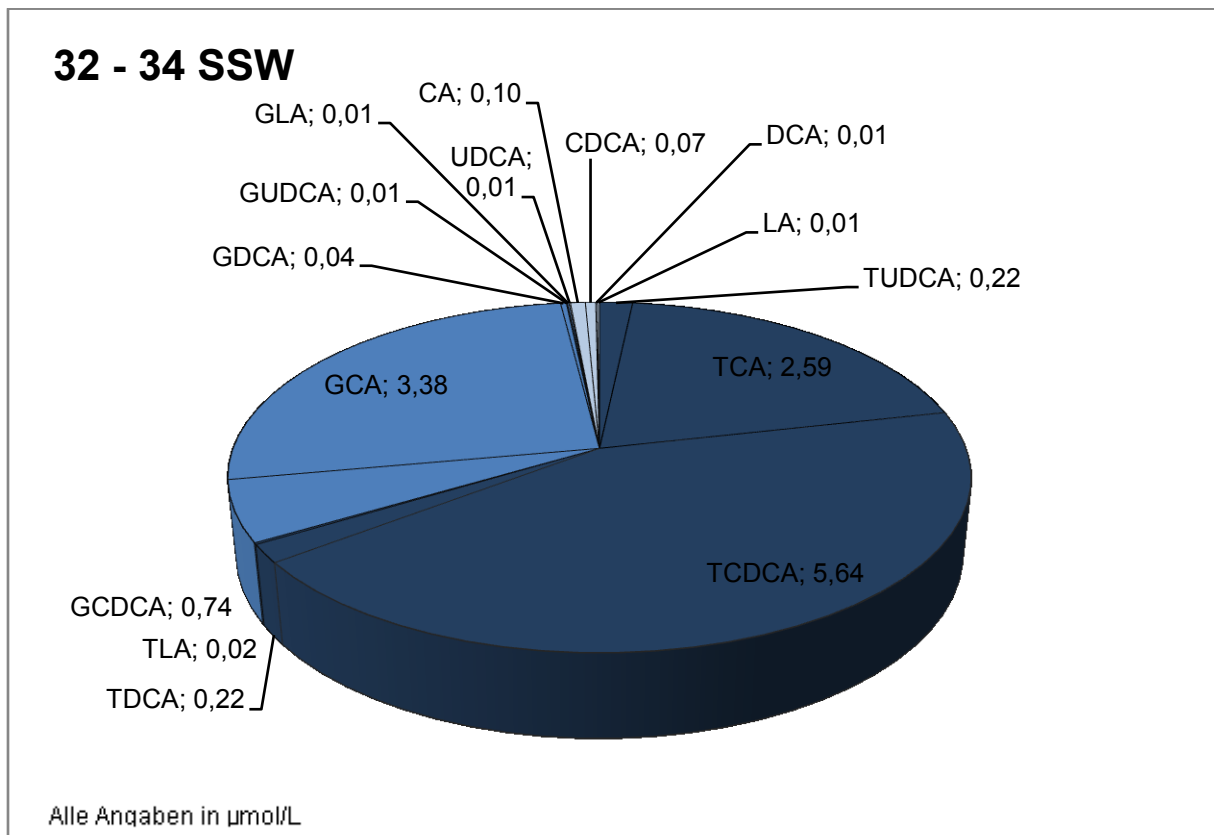
Abbildung 13: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 29. - 31. Schwangerschaftswoche



Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Tauroolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

In der dritten Gruppe (Abbildung 13) kann man vergleichend mit der 23. -28. SSW eine ähnliche Aufteilung der GS finden, wobei die Taurin-konjugierten GS mit einem Wert von 5,7 µmol/L gegenüber den Glycin-konjugierten GS mit 5,3 µmol/L mengenmäßig gering überwiegen. Auch hier kommen die unkonjugierten GS nur in geringen Spuren vor.

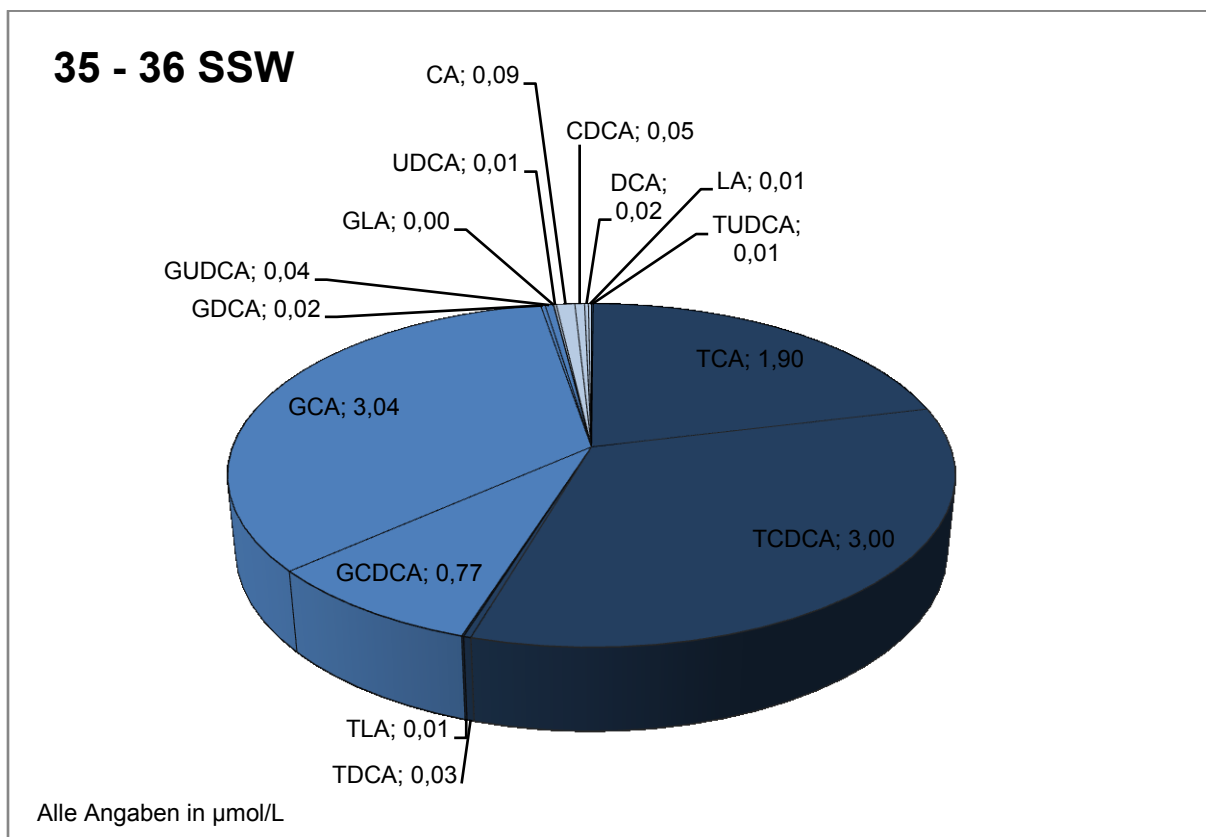
Abbildung 14: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 32. - 34. Schwangerschaftswoche



Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Tauroolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

In der Gruppe der Patienten, welche in der 32. - 34. SSW zur Welt gekommen sind (Abbildung 14), machen den Großteil die Taurin-konjugierten GS aus - allen voran TCDCA mit 5,64 µmol/L, gefolgt von TCA mit 2,59 µmol/L. Die Glycin-konjugierten Formen nehmen in dieser Gruppe einen geringeren Stellenwert ein, wobei GCA mit 3,38 µmol/L noch am stärksten vertreten ist. Der Anteil der unkonjugierten GS ist auch in dieser Gruppe verschwindend gering.

Abbildung 15: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung in der 35. - 36. Schwangerschaftswoche



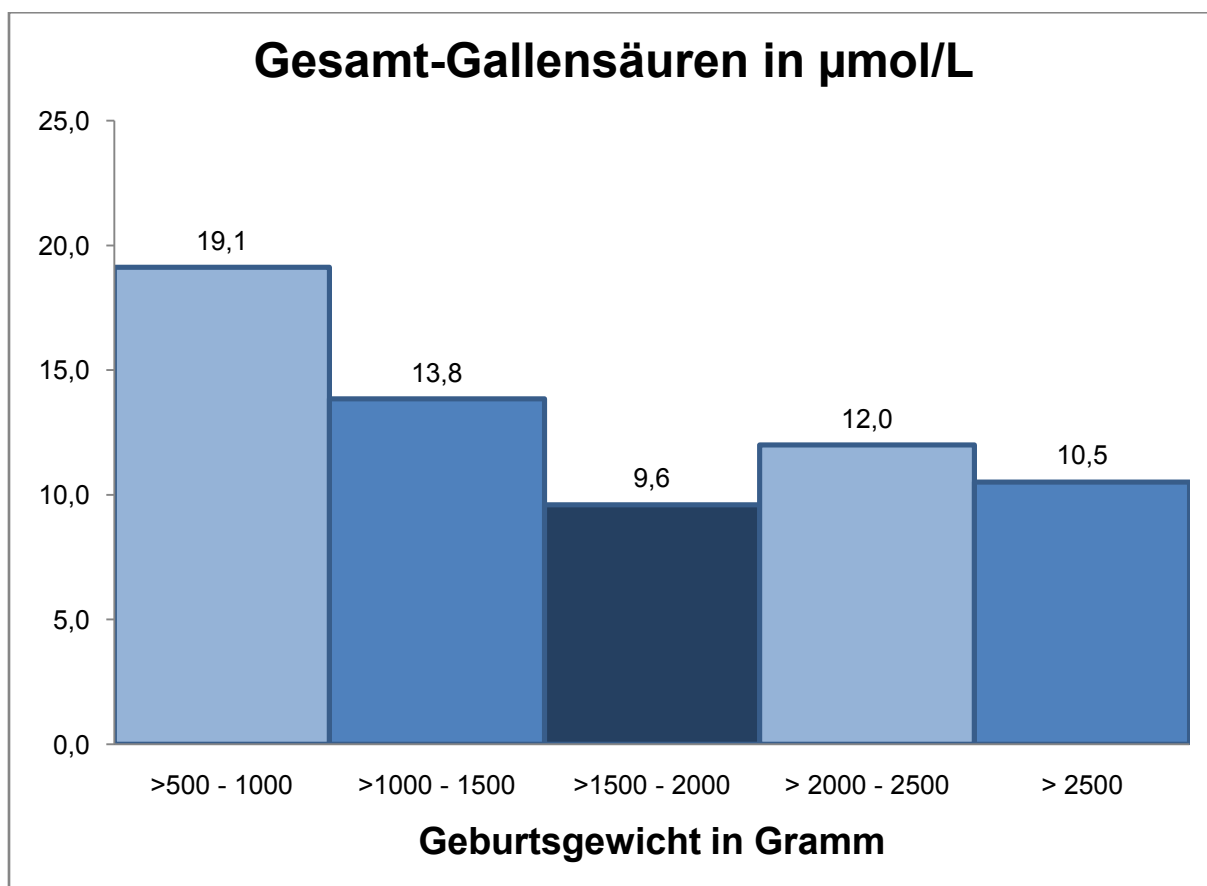
Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

Auch in der letzten Gruppe (Abbildung 15) zeigt sich ein ähnliches Bild: Die konjugierten Formen überwiegen gegenüber den Glycin-konjugierten und den unkonjugierten GS, wobei TCDCA mit 3,00 µmol/L, TCA mit 1,90 µmol/L, GCA mit 3,04 µmol/L und GCDCA mit 0,77 µmol/L hervortreten. Die unkonjugierten GS weisen wiederum nur geringe Werte auf.

3.3. GESAMT-GS NACH GG

Die nachfolgende Abbildung 16 zeigt die Mittelwerte aller gemessenen GS an. Wie zuvor bei der Einteilung nach SSW kann man auch hier eine Abnahme der Werte in Zusammenhang mit der Höhe des GG erkennen. Die Gruppe der Frühgeborenen mit dem geringsten Gewicht weist die höchsten Werte auf. Diese sind mehr als dreifach so hoch wie die Werte der Kontrollgruppe. Es gibt einen proportionalen Bezug zwischen GG und SSW- je früher Kinder geboren werden, desto niedriger ist das Gewicht bei der Geburt.

Abbildung 16: Grafische Darstellung der Summe aller gemessenen GS-Werte nach dem bei der Geburt gemessenen Gewicht.



In der Tabelle 11 sind die Mittelwerte mit deren Standardabweichungen und 95 % - Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze nach den Gruppen mit dem jeweiligen GG aufgelistet.

Tabelle 11: Darstellung der einzelnen Gruppen nach Geburtsgewicht mit Gallensäure-Mittelwerten, Standardabweichung und 95 % - Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze in $\mu\text{mol/L}$.

GG	Anzahl (Σ 79)	Mittelwert	Standardabweichung	95 % - Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
>500 g - 1000 g	12	19,1	21,1	5,7	32,6
>1000 g - 1500 g	16	13,9	11,2	7,9	19,8
>1500 g - 2000 g	15	9,6	5,3	6,9	13,1
> 2000 g - 2500 g	19	12,0	8,1	8,0	15,9
> 2500 g	17	10,5	9,9	5,4	15,6

Legende: GG= Geburtsgewicht; Σ = Summe; g= Gramm

Bei der anschließenden explorativen Datenanalyse wurden die in den folgenden Tabellen (Tabelle 12, Tabelle 13 und Tabelle 14) dargestellten Mittelwerte, Standardabweichungen und statistischen Signifikanzen für die Gruppen nach Geburtsgewicht errechnet. Auch hier wurde aufgrund der fehlenden Normalverteilung der Proben der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt.

Tabelle 12: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen > 500 g - 1000 g und > 1000 g - 1500 g der Studiengruppe. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Studiengruppe > 500 g - 1000 g		Studiengruppe > 1000 g - 1500 g	
Anzahl	11	12		16	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Wert	MW \pm SD	p-Wert
GS-Gesamt	5,30 \pm 2,13	19,13 \pm 21,13	0,07	13,85 \pm 11,20	0,01
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,03 \pm 0,06	0,20	0,02 \pm 0,05	0,09
TCA	0,65 \pm 0,73	4,27 \pm 5,54	0,05	2,07 \pm 1,40	0,01
TCDCA	1,60 \pm 1,12	5,26 \pm 7,17	0,09	4,96 \pm 4,04	0,01
TDCA	0,04 \pm 0,06	0,01 \pm 0,03	0,33	0,09 \pm 0,24	0,63
TLA	0,01 \pm 0,02	0,01 \pm 0,02	0,23	0,01 \pm 0,01	0,10
Taurin gesamt	2,26 \pm 1,54	9,57 \pm 12,47	0,04	7,14 \pm 5,04	< 0,01
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,03 \pm 0,05	0,17	0,05 \pm 0,15	0,30
GCA	1,75 \pm 1,05	8,53 \pm 13,67	0,12	5,79 \pm 9,30	0,04
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,67 \pm 0,60	0,14	0,67 \pm 0,49	0,11
GDCA	0,11 \pm 0,14	0,04 \pm 0,07	0,11	0,01 \pm 0,02	0,01
GLA	0,03 \pm 0,07	0,00 \pm 0,00	0,12	0,00 \pm 0,00	0,08
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	9,27 \pm 13,63	0,30	6,52 \pm 9,30	0,26
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,03 \pm 0,06	0,21	0,07 \pm 0,27	0,50
CA	0,03 \pm 0,03	0,06 \pm 0,04	0,03	0,04 \pm 0,04	0,31
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,11 \pm 0,17	0,90	0,06 \pm 0,13	0,25
DCA	0,02 \pm 0,02	0,09 \pm 0,20	0,35	0,01 \pm 0,01	0,02
LA	0,02 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01	0,17	0,00 \pm 0,01	0,20
Unkonjugierte GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,29 \pm 0,35	0,22	0,19 \pm 0,39	0,59

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; hell hinterlegte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

In Tabelle 12 sind die statistischen Ergebnisse der Studiengruppen mit einem GG von > 500 g - 1000 g mit 12 Frühgeborenen und > 1000 g - 1500 g mit 16 Frühgeborenen gegenüber der Kontrollgruppe mit 11 Kindern dargestellt. Die Gesamt-GS sind gegenüber der Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von $5,30 \pm 2,13$ $\mu\text{mol/L}$ in beiden Studiengruppen erhöht (> 500 g - 1000 g: $19,13 \pm 21,13$ $\mu\text{mol/L}$; > 1000 g - 1500 g: $13,85 \pm 11,20$ $\mu\text{mol/L}$), jedoch waren diese Ergebnisse nur in der zweiten Gruppe signifikant. Die gesamten Taurin-konjugierten GS sind hingegen in beiden Gruppen signifikant erhöht (> 500 g - 1000 g: $9,57 \pm 12,47$ $\mu\text{mol/L}$; > 1000 g - 1500 g: $7,14 \pm 5,04$ $\mu\text{mol/L}$; Kontrollgruppe: $2,26 \pm 1,54$ $\mu\text{mol/L}$). Auch die Werte der Glycin-konjugierten GS mit $9,27 \pm 13,63$ $\mu\text{mol/L}$ und $6,52 \pm 9,30$ $\mu\text{mol/L}$ und unkonjugierten GS mit $0,29 \pm 0,35$ $\mu\text{mol/L}$ und $0,19 \pm 0,39$ $\mu\text{mol/L}$ sind höher gegenüber der Kontrollgruppe (Glycin-konjugierten GS: $2,86 \pm 1,43$ $\mu\text{mol/L}$; unkonjugierten GS: $0,13 \pm 0,11$ $\mu\text{mol/L}$), ergaben jedoch keine statistische Signifikanz. In den einzelnen GS-Faktionen der Gruppe > 500 g - 1000 g sind TCA und CA signifikant und TUDCA, TCDCA, GCA, UDCA, CDCA und DCA nicht signifikant höher als in der Kontrollgruppe. TDCA, GUDCA, GCDCA, GDCA, GLA und LA sind niedriger, TLA ist gleichbleibend, jedoch allesamt ohne statistische Signifikanz. In der Studiengruppe > 1000 g - 1500 g weisen TCA, TCDCA und GCA signifikant höhere Werte auf. TUDCA, TDCA, GUDCA, UDCA und CA sind ebenfalls erhöht. GCDCA, GDCA, GLA, DCA und LA hingegen sind niedriger als in der Kontrollgruppe, davon GDCA und DCA signifikant. TLA und CDCA weisen gegenüber der Kontrollgruppe gleich hohe Werte auf.

Tabelle 13: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen $> 1500 \text{ g} - 2000 \text{ g}$ und $> 2000 \text{ g} - 2500 \text{ g}$ der Studiengruppe. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Studiengruppe > 1500 g - 2000 g		Studiengruppe > 2000 g - 2500 g	
Anzahl	11	15		19	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Wert	MW \pm SD	p-Wert
GS-Gesamt	5,30 \pm 2,13	9,64 \pm 5,31	0,06	11,94 \pm 8,14	0,01
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,02 \pm 0,03	0,12	0,31 \pm 1,30	0,06
TCA	0,65 \pm 0,73	1,98 \pm 1,53	0,01	2,22 \pm 2,18	0,01
TCDCA	1,60 \pm 1,12	3,75 \pm 2,32	0,01	4,57 \pm 3,62	< 0,01
TDCA	0,04 \pm 0,06	0,25 \pm 0,73	0,46	0,27 \pm 0,93	0,58
TLA	0,01 \pm 0,02	0,01 \pm 0,01	0,22	0,01 \pm 0,02	0,11
Taurin gesamt	2,26 \pm 1,54	6,00 \pm 3,55	< 0,01	7,39 \pm 6,10	< 0,01
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,05 \pm 0,18	0,26	0,03 \pm 0,10	0,44
GCA	1,75 \pm 1,05	2,61 \pm 2,00	0,38	3,59 \pm 3,45	0,05
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,67 \pm 0,35	0,44	0,68 \pm 0,40	0,51
GDCA	0,11 \pm 0,14	0,05 \pm 0,17	0,03	0,05 \pm 0,19	0,03
GLA	0,03 \pm 0,07	0,01 \pm 0,06	1,00	0,00 \pm 0,01	0,47
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	3,39 \pm 2,22	0,84	4,35 \pm 3,64	0,25
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,07 \pm 0,26	0,39	0,01 \pm 0,02	0,47
CA	0,03 \pm 0,03	0,06 \pm 0,05	0,07	0,11 \pm 0,16	0,03
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,08 \pm 0,25	0,11	0,05 \pm 0,07	0,41
DCA	0,02 \pm 0,02	0,01 \pm 0,02	0,11	0,01 \pm 0,02	0,11
LA	0,02 \pm 0,05	0,02 \pm 0,03	0,75	0,01 \pm 0,02	0,47
Unkonjugierte GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,24 \pm 0,34	0,76	0,19 \pm 0,21	0,85

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; hell hinterlegte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

Tabelle 13 stellt die Ergebnisse der statistischen Berechnungen der Gruppe > 1500 g - 2000 g mit 15 Frühgeborenen, sowie der Gruppe > 2000 g - 2500 g mit 19 Frühgeborenen gegenüber der Kontrollgruppe mit 11 Kindern dar. Auch hier kommt es wieder zu höheren Gesamt-GS- Werten (> 1500 g - 2000 g: $9,64 \pm 5,31 \mu\text{mol/L}$; > 2000 g - 2500 g: $11,94 \pm 8,14 \mu\text{mol/L}$) gegenüber der Kontrollgruppe ($5,30 \pm 2,13 \mu\text{mol/L}$), diese Ergebnisse sind jedoch nur bei den Frühgeborenen mit einem GG von > 2000 g - 2500 g statistisch signifikant. Die Taurin-konjugierten GS weisen in beiden Studiengruppe signifikant höhere Werte auf ($6,00 \pm 3,55 \mu\text{mol/L}$ und $7,39 \pm 6,10 \mu\text{mol/L}$; Kontrollgruppe: $2,26 \pm 1,54 \mu\text{mol/L}$). Auch die Glycin-konjugierten GS mit $3,39 \pm 2,22 \mu\text{mol/L}$ und $4,35 \pm 3,64 \mu\text{mol/L}$ und unkonjugierten GS mit $0,24 \pm 0,34 \mu\text{mol/L}$ und $0,19 \pm 0,21 \mu\text{mol/L}$ sind höher gegenüber der Kontrollgruppe (Glycin-konjugierten GS: $2,86 \pm 1,43 \mu\text{mol/L}$; unkonjugierten GS: $0,13 \pm 0,11 \mu\text{mol/L}$), ergaben jedoch keine statistische Signifikanz. Betrachtet man die einzelnen GS der Gruppe mit einem GG von > 1500 g - 2000 g genauer, sind TUDCA; TDCA, GUDCA, GCA, UDCA, CA und CDCA höher, TCA und TCDCA sogar signifikant höher, als in der Kontrollgruppe. GDCA weist einen signifikant niedrigeren Wert auf, ebenso GCDCA, GLA und DCA, jedoch ohne statistische Signifikanz. TLA und LA weisen dieselben hohen Werte wie die Kontrollgruppe auf. In der Gruppe > 2000 g - 2500 g sind TCA, TCDCA, GCA und CA signifikant und TUDCA und TDCA nicht-signifikant höher. GUDCA, GCDCA, GDCA, GLA, CDCA, DCA und LA haben niedrigere Werte als in der Kontrollgruppe berechnet wurde (davon GDCA als einzige signifikant). TLA und UDCA haben gleich hohe Werte wie die Kontrollgruppe.

Tabelle 14: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und der Gruppe > 2500 g der Studiengruppe. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Studiengruppe > 2500 g	
Anzahl	11	17	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Wert
GS-Gesamt	5,30 \pm 2,13	10,52 \pm 9,90	0,31
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,01 \pm 0,02	0,28
TCA	0,65 \pm 0,73	2,54 \pm 3,28	0,04
TCDCA	1,60 \pm 1,12	4,20 \pm 3,62	0,14
TDCA	0,04 \pm 0,06	0,03 \pm 0,11	0,22
TLA	0,01 \pm 0,02	0,01 \pm 0,02	0,11
Taurin gesamt	2,26 \pm 1,54	6,79 \pm 7,73	0,11
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,02 \pm 0,04	0,56
GCA	1,75 \pm 1,05	2,68 \pm 2,25	0,44
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,83 \pm 0,60	0,53
GDCA	0,11 \pm 0,14	0,03 \pm 0,07	0,06
GLA	0,03 \pm 0,07	0,00 \pm 0,00	0,81
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	3,55 \pm 2,66	0,64
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,02	0,35
CA	0,03 \pm 0,03	0,09 \pm 0,11	0,03
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,04 \pm 0,05	0,62
DCA	0,02 \pm 0,02	0,02 \pm 0,03	0,20
LA	0,02 \pm 0,05	0,02 \pm 0,02	0,86
Unkonjugierte GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,18 \pm 0,17	0,34

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; hell hinterlegte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

Die in Tabelle 14 angegebenen Werte betreffen die statistische Berechnung der Studiengruppe mit einem GG von > 2500 g mit 17 Frühgeborenen und der Kontrollgruppe mit 11 Kindern. Diese Gruppe weist generell sehr wenige signifikante Ergebnisse auf. Die Gesamt-GS- Werte ($10,52 \pm 9,90 \mu\text{mol/L}$), Taurin-konjugierten ($6,79 \pm 7,73 \mu\text{mol/L}$), Glycin-konjugierten ($3,55 \pm 2,66 \mu\text{mol/L}$) und unkonjugierten GS ($0,18 \pm 0,17$) sind allesamt höher gegenüber der Kontrollgruppe (GS-Gesamt: $5,30 \pm 2,13 \mu\text{mol/L}$; Taurin-konjugiert: $2,26 \pm 1,54 \mu\text{mol/L}$; Glycin-konjugiert: $2,86 \pm 1,43 \mu\text{mol/L}$; unkonjugiert: $0,13 \pm 0,11 \mu\text{mol/L}$), jedoch ohne statistische Signifikanz. In den einzelnen GS-Fractionen sind TCA und CA signifikant höher als in der Kontrollgruppe. TCDCA und GCA sind höher; TDCA, GUDCA, GCDCA, GDCA, GLA und CDCA niedriger; TUDCA, TLA, UDCA, DCA und LA gleichbleibend gegenüber der Kontrollgruppe.

3.4. GS-VERTEILUNG NACH GG

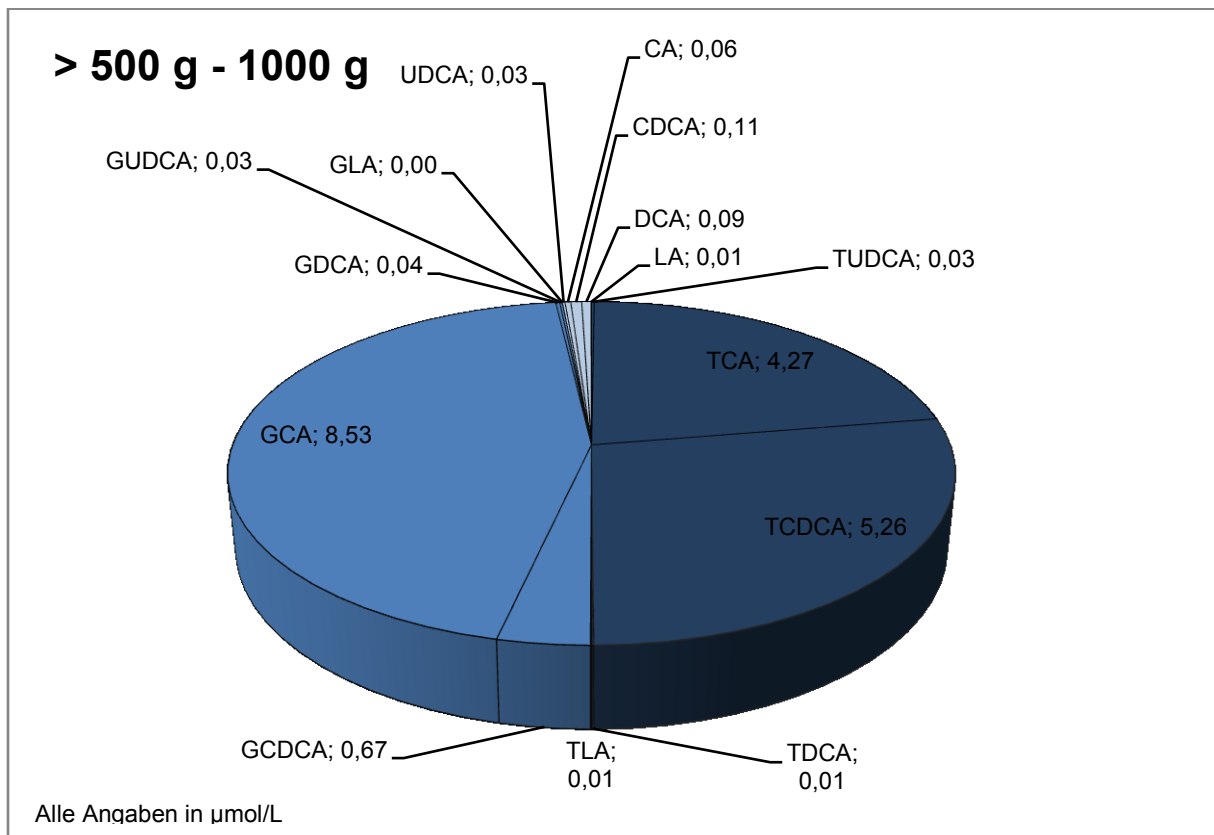
Noch eindeutiger als bei der Einteilung nach SSW ist hier zu erkennen, dass die Taurin-konjugierten GS durchgehend den größeren Anteil ausmachen, dicht gefolgt von den Glycin-konjugierten GS. Je höher das GG ist, umso weiter klaffen die Werte zwischen den konjugierten GS auseinander. Die unkonjugierten GS treten wiederum nur in äußerst geringen Mengen auf. Wie bereits bei der Einteilung nach SSW werden die einzelnen Gruppen grafisch dargestellt und miteinander verglichen.

Tabelle 15: Summe der Mittelwerte der konjugierten und unkonjugierten Gallensäuren im Verhältnis zur Gesamt-Gallensäure in $\mu\text{mol/L}$ eingeteilt nach Geburtsgewicht.

GG	Anzahl ($\Sigma 79$)	GS Gesamt	GS Taurin- konjugiert	GS Glycin- konjugiert	GS unkonjugiert
> 500 g -1000 g	12	19,1	9,6	9,3	0,3
>1000 g -1500 g	16	13,9	7,1	6,5	0,2
>1500 g -2000 g	15	9,6	6,2	3,5	0,3
> 2000 g -2500 g	19	12,0	7,4	4,4	0,2
> 2500 g	17	10,5	6,8	3,6	0,2

Legende: GG= Geburtsgewicht; Σ = Summe; g= Gramm; GS= Gallensäuren

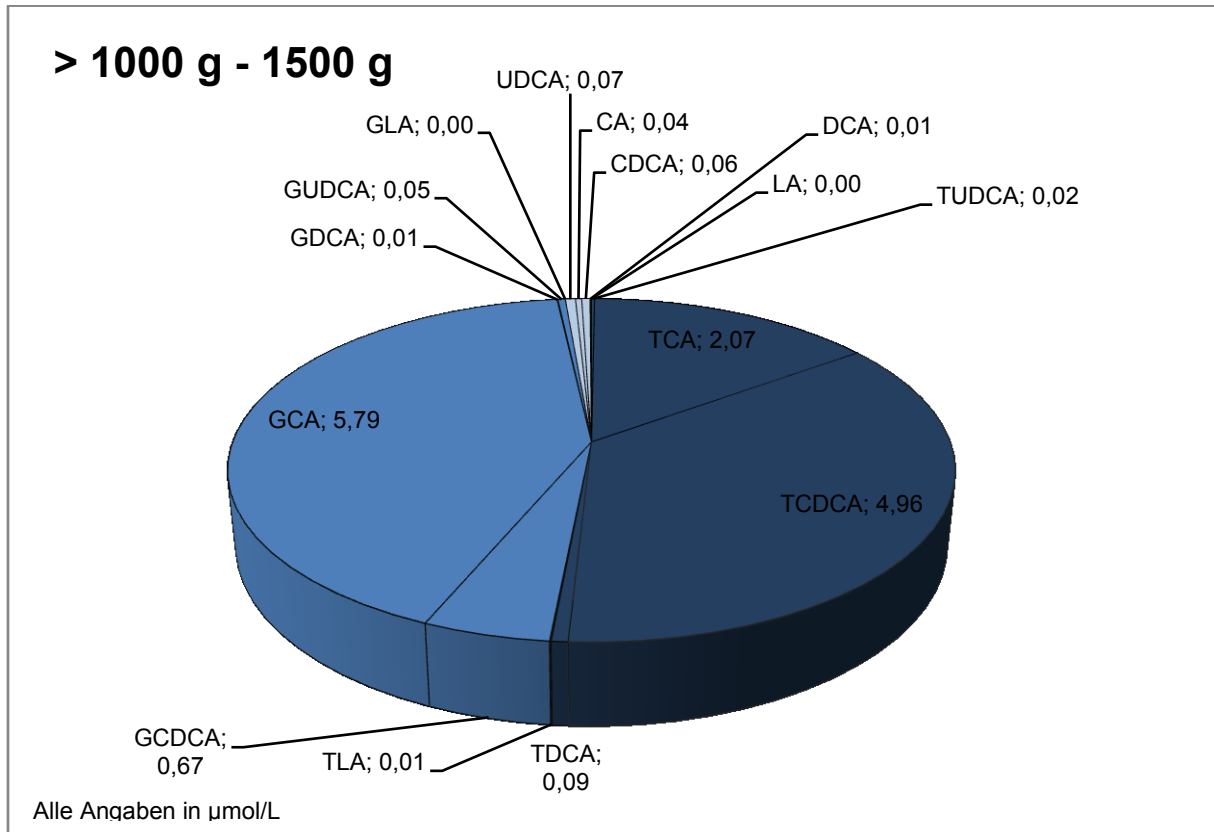
Abbildung 17: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von > 500 - 1000 g



Legende: g= Gramm; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

Bei einem GG von > 500 - 1000 g (Abbildung 17) sind die Werte der beiden konjugierten Fraktionen Taurin und Glycin annähernd ausgeglichen. Obwohl die Taurin-konjugierten in ihrer Summe gegenüber den anderen überwiegen, weist GCA mit einem Wert von 8,53 µmol/L den mengenmäßig höchsten GS-Wert auf. In dem Teil der Taurin-konjugierten GS treten TCDCA mit einem Wert von 5,26 µmol/L und TCA mit 4,27 µmol/L hervor. Die unkonjugierten GS sind in dieser Gruppe noch am stärksten vertreten, fallen aber mit einem Wert von 0,3 µmol/L (Summe aller Mittelwerte der unkonjugierten GS) nicht wesentlich ins Gewicht.

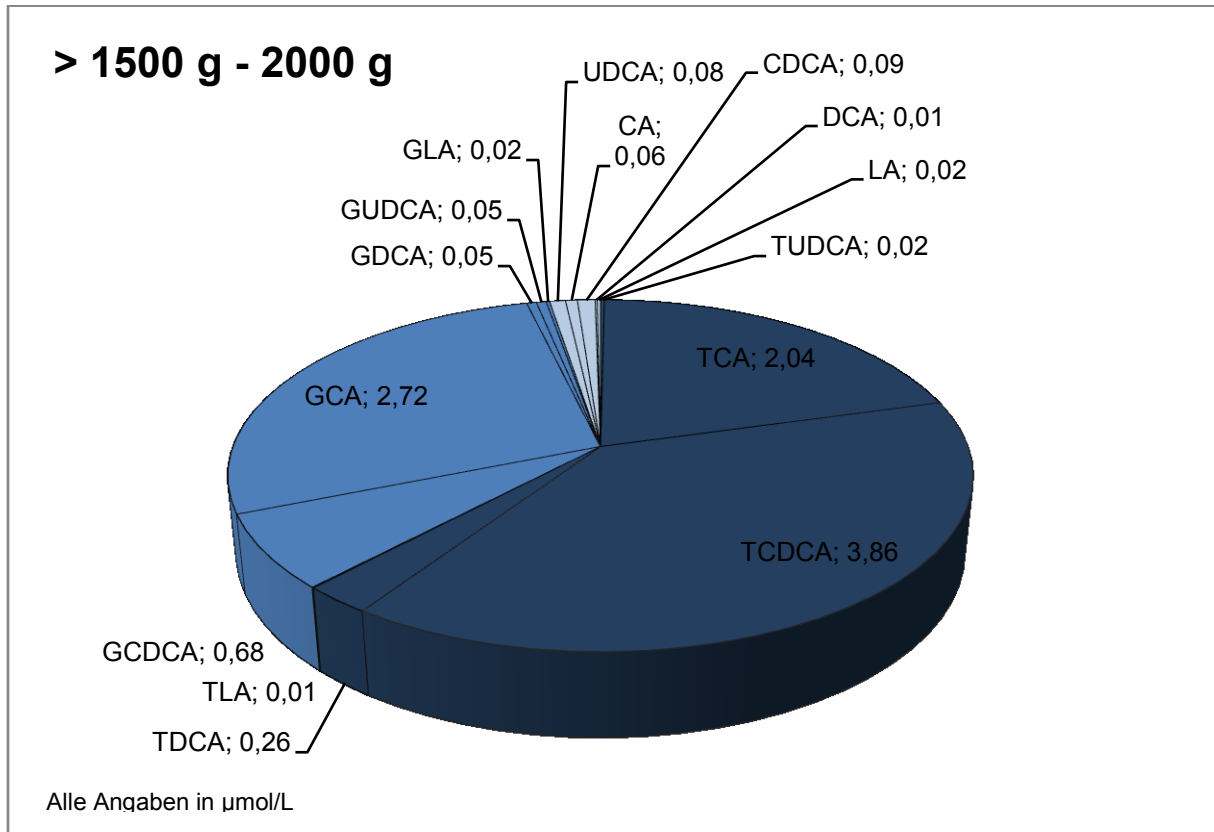
Abbildung 18: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von > 1000 - 1500 g



Legende: g= Gramm; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

Frühgeborene mit einem GG von > 1000 g bis 1500 g (Abbildung 18) ähneln von den Werten ihren Kollegen mit > 500 - 1000 g. Der Anteil der Taurin-konjugierten GS wird gering größer, ansonsten zeigt sich dasselbe Bild wie in Tabelle 17: GCA (5,79 µmol/L) mit der höchsten Konzentration, gefolgt von TCDCA (4,96 µmol/L) und TCA (2,07 µmol/L). Die Fraktion der unkonjugierten GS weist verhältnismäßig die geringsten Werte auf.

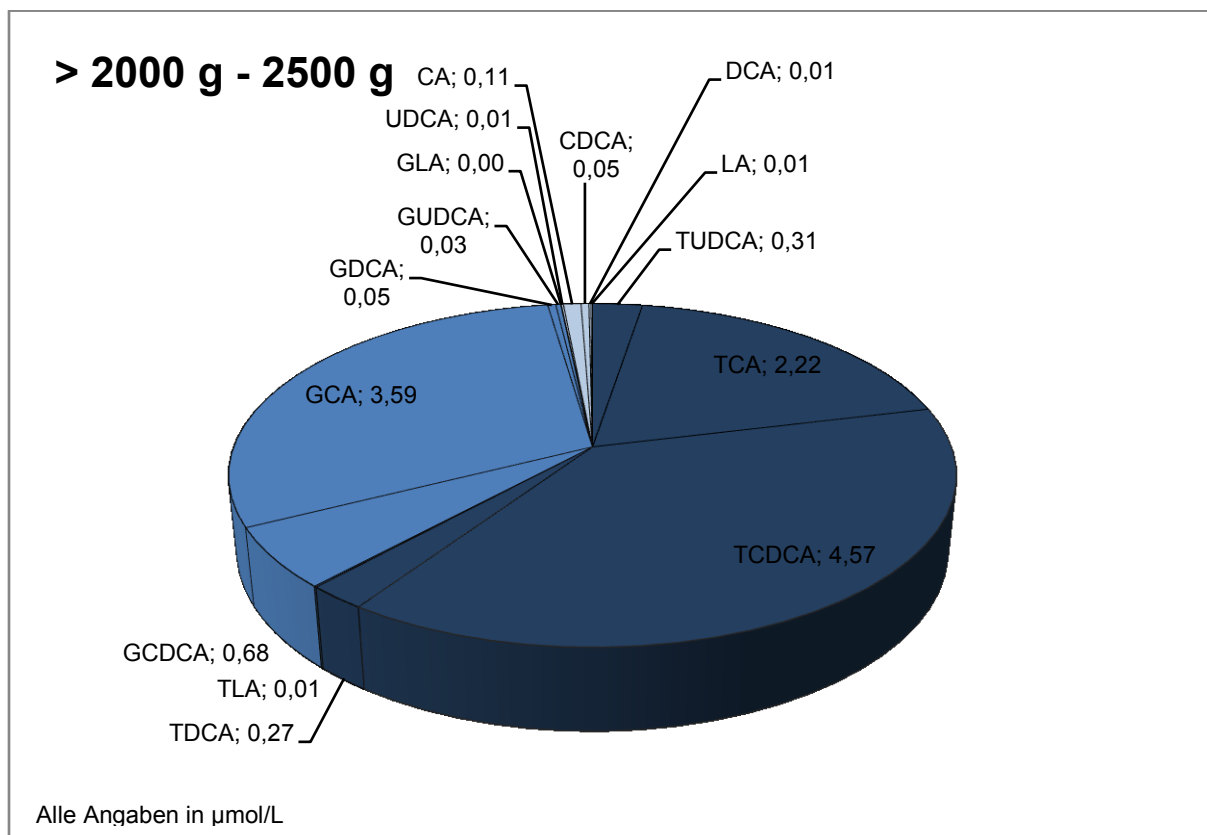
Abbildung 19: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von > 1500 - 2000 g



Legende: g= Gramm; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glyocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glyochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Tauroolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

In der dritten Gruppe (Abbildung 19) verschieben sich die Werte eindeutig in Richtung der Taurin-konjugierten GS. Hierbei weist den höchsten Wert erstmals TCDCA (3,86 μmol/L) auf; erst danach folgt GCA mit 2,72 μmol/L und TCA mit 2,04 μmol/L. Die unkonjugierten GS sind wie zuvor nur in kleinsten Mengen enthalten.

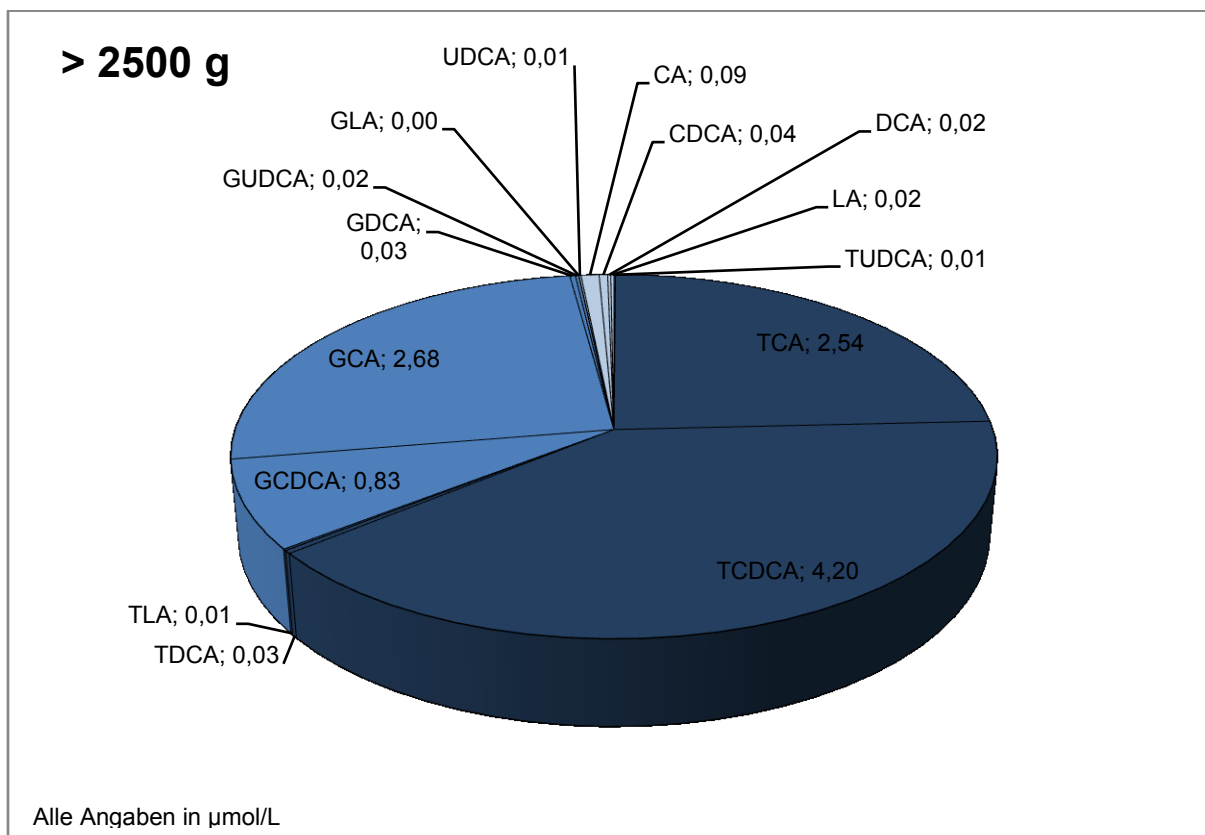
Abbildung 20: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von > 2000 - 2500 g



Legende: g= Gramm; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

Bei einem GG von > 2000 - 2500 g (Abbildung 20) überwiegen die Taurin-konjugierten GS mit einem Wert von insgesamt 7,4 μmol/L gegenüber den Glycin-konjugierten GS mit 4,4 μmol/L. Ansonsten zeigt sich dasselbe Bild wie in der Gruppe mit einem GG von 1500 g bis 2000 g.

Abbildung 21: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einem Geburtsgewicht von > 2500 g



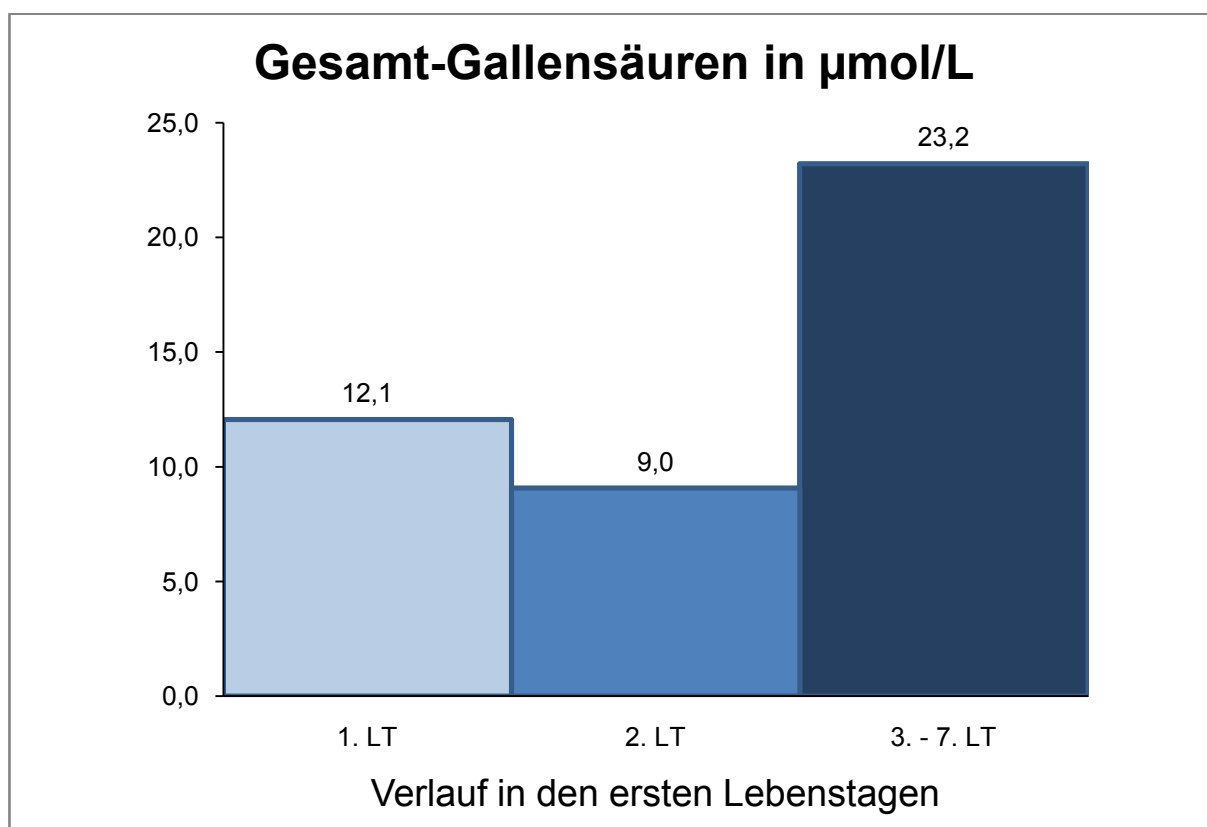
Legende: g= Gramm; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

In der letzten Gruppe (Abbildung 21) ist der Mittelwert aller Taurin-konjugierten GS beinahe doppelt so hoch wie der der Glycin-konjugierten. Außerdem ist der Unterschied zwischen GCA und TCA in der Höhe der Werte nur mehr minimal. Die unkonjugierten GS weisen im Vergleich zu allen Gruppen hier die kleinsten Werte auf.

3.5. GESAMT-GS NACH ABNAHMEZEITPUNKT

Die folgende Abbildung 22 zeigt auch hier wieder die Mittelwerte der gesamten GS in den einzelnen Gruppen. Sofort fällt auf, dass die GS-Konzentrationen am zweiten Tag nach der Geburt im Vergleich zum ersten Tag etwas absinken, dann jedoch drei bis sieben Tage nach der Geburt in die Höhe schnellen. Alle Gruppen weisen erhöhte Werte gegenüber der Kontrollgruppe auf. Die am dritten bis siebenden LT gemessenen Werte sind beinahe viermal so hoch. Tabelle 16 schlüsselt die Abnahmezeitpunkte mit den dazugehörigen GS-Mittelwerten, Standardabweichungen und 95 % - Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze auf.

Abbildung 22: Grafische Darstellung der Summe aller gemessenen GS-Werte nach Abnahmezeitpunkt.



Legende: LT= Lebenstag

Tabelle 16: Darstellung der einzelnen Gruppen nach Abnahmezeitpunkt mit Gallensäure-Mittelwerten, Standardabweichung und 95 % - Konfidenzintervallen mit Unter- und Obergrenze in $\mu\text{mol/L}$.

Abnahmezeitpunkt	Anzahl ($\Sigma 79$)	Mittelwert	Standardabweichung	95 % - Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
1. LT	16	12,1	11,3	6,1	18,1
2. LT	46	9,0	6,2	7,2	11,0
3.-7. LT	17	23,2	16,9	14,5	31,9

Legende: LT= Lebenstag; Σ = Summe

Tabelle 17 und Tabelle 18 Tabelle 18 stellen die bei der explorativen Datenanalyse errechneten Mittelwerte, Standardabweichungen und statistischen Signifikanzen für die Gruppen nach Abnahmezeitpunkt in den ersten sieben Lebenstagen dar. Aufgrund der fehlenden Normalverteilung der Proben wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt.

Tabelle 17: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und den Gruppen 1. und 2. Lebenstag der Studiengruppe. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Studiengruppe 1. Lebenstag		Studiengruppe 2. Lebenstag	
Anzahl	11	16		46	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Wert	MW \pm SD	p-Wert
GS-Gesamt	5,30 \pm 2,13	12,06 \pm 11,26	0,08	8,99 \pm 11,26	0,05
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,02 \pm 0,05	0,12	0,01 \pm 0,01	0,22
TCA	0,65 \pm 0,73	1,42 \pm 1,18	0,04	1,56 \pm 1,17	0,01
TCDCA	1,60 \pm 1,12	3,77 \pm 3,59	0,11	3,74 \pm 3,27	0,01
TDCA	0,45 \pm 0,06	0,04 \pm 0,11	0,45	0,05 \pm 0,19	0,18
TLA	0,01 \pm 0,02	0,01 \pm 0,01	0,25	0,01 \pm 0,02	0,15
Taurin gesamt	2,30 \pm 1,54	5,25 \pm 4,48	0,06	5,37 \pm 4,16	0,01
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,09 \pm 0,22	0,17	0,03 \pm 0,07	0,43
GCA	1,75 \pm 1,05	5,80 \pm 9,33	0,09	2,69 \pm 2,65	0,29
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,66 \pm 0,44	0,28	0,66 \pm 0,40	0,17
GDCA	0,11 \pm 0,14	0,01 \pm 0,02	0,01	0,02 \pm 0,06	0,01
GLA	0,03 \pm 0,07	0,00 \pm 0,00	0,08	0,01 \pm 0,04	0,68
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	6,56 \pm 9,27	0,13	3,40 \pm 2,82	0,95
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,14 \pm 0,36	0,25	0,01 \pm 0,04	0,39
CA	0,03 \pm 0,03	0,04 \pm 0,04	0,60	0,08 \pm 0,11	0,21
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,05 \pm 0,13	0,10	0,08 \pm 0,17	0,53
DCA	0,02 \pm 0,02	0,01 \pm 0,02	0,05	0,04 \pm 0,11	0,13
LA	0,02 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01	0,46	0,01 \pm 0,02	0,54
unkonjugiert GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,25 \pm 0,44	0,96	0,22 \pm 0,26	0,44

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; hell hinterlegte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

Tabelle 17 zeigt die Ergebnisse der statistischen Berechnungen der Studiengruppen mit dem Zeitpunkt der Blutabnahme am 1. LT mit 16 Frühgeborenen und am 2. LT mit 46 Frühgeborenen gegenüber der Kontrollgruppe mit 11 Kindern. Hinsichtlich der Gesamt-GS weisen beide Studiengruppen höhere Werte auf (1. LT: $12,06 \pm 11,26$ $\mu\text{mol/L}$; 2. LT: $8,99 \pm 11,26$ $\mu\text{mol/L}$) gegenüber der Kontrollgruppe ($5,30 \pm 2,13$ $\mu\text{mol/L}$), jedoch sind nur die Ergebnisse am 2. LT signifikant. Ebenso verhält es sich mit den Taurin-konjugierten GS (1. LT: $5,25 \pm 4,48$ $\mu\text{mol/L}$; 2. LT: $5,37 \pm 4,16$ $\mu\text{mol/L}$; Kontrollgruppe: $2,30 \pm 1,54$ $\mu\text{mol/L}$). Die Glycin-konjugierten GS ($6,56 \pm 9,27$ mmol/L und $3,40 \pm 2,82$ $\mu\text{mol/L}$) und die unkonjugierten GS ($0,25 \pm 0,44$ $\mu\text{mol/L}$ und $0,22 \pm 0,26$ $\mu\text{mol/L}$) sind auch höher als in der Kontrollgruppe (Glycin-konjugiert: $2,86 \pm 1,43$ $\mu\text{mol/L}$; unkonjugiert: $0,13 \pm 0,11$ $\mu\text{mol/L}$), aber statistisch nicht signifikant. Betrachtet man die einzelnen GS am 1. LT, erkennt man, dass TUDCA, TCDCA, GUDCA, GCA, UDCA und CA höher, TCA signifikant höher als in der Kontrollgruppe sind. Im Gegensatz dazu sind TDCA, GCDCA, GLA, CDCA und LA, bzw. GDCA und DCA sogar signifikant niedriger zur Kontrollgruppe. TLA weist dieselben Werte auf. Am 2. LT sind TCA und TCDCA signifikant höher; GCA, CA, CDCA und DCA sind auch erhöht, jedoch ohne statistische Signifikanz. TDCA, GUDCA, GCDCA, GDCA, GLA, und LA sind niedriger als in der Kontrollgruppe (davon GDCA signifikant). TUDCA, TLA und UDCA weisen dieselben Werte auf wie in der Kontrollgruppe.

Tabelle 18: Übersichtstabelle der Mittelwerte und Standardabweichungen (angegeben in $\mu\text{mol/L}$), sowie der p-Werte aller Gallensäuren in der Kontrollgruppe und der Gruppe 3. - 7. Lebensjahr der Studiengruppe. Statistische Signifikanz ist bei einem p-Wert $\leq 0,05$ gegeben.

	Kontrollgruppe	Studiengruppe 3. - 7. Lebensjahr	
Anzahl	11	17	
	MW \pm SD	MW \pm SD	p-Wert
GS-Gesamt	5,30 \pm 2,13	23,21 \pm 16,89	< 0,01
TUDCA	0,01 \pm 0,03	0,37 \pm 1,37	0,01
TCA	0,65 \pm 0,73	6,18 \pm 4,55	< 0,01
TCDCA	1,60 \pm 1,12	7,30 \pm 6,44	< 0,01
TDCA	0,45 \pm 0,06	0,47 \pm 1,15	0,98
TLA	0,01 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	0,03
Taurin gesamt	2,30 \pm 1,54	14,34 \pm 10,68	< 0,01
GUDCA	0,04 \pm 0,10	0,01 \pm 0,01	0,21
GCA	1,75 \pm 1,05	7,72 \pm 11,39	< 0,01
GCDCA	0,93 \pm 0,65	0,88 \pm 0,69	0,66
GDCA	0,11 \pm 0,14	0,10 \pm 0,25	0,14
GLA	0,03 \pm 0,07	2,86 \pm 1,43	0,27
Glycin gesamt	2,86 \pm 1,43	8,71 \pm 11,35	0,03
UDCA	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	0,35
CA	0,03 \pm 0,03	0,10 \pm 0,11	< 0,01
CDCA	0,06 \pm 0,06	0,04 \pm 0,06	0,32
DCA	0,02 \pm 0,02	0,01 \pm 0,01	0,03
LA	0,02 \pm 0,05	0,01 \pm 0,02	0,34
unkonjugierte GS gesamt	0,13 \pm 0,11	0,16 \pm 0,18	0,91

Legende: SSW= Schwangerschaftswoche; GS= Gallensäure; MW= Mittelwert; SD = Standardabweichung; CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure; hell hinterlegte Zahlen= Statistische Signifikanz (p-Wert $\leq 0,05$) ist gegeben.

Tabelle 18 kann man die statistischen Ergebnisse für die Studiengruppe mit dem Zeitpunkt der Blutabnahme am 3. - 7. LT mit 17 Frühgeborenen, sowie der Kontrollgruppe mit 11 Kindern entnehmen. Die Werte der Gesamt-GS unterscheiden sich hochsignifikant von denen der Kontrollgruppe ($23,21 \pm 16,89 \mu\text{mol/L}$ zu $5,30 \pm 2,13 \mu\text{mol/L}$). Auch bei den Taurin-konjugierten ($14,34 \pm 10,68 \mu\text{mol/L}$ zu $2,30 \pm 1,54 \mu\text{mol/L}$) und Glycin-konjugierten ($8,71 \pm 11,35 \mu\text{mol/L}$ zu $2,86 \pm 1,43 \mu\text{mol/L}$) können signifikante Ergebnisse festgestellt werden. Die unkonjugierten GS sind ohne statistische Signifikanz höher als in der Kontrollgruppe ($0,16 \pm 0,18 \mu\text{mol/L}$ zu $0,13 \pm 0,11 \mu\text{mol/L}$). In den einzelnen Fraktionen weisen TUDCA, TCA, TCDCA, TLA, GCA und CA signifikant höhere Werte auf; TDCA und GLA sind nicht-signifikant höher. GUDCA, GCDCA, GDCA, CDCA; LA und als einzige signifikant DCA sind niedriger als in der Kontrollgruppe. UDCA liefert dieselben Werte wie in der Kontrollgruppe.

3.6. GS-VERTEILUNG NACH DEM ABNAHMEZEITPUNKT

Sieht man sich nun die Verteilung auf die verschiedenen GS-Formen an, ist ein deutlicher Anstieg vor allem der Taurin-konjugierten GS zu erkennen. Die Glycin-konjugierten GS zeigen ein ähnliches Bild, wie schon in Abbildung 22 die Gesamt-GS: ein Absinken am zweiten LT, sowie ein größerer Anstieg zwischen drittem und siebten LT. Einzig die unkonjugierten GS verzeichnen einen stetigen Abfall.

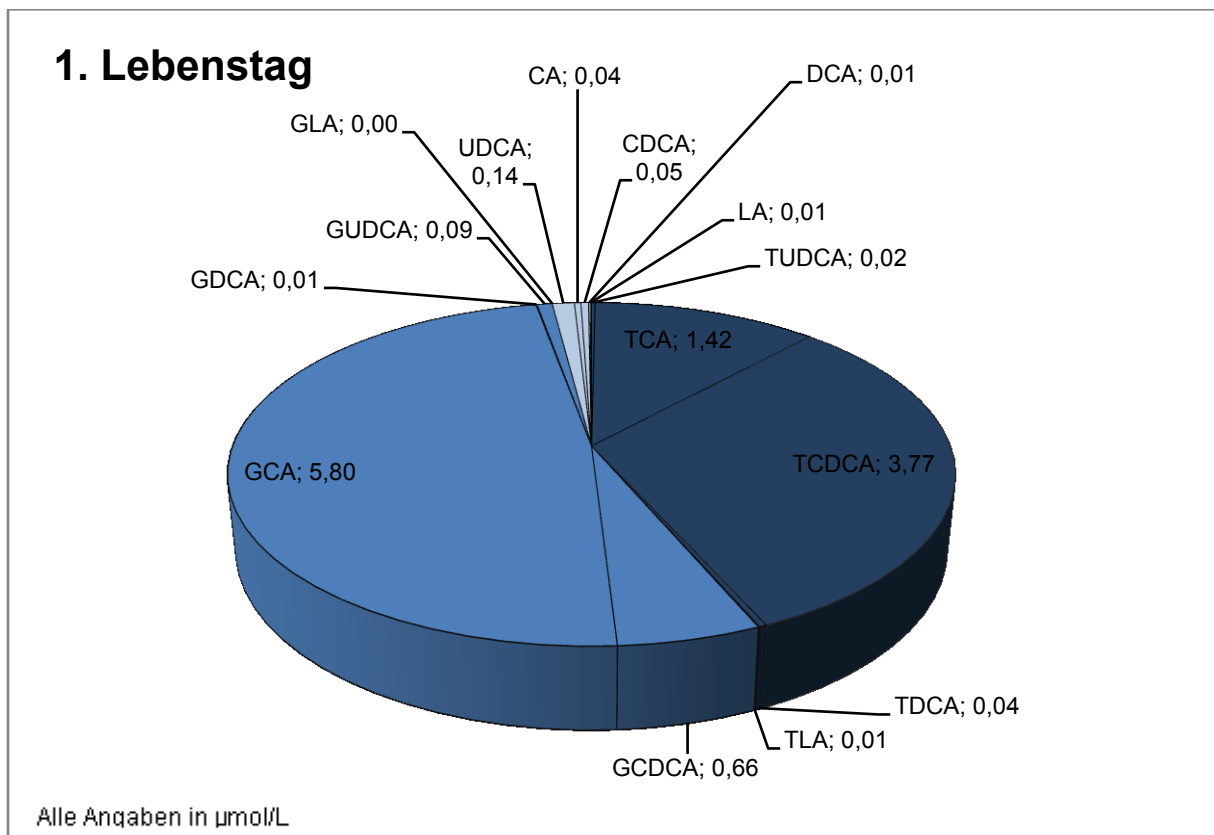
Tabelle 19: Summe der Mittelwerte der konjugierten und unkonjugierten GS im Verhältnis zur Gesamt-Gallensäure in $\mu\text{mol/L}$ eingeteilt nach Abnahmezeitpunkt.

Abnahmezeitpunkt	Anzahl ($\Sigma 79$)	GS Gesamt	GS Taurin- konjugiert	GS Glycin- konjugiert	GS unkonjugiert
1. LT	16	12,1	5,3	6,6	0,3
2. LT	46	9,0	5,4	3,4	0,2
3. - 7. LT	17	23,2	14,3	8,7	0,2

Legende: LT= Lebenstag; Σ = Summe; GS= Gallensäuren

In weiterer Folge wird die genaue Aufschlüsselung aller 15 gemessenen GS in den nächsten Abbildungen aufgezeigt und beschrieben.

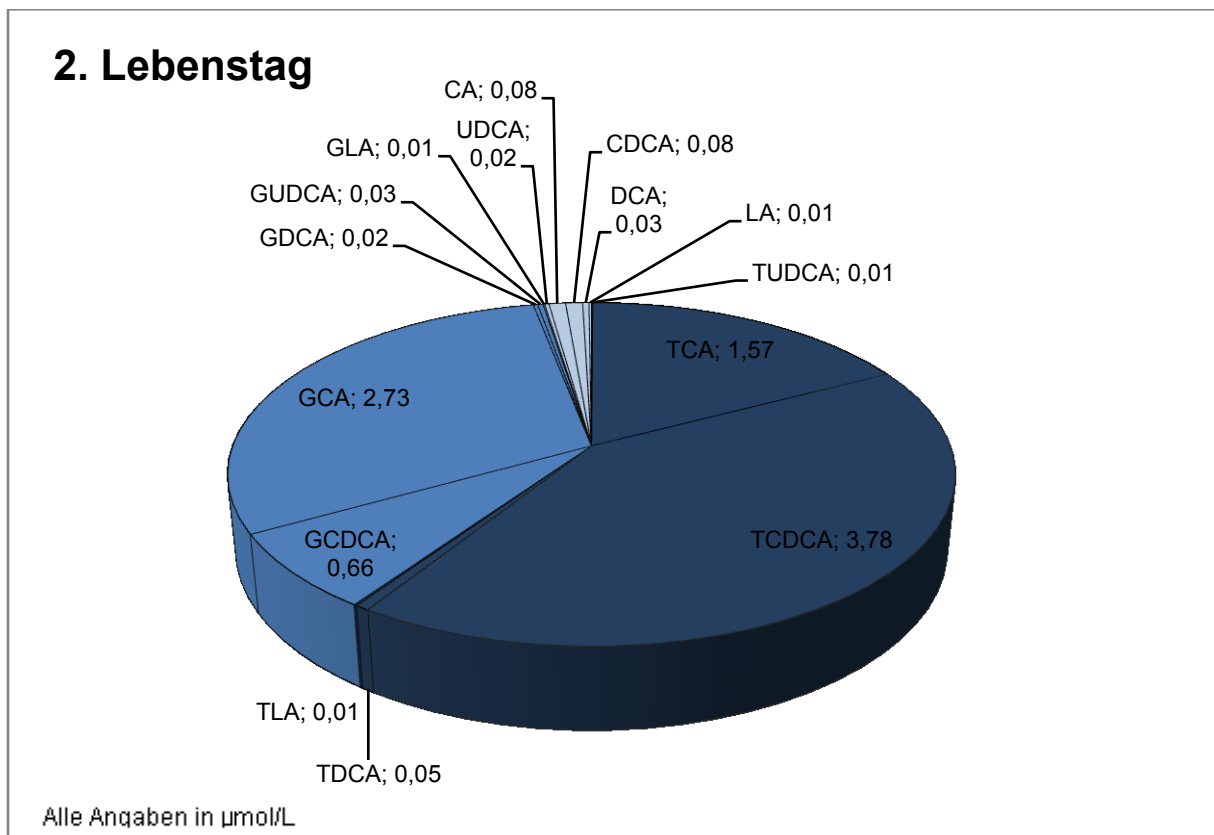
Abbildung 23: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einer Gallensäuren-Bestimmung am ersten Lebenstag.



Legende: CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

In dieser Gruppe (Abbildung 23) sieht man eine geringfügig stärker ausgeprägte Glycin-Komponente mit 6,6 µmol/L gegenüber der Taurin-Komponente mit 5,3 µmol/L. Die unkonjugierten GS sind nur in minimalen Konzentrationen enthalten. Sieht man sich die einzelnen GS-Fractionen genauer an, fällt auf, dass GCA mit einem Wert von 5,80 µmol/L in den höchsten Konzentrationen vorliegt, gefolgt von TCDCA mit 3,77 µmol/L und TCA mit 1,42 µmol/L. Einheitlich weisen die konjugierten, primären GS (GCA, GCDCA, TCA und TCDCA) die höchsten Werte auf.

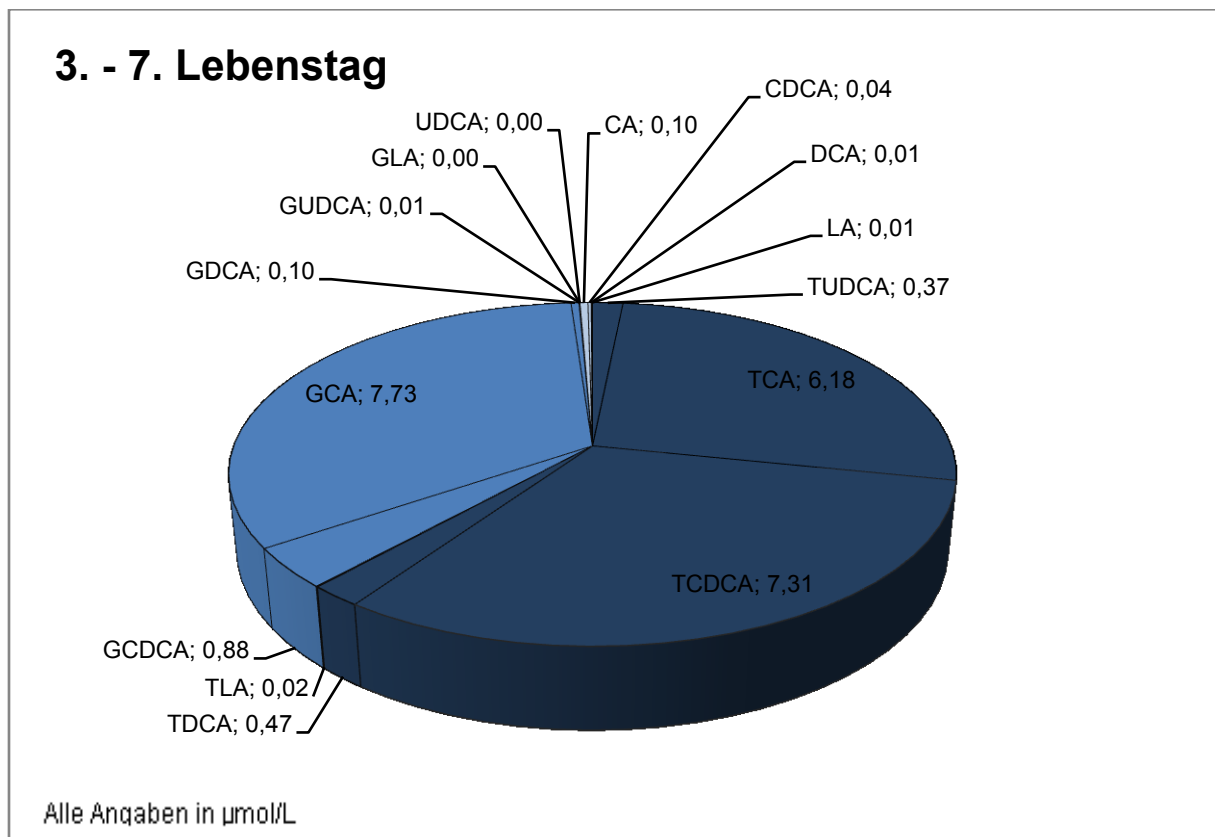
Abbildung 24: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einer Gallensäuren-Bestimmung am zweiten Lebenstag.



Legende: CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

Die Proben, welche am zweiten LT abgenommen wurden, weisen nun ein deutliches Überwiegen an Taurin-konjugierten GS (5,4 µmol/L) mit einer Verdrängung der Glycin-konjugierten Komponenten (3,4 µmol/L) auf (Abbildung 24). In dieser Gruppe kommt es zu einem starken Ansteigen der TCDCA mit 3,78 µmol/L gegenüber der anderen primären GS (GCA, GCDCA, TCA). Ähnlich wie auch schon in Abbildung 23 überwiegen die konjugierten CDCA gegenüber den konjugierten CA. Die anderen konjugierten und unkonjugierten Komponenten sind nur in spärlichen Mengen vorhanden.

Abbildung 25: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung bei einer Gallensäuren-Bestimmung am dritten bis siebenden Lebensstag.



Legende: CA= Cholsäure; TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

In der letzten Gruppe setzt sich der Trend fort und es kommt zu einem weiteren Ansteigen der Taurin-konjugierten GS auf 14,3 µmol/L (Abbildung 25). Hier kann man auch einen Anstieg in den anderen Taurin-konjugierten Komponenten feststellen (TUDCA, TDCA). Obwohl die Taurin-konjugierten GS mengenmäßig überwiegen, weist GCA mit 7,73 µmol/L gegenüber TCDCA mit 7,31 µmol/L die höchsten Konzentrationen auf. Die unkonjugierten GS sind in dieser Gruppe nur mehr in gerade noch messbaren Spuren (0,2 µmol/L) enthalten.

4. DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war, GS im Serum von Frühgeborenen zu bestimmen und anhand der Ergebnisse Aussagen über die Höhe und Zusammensetzung der GS, sowie über mögliche Faktoren, die für diese spezielle Altersgruppe der Kinder- und Jugendheilkunde auf die GS Einfluss nehmen könnten, zu treffen. Frühgeborene unterscheiden sich in mehreren Faktoren von Erwachsenen, aber vor allem auch von den anderen Altersgruppen in der Pädiatrie. Schwierige Geburtsumstände und die nachfolgenden gesundheitlichen Probleme, die aufgrund der Unreife der Kinder entstehen, sowie die meist anschließenden sehr langen Aufenthalte auf einer neonatologischen Intensivstation, führen zu veränderten Stoffwechselfvorgängen im Körper eines Frühgeborenen. Im Allgemeinen ist kaum Literatur über GS bei Frühgeborenen vorhanden, da man bei diesem Patientengut hinsichtlich der Probenbeschaffung auf Schwierigkeiten stößt. Aus ethischer Sicht gesehen, setzen Blutabnahmen in diesem Alter aufgrund des relativ kleinen Blutvolumens der Frühgeborenen immer eine strenge Indikation voraus. Bei dieser Arbeit wurde mit der HPLC-gekoppelter Tandem-MS eine neue Messmethoden verwendet, welche es ermöglicht, aus sehr geringen Probenmengen reproduzierbare und äußerst genaue Daten zu ermitteln. Diese Bestimmung der Serum-GS aus Restblut, welches bei routinemäßigen Abnahmen angefallen ist, machte es möglich, auch bei Frühgeborenen GS-Werte zu erheben und eine entsprechend große Probandenanzahl von 79 Frühgeborenen zu erreichen, welche statistisch aussagekräftige Ergebnisse lieferte.

Die Bestimmung der gesamten GS der Studiengruppe ergibt mit 12,7 $\mu\text{mol/L}$ deutlich höhere und statistisch signifikante Werte (p-Wert: 0,01) gegenüber der Kontrollgruppe mit 5,3 $\mu\text{mol/L}$. Ähnliche Ergebnisse kann man in der Literatur über GS-Konzentrationen bei Frühgeborenen finden. *Challacombe et al.* publizierten in ihrer Arbeit, dass die Plasma-Konzentrationen an GS bei Frühgeborenen höher als bei Reifgeborenen und gleichzeitig zwei- bis dreimal höher als jene der Mütter sind (14). *Nijima* erklärte den rasanten Anstieg der GS-Konzentrationen nach der Geburt mit einer zuerst noch unvollständig ausgebildeten Funktion der Leber bei Neugeborenen (44). Dazu passend vermuten *Murphy und Signer*, dass die neonatale

Leber sehr schnell beginnt, GS zu synthetisieren und zu sekretieren, um sich an die veränderten extrauterinen Umstände anzupassen (26).

In weiterer Folge wurde die Zusammensetzung der GS näher betrachtet. Gegenüber der Kontrollgruppe bei der die Glycin-konjugierten GS mit einem Wert von 2,9 $\mu\text{mol/L}$ gering gegenüber den Taurin-konjugierten GS mit 2,3 $\mu\text{mol/L}$ überwiegen, kommt es bei der Studiengruppe der Frühgeborenen zu einem deutlichen Vorherrschen der Taurin-konjugierten GS mit 7,3 $\mu\text{mol/L}$ gegenüber den Glycin-konjugierten GS mit 5,2 $\mu\text{mol/L}$. Die unkonjugierten GS sind in beiden Gruppen verschwindend gering (Kontrollgruppe: 0,1 $\mu\text{mol/L}$; Studiengruppe: 0,2 $\mu\text{mol/L}$). Die Taurin-konjugierten GS weisen gegenüber der Kontrollgruppe auch einen signifikanten Unterschied auf (p-Wert: 0,01), der bei den Glycin-konjugierten und unkonjugierten GS fehlt. Auch die Untersuchungen von *Challacombe et al.* ergaben, dass im Serum von Frühgeborenen vor allem die konjugierten Formen der primären GS (GCA, TCA, GCDCA und TCDCA) vorliegen. Sekundäre konjugierte Formen, sowie alle unkonjugierten (primäre und sekundäre) Formen der GS sind nur in minimalen Konzentrationen nachweisbar. Als Ursache wird der noch nicht ausreichend mit Bakterien besiedelte frühkindliche Darm vermutet (14). *Poley et al.* erklären die hohen Werte an primären GS im Serum durch verminderte Dehydroxylierungsprozesse aufgrund der fehlenden Darmbakterien (23).

Um bei unserer Studiengruppe mögliche Ursachen für diese hohen GS-Werte und deren Zusammensetzung zu finden, wurden die Frühgeborenen hinsichtlich ihres Gestationsalters, dem GG und dem Abnahmezeitpunkt in verschiedenen Gruppen eingeteilt. Eine Einteilung nach Krankheiten wurde zuerst angedacht, da Frühgeborene jedoch häufig mehrere Krankheitsbilder zur selben Zeit entwickeln und kein eindeutiger Hinweis hinsichtlich spezieller Krankheiten im Zusammenhang mit GS gefunden wurde, wurde dieser Einteilungsversuch verworfen. *Priehl-Glößl* ist in ihrer Arbeit über GS-Konzentrationen bei reifen Neugeborenen näher auf diese Problematik eingegangen (43). In der Einteilung nach SSW und GG kann festgestellt werden, dass je früher die Kinder geboren werden und je geringer das Gewicht bei der Geburt ist, umso höhere Gesamt-GS-Werte weisen sie auf (23 - 28 SSW: 20 $\mu\text{mol/L}$; > 500 g bis 1000 g: 19,1 $\mu\text{mol/L}$). Mit höherem Gestationsalter und GG sinken die GS-Konzentrationen wieder mehr oder weniger weit ab (35 - 36 SSW: 9 $\mu\text{mol/L}$; > 2500 g: 10,5 $\mu\text{mol/L}$). Außerdem ergeben die statistischen Berechnungen,

dass bis zur 34. SSW bzw. bis zu einem GG von 2500 g signifikante Unterschiede bestehen; ab der 35. SSW bzw. bei einem GG von über 2500 g bestehen diese signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe nicht mehr. Bei der statistischen Berechnung von signifikanten Unterschieden der Gruppe 23 - 28 SSW zu den anderen SSW-Gruppen können keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden. In der Einteilung nach Abnahmezeitpunkt nehmen die GS-Konzentrationen am 2. LT ($9,1 \mu\text{mol/L}$) gegenüber dem 1. ($12,1 \mu\text{mol/L}$) zunächst ab, um dann in der Gruppe vom 3. bis 7. LT auf $23,2 \mu\text{mol/L}$ rapide anzusteigen; ab dem 2. LT besteht auch ein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe.

Zusammenfassend können signifikante Ergebnisse der Gesamt-GS nach Gestationsalter in den Gruppen 23 - 28 SSW, 29 - 31 SSW und 32 - 34 SSW; nach GG in den Gruppen $> 1000\text{g} - 1500\text{g}$ und $> 2000\text{g} - 2500\text{g}$; sowie am 2. und 3. bis 7. LT festgestellt werden. In allen anderen Gruppen werden gegenüber der Kontrollgruppe auch erhöhte Werte festgestellt, diese ergeben bei der Berechnung jedoch keine statistisch signifikanten p-Werte. Man kann anhand dieser Ergebnisse davon ausgehen, dass ein Zusammenhang zwischen hohen GS-Werten und Gestationsalter, GG und Abnahmezeitpunkt besteht.

Hinsichtlich der Zusammensetzung des GS-Profiles überwiegen bei der Einteilung nach Gestationsalter und nach GG Taurin-konjugierten GS mengenmäßig in jeder Gruppe. Auch hier können wie bereits bei den Gesamt-GS bis zu einem Gestationsalter von 34 SSW bzw. GG bis 2500 g signifikante Ergebnisse festgestellt werden. Bei den Glycin-konjugierten und unkonjugierten GS kann in keiner Gruppe ein signifikantes Ergebnis festgestellt werden, trotz erhöhter Werte gegenüber der Kontrollgruppe. Bei der Einteilung nach dem Zeitpunkt der Blutabnahme findet man am 1. Lebenstag höhere, jedoch nicht signifikante Glycin-konjugierte GS-Werte ($6,6 \mu\text{mol/L}$ gegenüber $5,3 \mu\text{mol/L}$ Taurin-konjugierter GS). Ab dem 2. LT zeigen die Taurin-konjugierten und ab dem 3. - 7. LT die Taurin-konjugierten und die Glycin-konjugierten GS signifikant höhere GS-Werte gegenüber der Kontrollgruppe. *Chesney et al.* konnten in ihrer Arbeit aufzeigen, dass Taurin-konjugierte GS bessere Funktionen als Fett-Emulgatoren zur Lipidresorption aufweisen als Glycin-konjugierte GS und vor allem Neugeborene mit einem sehr geringen Gewicht dazu neigen, Taurin vermehrt abzubauen (47). Nach einigen Tagen steigen die Taurin-konjugierten GS der Studiengruppe jedoch rasant an und erreichen am 3. bis 7. LT

einen Wert von 14,3 $\mu\text{mol/L}$, wo hingegen die Glycin-konjugierten GS nur 8,7 $\mu\text{mol/L}$ erreichen. *Barbara et al.* nehmen diesbezüglich eine fortbestehende fetale Stoffwechsellage an (24). Ein Überwiegen an Taurin-konjugierten GS wird zum Teil aufgrund unreifer Taurin-Abbau-Prozesse in der Leber vermutet (14). Ein weiterer Aspekt, der hinsichtlich der zeitlichen Komponente noch geklärt werden muss, ist der Einfluss der Nahrung auf das GS-Profil. *Selinger* zeigte in ihrer Arbeit auf, dass Muttermilch unter anderem Taurin enthält, welche als semi-essentielle Aminosäure für die Entwicklung der neuronalen Retina eines Neugeborenen eine wesentliche Rolle spielt. Anders als bei der fakultativen Taurin-Zugabe bei Reifgeborener, muss bei der Säuglingsnahrung von Frühgeborenen Taurin standardmäßig zugesetzt werden (45, 46). Bei der Berechnung der Signifikanzen der einzelnen GS-Fractionen ergibt sich ein inhomogenes Bild: Es zeigt sich jedoch, dass TCA als einzige GS in allen Gruppen jeder Einteilung statistisch signifikant ist; CDCA, TDCA, GLA, UDCA und GUDCA weisen hingegen immer einen p-Wert von $> 0,05$ auf und sind somit nicht-signifikant.

In weiterer Folge wäre es interessant zu erfahren, inwieweit GS im Mutterleib transplazentär übertragen werden und somit die Messungen kurz nach der Geburt beeinflussen. Hierzu müsste man Serum von Mutter und Kind vergleichen. Auch intrauterine GS-Werte sind bisher noch kaum untersucht, da hier bei der Beschaffung der Proben Grenzen gesetzt sind. Ein möglicher Ansatzpunkt ist die Bestimmung über das Fruchtwasser, jedoch wird eine Amniozentese aufgrund der erheblichen Risiken nur bei strengster Indikation durchgeführt. Zukünftig sind weitere Untersuchungen zum Verständnis der physiologischen Verhältnisse des GS-Stoffwechsels bei Frühgeborenen geplant. Hierzu sollen gesunde Frühgeborene in einer prospektiven Studie verlaufskontrolliert werden. Dies könnte im Rahmen des Neugeborenen-Screenings erfolgen.

Zusammenfassend ist zu berichten, dass diese Arbeit einen ersten Überblick über die Konzentration und Zusammensetzung der Serum-GS-Werten bei Frühgeborene liefert, sowie Zusammenhänge mit Gestationsalter, Gewicht bei der Geburt und Abnahmezeitpunkt aufzeigt und somit einen ersten Grundstein für weiterführende Untersuchungen und Studien gelegt hat. Die erfassten Daten sollen in weiterer Folge entscheidende Anhaltspunkte für Erkennung, Verlaufsbeurteilung und Prognose von Erkrankungen, welche mit GS in Verbindung gebracht werden, liefern. Dazu zählen

vor allem hepatische und intestinale Krankheitsbilder. Außerdem können diese Werte eine Basis für ein indirektes Medikamenten-Monitoring von therapeutisch eingesetzten GS (UDCA) oder Rezeptor-Agonisten (FXR-Agonisten) bieten.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Statistik Austria. Frühgeborene seit 1984: [Internet]; 2014 [zitiert 2015 Jan 16].
Verfügbar unter :
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/bevoelkerung/geburten/fruehgeborene/066971.html.
2. Gahr M, Speer C. Pädiatrie. 4. überarb. Aufl. Berlin: Springer; 2013.
3. Kerbl R, Kurz R, Roos R, Wessel L. Checkliste Pädiatrie. 3. vollst. überarbeitete und erw. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme; 2007.
4. Breckwoldt M, Pfeleiderer A. Regelwidrige und pathologische Geburt. In: Breckwoldt M, Martius G, Editoren. Gynäkologie und Geburtshilfe. 5. aktualisierte und überarb. Aufl. Stuttgart, New York, NY: Thieme; 2008. p. 437–72 .
5. Dudenhausen JW, Pschyrembel W, Obladen M, Grab D. Praktische Geburtshilfe. 21. überarbeitete Aufl. Berlin, Boston: De Gruyter; 2011.
6. Pschyrembel W, Editor. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch (2015). 266. neu bearb. Aufl. Berlin: De Gruyter; 2014.
7. Horn F. Biochemie des Menschen: Das Lehrbuch für das Medizinstudium. 5. korr. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2012.
8. Hofmann AF, Chiang, John Y L. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease // Bile acid metabolism and signaling. Comprehensive Physiology 2013; 3(3):1191–212.
9. Zhou H, Hylemon PB. Bile acids are nutrient signaling hormones. Steroids 2014; 86:62–8.
10. Kullak-Ublick GA, Stieger B, Meier PJ. Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease. Gastroenterology 2004; 126(1):322–42.

11. Chiang, John Y L. Bile acids: regulation of synthesis. *Journal of lipid research* 2009; 50(10):1955–66.
12. Monte MJ, Marin, Jose J G, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology. *World journal of gastroenterology : WJG* 2009; 15(7):804–16.
13. Gekle M. Funktion des Magen-Darm-Trakts, Energiehaushalt und Ernährung. In: Klinker R, Baumann R, Editoren. *Physiologie*. 6. vollst. überarb. Aufl. Stuttgart, New York, NY: Thieme; 2010. p. 416–500 .
14. Challacombe DN, Edkins S, Brown GA. Duodenal bile acids in infancy. *Archives of disease in childhood* 1975; 50(11):837–43.
15. Ghadimi H, Pecora P. Free amino acids of cord plasma as compared with maternal plasma during pregnancy. *Pediatrics* 1964; 33:500–6.
16. Cowen AE, Campbell CB. Bile salt metabolism. I. The physiology of bile salts. *Australian and New Zealand journal of medicine* 1977; 7(6):579–86.
17. Hofmann AF. Bile acids as drugs: principles, mechanisms of action and formulations. *The Italian journal of gastroenterology* 1995; 27(2):106–13.
18. Iser JH, Sali A. Chenodeoxycholic acid: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs* 1981; 21(2):90–119.
19. Podda M, Zuin M, Dioguardi ML, Festorazzi S, Dioguardi N. A combination of chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid is more effective than either alone in reducing biliary cholesterol saturation. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 1982; 2(3):334–9.
20. Paumgartner G, Beuers U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. *Hepatology (Baltimore, Md.)* 2002; 36(3):525–31.

21. Tint GS, Salen G, Shefer S. Effect of ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid on cholesterol and bile acid metabolism. *Gastroenterology* 1986; 91(4):1007–18.
22. Neuschwander-Tetri BA. Farnesoid x receptor agonists: what they are and how they might be used in treating liver disease. *Current gastroenterology reports* 2012; 14(1):55–62.
23. Poley JR, Dower JC, Owen CA, Stickler GB. Bile acids in infants and children. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1964; 63:838–46.
24. Barbara L, Lazzari R, Roda A, Aldini R, Festi D, Sama C et al. Serum bile acids in newborns and children. *Pediatric research* 1980; 14(11):1222–5.
25. Barnes S, Berkowitz G, Hirschowitz BI, Wirtschafter D, Cassady G. Postnatal physiologic hypercholeemia in both premature and full-term infants. *The Journal of clinical investigation* 1981; 68(3):775–82.
26. Murphy GM, Signer E. Bile acid metabolism in infants and children. *Gut* 1974; 15(2):151–63.
27. Encrantz JC, Sjoval J. On the bile acids in duodenal contents of infants and children. *Bile acids and steroids* 72. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 1959; 4:793–9.
28. de Belle, R C, Vaupshas V, Vitullo BB, Haber LR, Shaffer E, Mackie GG et al. Intestinal absorption of bile salts: immature development in the neonate. *The Journal of pediatrics* 1979; 94(3):472–6.
29. Watkins JB, Ingall D, Szczepanik P, Klein PD, Lester R. Bile-salt metabolism in the newborn. Measurement of pool size and synthesis by stable isotope technic. *The New England journal of medicine* 1973; 288(9):431–4.
30. Stiehl A, Ast E, Czygan P, Fröhling W, Raedsch R, Kommerell B. Pool size, synthesis, and turnover of sulfated and nonsulfated cholic acid and chenodeoxycholic acid in patients with cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1978; 74(3):572–7.

31. Rodeck B, Zimmer K. Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung. 2. überarbeitete und aktualisierte Aufl. Berlin: Springer; 2013.
32. Stering B. Bestimmung von Normwerten der Gallensäuren im Serum bei Kindern und Jugendlichen [Diplomarbeit]. Graz: Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde; 2013.
33. Griffiths WJ, Sjövall J. Bile acids: analysis in biological fluids and tissues. *J Lipid Res* 2010 Jan; 51(1):55–62.
34. Roda A, Piazza F, Baraldini M. Separation techniques for bile salts analysis. *Journal of chromatography. B, Biomedical sciences and applications* 1998; 717(1-2):263–78.
35. Nikolin B, Imamović B, Medanhodžić-Vuk S, Sober M. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses. *Bosnian journal of basic medical sciences* 2004; 4(2):5–9.
36. Eberhard Karls Universität Tübingen. HPLC Projekt Überblick: [Internet]; 2015 [cited 2015 Jan 27]. Available from: URL:<http://www.ti.uni-tuebingen.de/HPLC-Projekt.416.0.html>.
37. Seibt W. Physik für Mediziner. 6. Aufl. Stuttgart, New York, NY: Thieme; 2009.
38. Budzikiewicz H, Schäfer M. Massenspektrometrie: Eine Einführung. 6. vollst. überarb. Auflage. Weinheim, Bergstr: Wiley-VCH; 2012.
39. Atkins PW, Paula J de. Physikalische Chemie. 4. vollst. überarb. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH; 2006.
40. Deutsche Gesellschaft für Massenspektrometrie. Massenspektrometer [Internet] [cited 2015 Jan 17]. Available from: URL:<http://www.dgms-online.de/dgms1/Wissen/Das-ist-MS/massenspektrometer.php?navid=46>.
41. Abdel-Khalik J, Björklund 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. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* 2013; 928:58–77.

42. Azer SA, Klaassen CD, Stacey NH. Biochemical assay of serum bile acids: methods and applications. *British journal of biomedical science* 1997; 54(2):118–32.

43. Prietl-Glößl M. Gallensäurewerte bei reifen Neugeborenen mit bakterieller Infektion und Zustand nach Asphyxie in den ersten Lebenstagen [Diplomarbeit]. Graz: Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde; 2015.

44. Niiijima S. Studies on the conjugating activity of bile acids in children. *Pediatric research* 1985; 19(3):302–7.

45. Baldeón ME, Mennella JA, Flores N, Fornasini M, San Gabriel A. Free amino acid content in breast milk of adolescent and adult mothers in Ecuador. *SpringerPlus* 2014; 3:104.

46. Selinger M. Brauchen sehr unreife Frühgeborene eine semi-elementare Nahrung für den Nahrungsaufbau? [Dissertation]. München: Ludwig-Maximilians-Universität; 2005.

47. Chesney RW, Helms RA, Christensen M, Budreau AM, Han X, Sturman JA. The role of taurine in infant nutrition. *Advances in experimental medicine and biology* 1998; 442:463–76.

PROJEKTPLAN

Februar 2013

Erste Kontaktaufnahme mit Betreuer OA Dr. Jahnel, sowie Besprechung des Themas

März 2013

Wöchentliche Treffen des Arbeitskreises für Gallensäuren am Klinischen Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik

Planen der Rekrutierung

Regelmäßige Labortreffen mit den Mitarbeitern des Klinischen Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik

Beginn mit der Literatursuche

April 2013

Treffen mit OA Dr. Resch von der Abteilung für Neonatologie Graz

Mai 2013

Sammlung erster Proben an der neonatologischen Abteilung der Medizinischen Universität für Kinder- und Jugendheilkunde

Einlangen erster GS-Werte und Beginn mit deren Auswertung

Erste Tendenzen werden sichtbar

Juni 2013

Vorstellung des Projektes an der Mariatroster Forschungstagung

Juni 2013 - Juni 2014

Weitere kontinuierliche Probensammlung an der neonatologischen Abteilung der Medizinischen Universität für Kinder- und Jugendheilkunde

Juli 2014 - April 2015

Vollständige statistische Auswertung der eingelangten Proben, sowie Erstellung von Tabellen und Diagrammen

Schriftliche Fertigstellung der Diplomarbeit