

Diplomarbeit

**Postnatale Serum-Gallensäuren
Korrelieren Werte mit perinatalen Erkrankungen**

eingereicht von

Heidrun Hargassner

zur Erlangung des akademischen Grades

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

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

unter der Anleitung von

Evelyn Zöhrer, MSc

Univ.-Prof. Dr. Bernhard Resch

OA Dr. Jörg Jahnel

Graz, 6. Oktober 2015

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, 6. Oktober 2015

Heidrun Hargassner eh.

Vorwort

Bereits einige Zeit vor Beginn der Arbeit stand für mich fest, dass ich meine Diplomarbeit an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde schreiben möchte. Als OA Dr. Jahnel dann das Thema „Gallensäuren in der Pädiatrie“ in die Themenbörse der Medizinischen Universität stellte wurde ich neugierig. Nach dem ersten Treffen mit OA Dr. Jahnel und Mag. Zöhrer, bei dem das Thema genauer definiert wurde, begann ich mit der Arbeit.

Da es bereits eine sehr große Menge an gesammelten Daten für die Arbeit gab musste ich lediglich die vorhandenen Daten so filtern, dass die von mir gestellte Fragestellung beantwortet werden konnte. Dank tatkräftiger Unterstützung konnte ich die vorhandenen Daten relativ rasch sortieren und auswerten. Parallel dazu begann ich bereits in kleinen Schritten meine Arbeit zu verfassen. Dank wöchentlicher Treffen mit anderen Diplomandinnen fand ein ständiger Wissens- und Informationsaustausch statt der äußerst hilfreich war.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Mag. Evelyn Zöhrer die mich bei meiner Diplomarbeit wirklich sehr gut unterstützt hat, immer Zeit für meine Fragen hatte und mir mit Rat und Tat zur Seite stand.

Außerdem bedanke ich mich bei OA Dr. Jörg Jahnel der nicht nur den Anstoß zu der Diplomarbeit gab sondern auch, trotz zahlreicher DiplomantInnen, Zeit fand um mich zu unterstützen und Fragen zu beantworten.

Weiters bedanke ich mich bei Prof. Bernhard Resch, der mir wertvollen Input gab und wesentlich am Gelingen meiner Arbeit beteiligt war.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Prof. Priv.-Doz.Dr. Hubert Scharnagl vom Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik für die Unterstützung bei der Auswertung der Daten.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, ganz besonders meiner Mutter, durch die es mir erst möglich wurde dieses Studium zu absolvieren. Danke für die viele Geduld, den guten Zuspruch und nicht zuletzt auch für die finanzielle Unterstützung ohne die ich mein Studium nicht hätte schaffen können!

Zusammenfassung

Hintergrund: In den letzten Jahren hat die Bedeutung von Gallensäuren (GS) in der medizinischen Forschung stark zugenommen. Es zeigt sich, dass GS eine weitaus größere Bedeutung haben als nur die Absorption von Cholesterin und Fetten. Aufgrund der geringen Datenlage, vor allem in Bereich von Früh (FG)- und Reifgeborenen (RG), war es Ziel dieser Arbeit im Serum gemessene GS bei FG und RG in der Perinatalphase zu analysieren, eventuelle Unterschiede festzustellen und Zusammenhänge mit bestimmten kindlichen Erkrankungen aufzuzeigen.

Methodik: Mittels High-performance liquid chromatographie und Massenspektrometrie wurden Serum GS von gesunden RG (n=88) untersucht, welche als Kontrollgruppe dienten. Die Ergebnisse wurden mit jenen von RG mit bakterieller Infektion (BI) (n=36), und perinataler Asphyxie (AS) (n=6) verglichen. Außerdem verglichen wir Serum GS von FG (n=115) in Abhängigkeit von der Schwangerschaftswoche (SSW) bei Geburt und analysierten diese hinsichtlich signifikanter Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Ergebnisse: Sowohl RG mit BI als auch jene mit AS zeigten erniedrigte Werte verglichen mit der Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied ($p=0.005$) konnte bei Kindern mit BI nachgewiesen werden. Gesamt-GS Werte von FG waren höher als jene von RG. Einen signifikanten Unterschied ($p=0.031$) gibt es bei FG die in der 28. SSW oder davor zur Welt kommen. In der Auswertung der GS-Profile zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Bei RG mit BI finden sich im Vergleich zur Kontrollgruppe mehr Taurin-konjugierte GS, bei FG nimmt mit längerer Dauer der Schwangerschaft GC zu und TCDC ab.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse zeigen, dass Serum GS in Abhängigkeit des Gesundheitszustandes des Kindes und der SSW bei Geburt stark variieren. Die höchsten Werte zeigen FG, die in der 28. SSW oder davor zur Welt kommen, wobei die Werte bei späterer Geburt sich den von gesunden RG annähern und kurz vor Geburtstermin darunter liegen. Die niedrigsten Werte zeigen RG mit BI und perinataler AS.

Abstract

Background: In the last years it has been well recognized that bile acids (BA) are more than physiological important agents aimed for cholesterol and lipid absorption. They are indicators of hepatobiliary, intestinal and metabolic diseases. Since there is a lack of data concerning BA in newly borns the aim of this study was to investigate serum BA in preterm and full term neonates. This study was aimed to show differences between BA in healthy full term neonates compared to specific diseases and premature born neonates.

Methods: Serum BAs were profiled in a population of healthy full term neonates (n=88) and compared with those with bacterial infection (BI) (n=36), asphyxia (AS) (n=6) and preterm neonates (n=115). Serum BA concentrations were measured using a high-performance liquid chromatography – high resolution mass spectrometry. Results were analyzed in consideration of significant differences to the control group.

Results: Serum BA levels in full term neonates with BI were significantly ($p=0.005$) decreased compared to the control group. Also serum BA levels of full term neonates with AS were remarkably lower. Premature neonates showed higher serum BA values, even significantly higher ($p=0.031$) in premature neonates 28 weeks of gestation or earlier compared to the control group drawing near to values of full term neonates born in advanced weeks of gestation. Preterm neonates born after the 32 week of gestation had higher BA levels than the control group. BA-Profile analyses show a big range but no significant differences. Full term neonates with BI have more Taurin-conjugated BA compared to the control group. In preterm neonates GC increases and TCDC decreases in advanced weeks of gestation at birth.

Conclusion: The data reveal that serum BA concentration varies a lot, depending on the health status and the duration of gestation. Maximum values were reached in preterm neonates in 28 weeks of gestation or earlier, gradually falling with the persistence of pregnancy and reaching higher levels than the control group after the 32 week. Lowest levels of serum BA were detected in neonates with AS and BI

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	13
1.1 Hintergrund.....	13
1.2 Gestationsalter.....	14
1.2.1 Neugeborene.....	15
1.2.1.1 APGAR Score.....	15
1.2.2 Frühgeborene.....	17
1.2.3 Reifgeborene.....	19
1.2.3.1 Perinatale Asphyxie.....	20
1.2.3.2 Bakterielle Infektion.....	23
1.3 Gallensäuren.....	26
1.3.1 Aufgaben der GS.....	27
1.3.2 Primäre und sekundäre GS.....	27
1.3.3 Konjugate der GS.....	29
1.3.4 Der enterohepatische Kreislauf.....	29
2 Zielsetzung/ Fragestellung.....	32
3 Material und Methoden.....	33
3.1 Methoden zur Bestimmung von GS.....	33
3.1.1 Chromatographie.....	33
3.1.2 HPLC.....	34
3.1.3 Massenspektrometrie.....	34
3.1.4 HPLC-MS.....	35
3.2 Patientenkollektiv.....	37
3.3 Ein- und Ausschlusskriterien.....	37
3.4 Auswertung der Proben.....	38

3.5 Statistische Auswertung.....	39
4 Ergebnisse.....	40
4.1 Frühgeborene.....	40
4.1.1 Patientencharakterisierung.....	40
4.1.2. Gesamtgallensäuren nach Schwangerschaftswoche.....	41
3.1.3. Vergleich zur Kontrollgruppe.....	42
4.2 Reifgeborene.....	43
4.2.1 Patientencharakterisierung.....	43
4.2.2 Gesamtgallensäuren der Reifgeborenen.....	43
4.2.3 Vergleich Kontrollgruppe zu bakterieller Infektion.....	45
4.2.4 Vergleich Kontrollgruppe zu Asphyxie	45
4.2.5 Vergleich zu Normwerten.....	45
4.3 Gallensäureprofile.....	46
4.3.1 GS Profil der Kontrollgruppe.....	46
4.3.1.1 Frühgeborene der 23 bis 28 SSW.....	50
4.3.1.2 Frühgeborene der 29 bis 32 SSW.....	51
4.3.1.3 Frühgeborene > 32 SSW.....	52
4.3.1.4 Zusammenfassung der GS Profile der FG.....	53
4.3.1.5 Gallensäureprofile der Reifgeborenen.....	53
4.3.1.6 Reifgeborene mit bakterieller Infektion.....	55
4.3.1.7 Reifgeborene mit Asphyxie.....	56
4.3.1.8 Zusammenfassung der GS Profile der RG.....	57
5 Diskussion.....	58
Literaturverzeichnis.....	63

Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
AS	Asphyxie
BI	Bakterielle Infektion
CA	Cholsäure
CCK	Cholezystokinin
CDCA	Chenodeoxycholsäure
CPAP	Continuous positive airway pressure
CRP	C-reaktives Protein
DC	Dünnschichtchromatographie
DCA	Deoxycholsäure
DM	Diabetes mellitus
FG	Frühgeborene
GC	Gaschromatographie
GCA	Glycocholsäure
GCDCA	Glycochenodeoxycholsäure
GDCA	Glycodeoxycholsäure
GLA	Glycolithocholsäure
GPC	Gel Permeations Chromatographie
GS	Gallensäure
GUDCA	Glycoursodeoxycholsäure
HPLC	High Performance liquid Chromatographie
LA	Lithocholsäure
MS	Massenspektrometrie
NG	Neugeborene
PC	Papierchromatographie
RDS	Respiratory distress syndrome
RF	Risikofaktor
RG	Reifgeborene

SC	Säulenchromatographie
SIRS	Systemic inflammatory response syndrom
SSW	Schwangerschaftswoche
TCA	Taurocholsäure
TCDC	Taurochenodeoxycholsäure
TDCA	Taurodeoxycholsäure
TUDCA	Tauroursodeoxycholsäure
UDCA	Ursodeoxycholsäure

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ursachen für Frühgeburtlichkeit (1).....	18
Abbildung 2: Grundbaustein Cholesterin (2).....	26
Abbildung 3: Stoffwechsel der Gallensäuren (3).....	28
Abbildung 4: Enterohepatischer Kreislauf (4).....	30
Abbildung 5: Grundaufbau eines Massenspektrometers (5).....	35
Abbildung 6: Gallensäuremittelwerte, Vergleich Früh- zu Reifgeborenen.....	42
Abbildung 7: Gallensäuremittelwerte bei Reifgeborenen.....	44
Abbildung 8: Gallensäureprofil der Kontrollgruppe.....	47
Abbildung 9: Gallensäureprofil, Frühgeborene 23 - 28 SSW.....	50
Abbildung 10: Gallensäureprofil, Frühgeborene 29 - 32 SSW.....	51
Abbildung11: Gallensäureprofil, Frühgeborene ab 32 SSW.....	52
Abbildung 12: Gallensäureprofil, Reifgeborene mit bakterieller Infektion.....	55
Abbildung 13: Gallensäureprofil, Reifgeborene mit Asphyxie.....	56

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: APGAR Score.....	16
Tabelle 2: Risikofaktoren der perinatalen Asphyxie.....	21
Tabelle 3: Häufige Erreger der Früh- und Spätsepsis.....	23
Tabelle 4: Taurin Konjugate.....	29
Tabelle 5: Glycin Konjugate.....	29
Tabelle 6: Chromatographie-Techniken (6).....	34
Tabelle 7: Gruppeneinteilung der FG.....	40
Tabelle 8: Mittelwerte der GS nach SSW.....	41
Tabelle 9: Gruppeneinteilung der RG.....	43
Tabelle 10: Gesamt GS im Vergleich bei RG.....	44
Tabelle 11: GS Profil der Kontrollgruppe.....	48
Tabelle 12: GS-Profil FG.....	49
Tabelle 13: GS Profil RG.....	54

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Vor allem in den letzten Jahren hat die Bedeutung von GS in der medizinischen Forschung stark zugenommen. Immer mehr Studien befassen sich mit mütterlichen und kindlichen Gallensäurewerten, vor allem in der Perinatalperiode. Die Werte sollen in Zukunft auch als Biomarker für beispielsweise intestinale oder hepatische Störungen des Kindes verwendet werden können. Sargin Oruc *et al.* konnten herausfinden, dass Kinder von Müttern mit intrahepatischer Cholestase öfter interuterine Mekoniumabgänge haben, öfter postnatal auf einer neonatologischen Intensive Care Unit behandelt werden müssen und auch das Geburtsgewicht geringer ist als bei Kontrollgruppen (7).

Außerdem verglichen Barnes *et al.* Serumgallensäurewerte von FG und RG und konnten zeigen, dass die Werte vor allem in den ersten Tagen nach Geburt bei FG signifikant erhöht sind. Es wird vermutet, dass dies in Zusammenhang mit der Unreife des kindlichen Organsystems steht, das die GS noch nicht selbst abbauen kann. Während der Schwangerschaft wird diese Aufgabe von der Plazenta erfüllt. Reife, gesunde Neugeborene (NG) sind in der Lage GS selbst abzubauen und auszuscheiden (8).

Jahnel *et al.* untersuchten in einer Studie mit 137 Patienten und Patientinnen die über 27 Monate lief inwiefern Morbus Crohn und ulzerative Colitis und die damit einhergehenden Diarrhoen Auswirkungen auf GS-Aufnahmetransporter im terminalen Ileum und im Colon haben und konnten zeigen dass GS-Cotransporter bei diesen Erkrankungen herunterreguliert werden, wodurch die Absorption von GS gestört wird. Möglichst frühe medikamentöse Therapien könnten dieser Malabsorption entgegenwirken (9). Es lässt sich also darauf schließen dass Erkrankungen und damit verbundene Dysfunktionen von Organen und Organsystemen den GS Stoffwechsel durch eine Vielzahl von Mechanismen beeinflussen können.

In der folgenden Arbeit werden sowohl Serumgallensäurewerte, als auch GS-Profile von FG und RG genau untersucht, mit dem besonderen Augenmerk auf die ersten drei Tage nach Geburt. Ergänzend zur Arbeit von Barbara Stering und den darin festgelegten Normwerten von GS bei Kindern und Jugendlichen wird untersucht, inwiefern Serum-GS Werte bei NG abhängig vom Gestationsalter bei Geburt und dem Gesundheitszustand des NG verändert sind. Außerdem ist zu klären, ob ein Zusammenhang zwischen Schwangerschaftsdauer bei FG und den im Serum gemessenen Werten besteht. Bei RG wird vor allem auf Unterschiede zu gesunden Kindern in Gallensäurewerten in Zusammenhang mit asphyktischen oder Kindern mit BI geachtet. Die quantitative Erfassung der einzelnen GS soll Aufschluss darüber geben, ob sich ein Zusammenhang zwischen bestimmten Erkrankungen oder einer Frühgeburtlichkeit und den gemessenen GS-Profilen herstellen lässt.

1.2 Gestationsalter

Beim Menschen beträgt die Schwangerschaftsdauer im Durchschnitt 38 Wochen post conceptionem. Da der Konzeptionstermin oft nicht sicher festzustellen ist, wird üblicherweise die sogenannte „Tragedauer“ angegeben. Diese beträgt 280 Tage post menstruationem, also 40 Wochen oder 10 Monate zu je 4 Wochen ab dem ersten Tag der letzten Menstruationsblutung. Da der Embryo vor allem zu Beginn der Schwangerschaft eine enorme Entwicklung durchläuft, welche sich auch sonographisch sehr gut messen lässt, trägt auch dies zur Erhebung des Schwangerschaftsalters und in weiterer Folge zur Berechnung des Geburtstermines bei (1).

Die Zeit vom Beginn der 22. SSW bis zum vollendeten 7. Lebenstag des Kindes wird als Perinatalperiode bezeichnet (10). Die Morbidität und Mortalität ist in dieser Phase massiv erhöht, verglichen mit der gesamten Lebensperiode. Dank intensiver medizinischer Forschung und Weiterentwicklung hat die perinatale Mortalität in den letzten 50 Jahren stark abgenommen und liegt heute bei unter 5%. Frühgeburtlichkeit und angeborene Fehlbildungen sind die häufigsten Ursachen dafür (11).

1.2.1 Neugeborene

Unabhängig vom Schwangerschaftsalter bei Geburt wird jedes Kind vom Zeitpunkt der Geburt in den ersten 28 Lebenstagen als „Neugeborenes“ bezeichnet. Danach und bis zum vollendeten ersten Lebensjahr als „Säugling“ (12). NG unterscheiden sich sowohl anatomisch als auch physiologisch stark von Schulkindern und Jugendlichen, noch mehr natürlich von Erwachsenen. Atem- und Herzfrequenz sind höher je jünger das Kind ist, das Blutvolumen ist, verglichen mit dem Körpergewicht, erhöht auf bis zu 11%. Der fetale Kreislauf stellt sich kurz nach Geburt um und auch der Lungenkreislauf des Kindes wird perfundiert. NG erleben massive Entwicklungsschritte unterschiedlichster Art innerhalb kürzester Zeit (11). Neben der U1, einer Standarduntersuchung jedes NG unmittelbar nach der Geburt bei der Körpergröße, Körpergewicht und Kopfumfang bestimmt werden und der U2, einer Untersuchung in den ersten Lebenstagen durch einen Pädiater bei der das Kind ausführlich untersucht wird und unter anderem speziell auf kindliche Reflexe geachtet wird ist der APGAR Score ein wichtiger Score zur Beurteilung von NG und deren postnataler Adaptation in den ersten Lebensminuten (12, 13).

1.2.1.1 APGAR Score

Der APGAR-Score dient der Beurteilung von NG und deren Adaptation unmittelbar nach der Geburt. Aufgrund der Abhängigkeit des Muskeltonus und der Reflexerregbarkeit vom Gestationsalter bei Geburt ist der Score für FG nicht geeignet (14). Er setzt sich, wie in Tabelle 1 dargestellt, aus fünf Punkten zusammen, die jeweils eine Minute, fünf Minuten und zehn Minuten nach der Geburt beurteilt werden. Abhängig von den erhobenen Parametern werden pro Punkt zwischen 0 und 2 Punkte vergeben und addiert. Ab einem APGAR-Score von 8 spricht man von einem „lebensfrischen Neugeborenen“ (15). Eine mittelgradige Depression des NG besteht bei einem APGAR-Score zwischen 4 und 7, ein APGAR-Score von 0 bis 3 bezeichnet eine schwergradige Depression des NG (10).

Tabelle 1: Die Kriterien des APGAR Score und deren Punkteverteilung zur Beurteilung der postnatalen Adaption von Reifgeborenen

Punkte	0	1	2
Atmung	keine	unregelmäßig, schnappend	regelmäßig, schreiend
Puls	keiner	< 100/min	> 100/min
Grundtonus	schlaff	mittel, träge Flexion	gut
Aussehen	weiß oder blau	Stamm rosig, Hände/Füße blau	rosig
Reflexe	keine	Grimassen	Husten, Niesen

Bei der Erstversorgung eines deprimierten RG birgt eine allzu ausführliche Untersuchung welche auch den Säure-Basen-Status als festen Bestandteil enthält die Gefahr dass mit den Wiederbelebensmaßnahmen verzögert begonnen wird, weshalb die therapeutische Entscheidung bereits nach drei klinischen Kriterien – nämlich der Hautfarbe, Atmung und Herzfrequenz getroffen werden soll. Abhängig vom Zustand des Kindes sind die zu treffenden Maßnahmen wie Atemunterstützung, verabreichen von Volumen oder die Herzdruckmassage inklusive Beatmung und medikamentöser Therapie unverzüglich zu treffen (14). Im Gegensatz zum gesunden NG bei dem mit der Abnabelung zugewartet werden kann und soll, muss das deprimierte NG vor dem Treffen erster Maßnahmen die über die Stimulation durch abtrocknen und berühren hinausgehen von der Mutter abgenabelt werden (16). Anup C. Katheria *et al* untersuchten in diesem Zusammenhang bei 197 FG ob ein Auspressen der Nabelschnur in Richtung des Kindes vor der Abnabelung Vorteile gegenüber einer verspäteten Abnabelung bedeutet. Es zeigte sich dass FG bei denen die Nabelschnur vor der Durchtrennung ausgepresst wurde über die ersten 12 bis 24 Stunden eine höhere rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion, höhere Hämoglobinwerte und einen höheren Blutdruck haben (17).

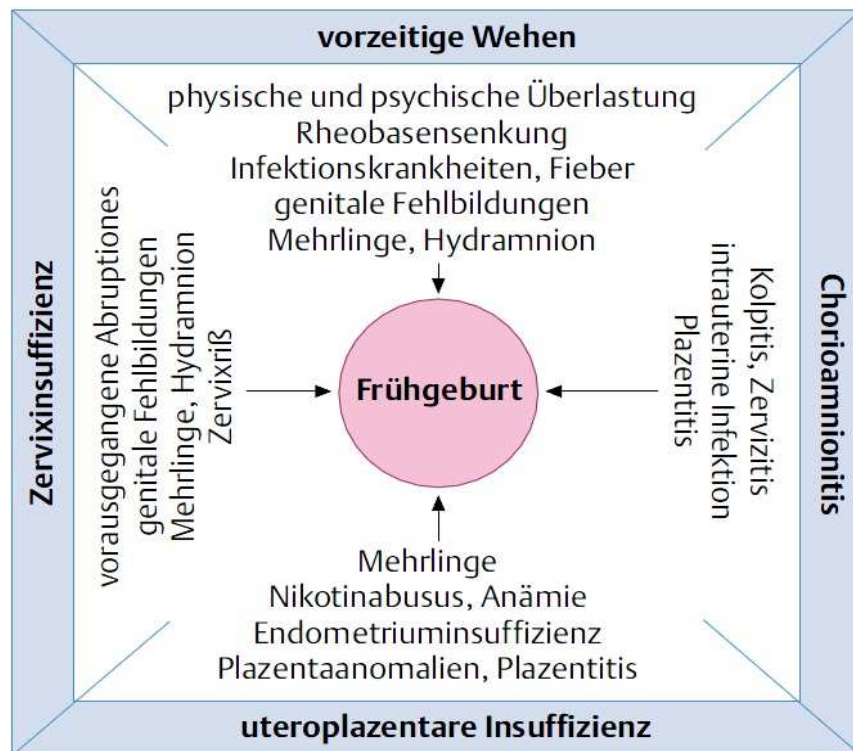
1.2.2 Frühgeborene

Ein „Frühgeborenes“ ist jedes NG mit einem Schwangerschaftsalter von weniger als 37 abgeschlossenen Schwangerschaftswochen. Die Häufigkeit in Österreich lag 2014 bei 7,9% (18). Zahlen ab welcher SSW ein FG überleben kann werden dank intensiver Forschung und den damit verbundenen medizinischen Fortschritten immer weiter nach unten korrigiert. Die Überlebenschancen von FG die in der 24. SSW oder danach geboren werden liegt bei etwa 60% und steigt mit dem Gestationsalter (19). Dennoch ist die Morbidität und Mortalität individuell sehr unterschiedlich. In jedem Fall sind aber die Komplikationen und somit auch die Mortalitätsraten bei FG in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter zum Teil deutlich erhöht. Hauptproblem stellen dabei oft die unterentwickelte Lunge und der damit stark beeinträchtigte Gasaustausch dar (20). FG leiden häufig unter den unreifen respiratorischen Organsystemen und den damit verbundenen Komplikationen. Durch den relativen Mangel an Phosphocholintransferasen kann nicht ausreichend Surfactant gebildet werden. Dieser ist jedoch maßgeblich für das Herabsetzen der Oberflächenspannung in den Alveolen verantwortlich, sodass es zu einer Störung der Ventilation und Oxygenierung kommt (21). Wegen der, ebenfalls damit verbundenen, erhöhten Infektanfälligkeit werden nicht selten bereits kurz nach der Geburt invasive Maßnahmen zur Beatmung oder Atemunterstützung notwendig. Andererseits wird erst gegen Ende der Schwangerschaft durch einen von der mütterlichen Plazenta sezernierten Botenstoff die Haut des Kindes mehrschichtig und dicker um den Anforderungen an die Umwelt gewachsen zu sein. Bis heute ist jener Botenstoff nicht synthetisch herstellbar. Durch die sehr dünne Haut bei FG ist nicht nur das Verletzungsrisiko massiv erhöht, auch alle anderen Funktionen der Haut wie die Wärmeregulation und die Aufgabe als Schutzbarriere gegen Keime sind zum Teil stark beeinträchtigt (12).

Die Ursachen der Frühgeburt sind mannigfaltig. Einerseits kann es durch unterschiedlichste, großteils pathologische Faktoren, zu vorzeitigen Wehen und damit auch zur Frühgeburt kommen. Andererseits können entzündliche Prozesse der Zervix oder der Plazenta eine Frühgeburt auslösen. Je nach Alter, Krankengeschichte und

Vorerkrankungen der Mutter können auch eine uteroplazentäre- oder Zervixinsuffizienz zu einer verfrühten Geburt führen (1). In Abbildung 1 sind mögliche Ursachen für eine Frühgeburt dargestellt.

Abbildung 1: Einflussfaktoren unterschiedlichen Ursprungs die zu einer Frühgeburt führen können



1.2.3 Reifgeborene

Als „Reifgeborene“ bezeichnet man NG die in der 38. Schwangerschaftswoche oder danach zur Welt kommen (1). Die Perinatalperiode gilt als Zeitraum der höchsten Morbidität und Mortalität. Dank medizinischer Fortschritte hat die perinatale Mortalität in den letzten 50 Jahren stark abgenommen und liegt heute bei 5%, wobei die Anzahl tot geborener Kinder fast zwei Drittel der perinatalen Mortalität ausmacht (10). Dank verschiedener Screeningverfahren wie der „U1“- einer Untersuchung unmittelbar nach der Geburt bei der es vor allem um eine adäquate Adaptation des RG geht und darum angeborene Fehlbildungen festzustellen die eine sofortige Therapie notwendig machen (22) und der „U2“, einer Untersuchung im Rahmen des Vorsorgeuntersuchungsprogrammes am 3. bis 10. Lebenstag des Kindes durch einen Kinderfacharzt, die standardmäßig bei jedem Kind nach der Geburt durchgeführt werden, können viele Erkrankungen mittlerweile früh erkannt und entsprechend behandelt werden. Neben der perinatalen AS und der BI stellen auch Fehlbildungen unterschiedlichster Art, der Neugeborenenikterus und die Neugeborenenhypoglykämie häufige Erkrankungen dar (12).

1.2.3.1 Perinatale Asphyxie

Der Begriff Asphyxie kommt aus dem griechischen und bedeutet wörtlich übersetzt Pulslosigkeit. Gemeint sind damit kardiale und respiratorische Störungen die zu einer metabolischen und respiratorischen Azidose führen. Die Häufigkeit liegt bei etwa 1% aller Geburten, etwa 9% aller FG haben eine perinatale Asphyxie (23). Beim asphyktischen NG findet sich meist eine gemischte metabolisch-respiratorische Azidose (10). Zur Diagnose der perinatalen AS ist neben Anzeichen von fetalem Stress noch zumindest einer der folgenden Punkte nötig:

- pH-Wert <7,0
- Basendefizit >16mmol/l
- 5-Minuten APGAR Score <6 Punkte (24)

Eine perinatale AS kann sowohl intrauterin als auch intranatal oder postnatal auftreten. Für jede dieser perinatalen Phasen bestehen unterschiedliche Risikofaktoren die in Tabelle 2 aufgelistet sind.

Tabelle 2: Nach Zeitpunkt des Einwirkens geordnete Risikofaktoren der perinatalen Asphyxie

RF vor Eintritt der Schwangerschaft	RF während der Schwangerschaft	RF während der Geburt
Schlechte sozio-ökonomische Situation	Virale oder bakterielle Infektionen	Operative Geburt, Lageanomalien, Fruchtwasseranomalien
Präexistente mütterliche Erkrankungen	Alkohol, Nikotin, Medikamente, Drogen	Vorzeitiger Blasensprung, Placenta Praevia, Nabelschnurvorfal
Zustand nach Abortus, Totgeburt, Frühgeburt	Akute oder chronische Krankheiten	Fieber der Mutter
Alter der Mutter (< 14 Jahre, > 40 Jahre)	Blutgruppeninkompatibilität, Plazentainsuffizienz	Mehrlinge, Frühgeburt

RF = Risikofaktoren

Wie stark ausgeprägt die AS ist hängt einerseits wesentlich von der Dauer und dem Ausmaß des Sauerstoffmangels, andererseits von der raschen und effizienten Therapie ab. Von leichter Depression des NG, die in der Regel ohne Folgeschäden und voll reversibel ist, bis hin zu Organminderversorgungen die aufgrund des damit einhergehenden Gewebeschadens nicht oder nicht vollständig reversibel sind reichen die Folgen (10).

Unter der AS des NG versteht man, wenn durch eine Störung des Gasaustausches während der Geburt der kindliche Organismus beeinträchtigt wird. Es kommt zu einer Minderversorgung von Organen mit Sauerstoff und infolge dessen zu einer schweren Azidose, welche üblicherweise im Nabelvenenblut gemessen wird und die einen reversiblen oder irreversiblen Schaden nach sich zieht (20). Eine der gefürchtetsten Folgen der perinatalen Asphyxie stellt die Hypoxisch-Ischämische Enzephalopathie dar,

deren Folgen, nämlich die postasphyktische Schädigung des Gehirns durch frühzeitig einsetzende Kühlung im Sinne einer therapeutischen Hypothermie verhindert werden können, wobei die Kühlung so früh wie möglich, im Idealfall innerhalb von sechs Stunden postpartal begonnen werden soll (25). Gerstl *et al* veröffentlichten dazu Anfang 2015 die Ergebnisse einer Umfrage zur Anwendung der therapeutischen Hypothermie bei perinataler Asphyxie in Österreich. Es zeigte sich, dass diese Methode zwar bereits weit etabliert ist, es jedoch weiterhin Bedarf an Information und Training gibt (26). Auch die richtige Form der Atemunterstützung oder Beatmung bei respiratorischer Insuffizienz, RDS und Asphyxie ist umstritten und Hintergrund zahlreicher Studien. Andrea Lampland *et al* fanden 2015 heraus dass eine Bi-level CPAP Atemunterstützung weder in der Oxygenierung noch in der Ventilation Vorteile gegenüber CPAP Atemunterstützung bringt. Lediglich der gemessene mittlere arterielle Druck war bei CPAP unterstützten Kindern niedriger (27). In einer Untersuchung von Prashanth Bhat *et al* zeigte sich dass proportional assistierte Beatmung verglichen mit assistierter Beatmung bei 12 NG durchaus Vorteile bringt. Sowohl der benötigte Atemwegsdruck zur adäquaten Oxygenierung und Ventilation als auch die Druckspitzen während der Beatmung waren bei proportional assistierter Beatmung signifikant niedriger (28). Da die Beatmung und Atemunterstützung von NG aufgrund unterschiedlichster Faktoren wesentlich komplexer ist als die von Erwachsenen sollte sie ohnehin wenn möglich nur von erfahrenen Neonatologen durchgeführt werden. Die Komplexität begründet sich durch physiologische und anatomische Unterschiede des NG zum Erwachsenen wie einem Shunt über das Foramen ovale und den Ductus botalli, dem persistierenden fetalen Zirkulationssyndrom mit pulmonaler Hypertonie das unter Umständen die Anwendung von NO notwendig macht oder der potentiellen Schädigung wie Retinopathie durch Hyperoxie, auch wenn diese nur über kurze Zeit besteht (29).

1.2.3.2 Bakterielle Infektion

Die bakterielle Infektion des NG lässt sich in vier Gruppen unterteilen:

- Sepsis
- Septischer Schock
- Systemische Entzündungsreaktionen (SIRS)
- Lokal- oder Organinfektion

Mit 1,1 – 2,7% der Lebendgeborenen sind bakterielle Infektionen die häufigste Erkrankung des NG.

Abhängig vom Beginn der Infektion unterscheiden sich die häufigsten Erreger. Liegt der Beginn in den ersten drei Lebenstagen spricht man von einer Frühsepsis, auch „early-onset“ genannt. Hierbei kommen die Erreger meist aus der mütterlichen Retrovaginallflora. Infektionen nach dem dritten Lebenstag werden als Spätsepsis oder „late-onset“ bezeichnet. Zumeist handelt es sich hierbei um Erreger aus der Umgebungsflora. In Tabelle 3 sind die unterschiedlichen Erreger dieser beiden Gruppen dargestellt.

Tabelle 3: Die häufigsten Erreger der Früh- und Spätsepsis

Frühsepsis	Spätsepsis
Beta-hämolysierende Streptokokken B	Koagulase-negative Staphylokokken
Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa
Staphylococcus aureus	Enterobacter sp.
Klebsiellen	Serratia sp.
Enterokokken	Klebsiellen
Streptokokken anderer Gruppen	Staphylococcus aureus
Listeria monocytogenes	Candida sp.

Häufig gehen BI von NG mit einem vorzeitigen Blasensprung einher. Auch vorzeitige Wehen oder Fieber der Mutter über 38,5° erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer BI des NG (10). Zur Diagnosestellung wird ein Blutbild mit Differenzialblutbild und C-reaktivem Protein empfohlen. Ergänzend kann auch eine Bestimmung von IL-6 oder IL-8 erfolgen (30). Im Folgenden sind klinische Hinweise auf eine bakterielle Infektion des NG aufgelistet:

1) Allgemeinzustand:

Trinkschwäche, Hypothermie, Fieber, Berührungsempfindlichkeit

2) Herz, Kreislauf:

Tachykardie >180/min, Blässe, Zentralisation mit schlechter Hautperfusion, Rekapillarisierungszeit >3 s

3) Atmung:

Thorakale Einziehungen, Stöhnen, Apnoe, Dyspnoe, Tachypnoe

4) Haut, Weichteile:

Blässe, Zyanose, Petechien, Pusteln, Abszesse, Ödeme

5) Magen-Darm-Trakt:

Geblähtes Abdomen, Trinkschwäche, Erbrechen, Obstipation, Diarrhoe, fehlende Darmgeräusche

6) ZNS:

Lethargie, Krampfanfälle, gespannte Fontanelle, Muskelhypo- oder hypertonie

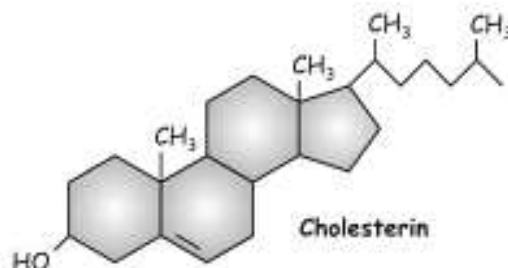
Keines dieser Symptome ist beweisend für eine Infektion. Es handelt sich hierbei also nicht um spezifische, jedoch sehr sensitive Hinweise auf eine Infektion deren Auftreten in jedem Fall genau abgeklärt werden muss (10). Ein möglichst früher Beginn der richtigen antibiotischen und adjuvanten Therapie ist entscheidend für die Prognose. Diese verschlechtert sich wesentlich wenn das NG bereits im septischen Schock ist. Joseph Schulman *et al* veröffentlichten 2015 eine in Kalifornien durchgeführte Studie über den quantitativen Antibiotikaeinsatz auf insgesamt 127 neonatologischen Intensivstationen. Es zeigten sich sehr große Unterschiede im Einsatz der Antibiotika wenngleich die Fälle an Erkrankungen welche einer antibiotischen Therapie bedürfen

sehr ähnlich waren. Zusammenfassend wird empfohlen weitere Studien durchzuführen um die Zusammenhänge besser darstellen zu können (31). Neben der antibiotischen Therapie welche davon abhängig ist um welchen Erreger es sich genau handelt spielt auch die adjuvante Therapie eine wichtige Rolle. Diese setzt sich aus der Stabilisierung der Vitalparameter mit großzügiger Indikationsstellung zur Beatmung, Stabilisierung des Blutdrucks mit exakter Flüssigkeitsbilanzierung und gegebenenfalls Katecholamingabe und dem Vorbeugen von metabolischen Entgleisungen oder wenn nötig deren Ausgleich. Eine Hypoglykämie, metabolische Azidose oder Anämie ist zu vermeiden. Bei Nichtansprechen der Therapie innerhalb von zwei Tagen soll außerdem an eine katheterassoziierte Infektion gedacht werden (32).

1.3 Gallensäuren

GS werden als wichtigster Bestandteil der Gallenflüssigkeit in der Leber, genauer gesagt im Zytosol der Hepatozyten synthetisiert. Die Bildung ist ein multienzymatischer Prozess welcher sich aus mehreren Schritten zusammensetzt. Das unlösliche Ausgangsprodukt Cholesterin ist in Abbildung 2 gezeigt. Cholesterin wird durch Bindung an unterschiedlich viele OH-Gruppen zur amphiphilen Gallensäure. Nur dadurch wird die später so wichtige Mizellenbildung und die darauf basierende Fettabsorption möglich (33). Wesentlich für die Regulation der Biosynthese ist die negative Rückkoppelung zweier Enzyme: zum einen die β -HMG-CoA-Reduktase, welche das Schrittmacherenzym der Cholesterin Biosynthese ist, zum anderen die Aktivität der Cholesterin-7- α -Hydroxylase welche durch hohe Konzentrationen an GS gehemmt wird (2).

Abbildung 2: Strukturformel des Grundbausteines der Gallensäuren: Cholesterin
Durch Bindung von OH-Gruppen entstehen die einzelnen Gallensäuren



1.3.1 Aufgaben der Gallensäuren

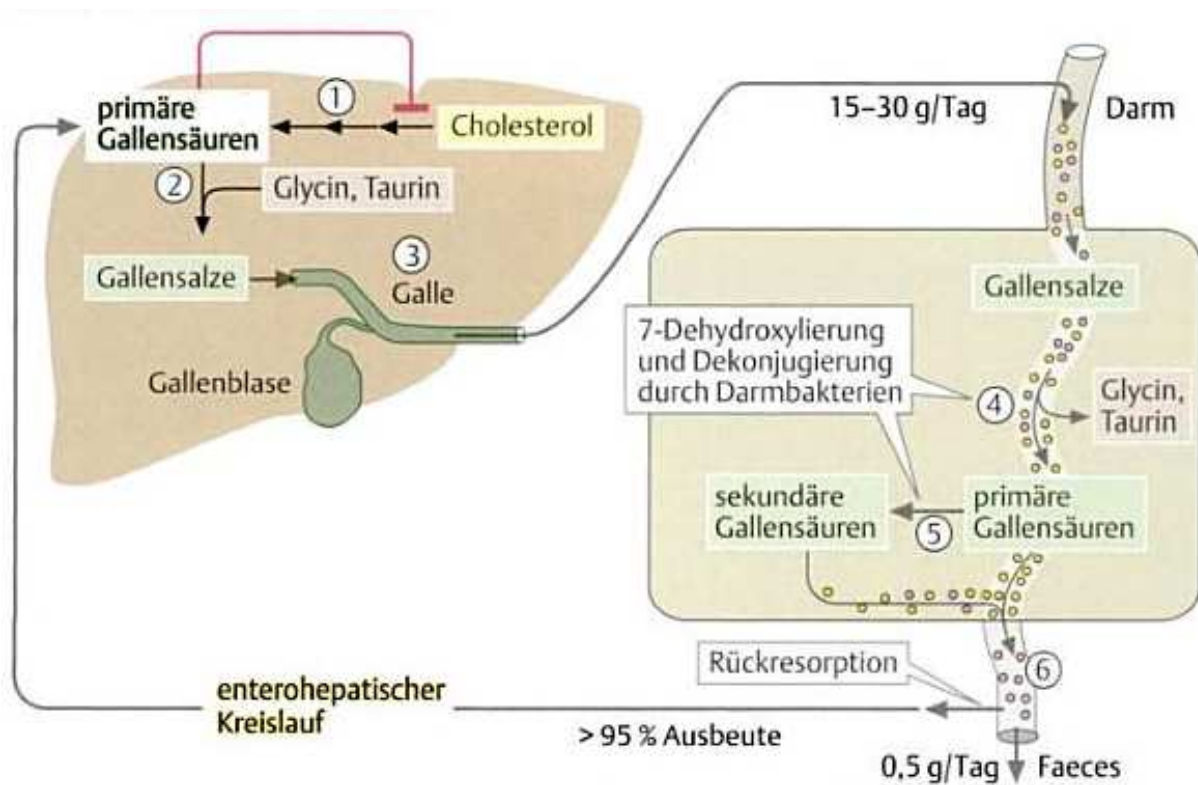
GS und deren Ausscheidung stellen die einzige Möglichkeit der Elimination von Cholesterin und Cholesterinderivaten dar. Werden die GS nach Bildung sofort benötigt, so werden sie von ihrem Bildungsort, den Hepatozyten, in das Darmlumen transportiert. Dort erfüllen sie wichtige Aufgaben des Stoffwechsels, bevor sie in das Kolon gelangen. Ausgeschieden werden die GS nach Erfüllung ihrer Aufgaben fäkal. Neben der Ausscheidung von Cholesterin und Cholesterinderivaten ist eine weitere wichtige Funktion die Aufnahme von Fetten, aber auch Eisen, Calcium und Kupfer aus der Nahrung (34). Durch die amphiphilen Eigenschaften von GS kommt es zur Mizellenbildung was wiederum möglich macht dass Fette und die fettlöslichen Vitamine A, D, E und K über den Darm aufgenommen und später weiter verarbeitet werden können. Außerdem stimulieren GS den Gallensäurefluss und die Sekretion von Phospholipiden in die Gallenflüssigkeit. Eine weitere Aufgabe ist, dass GS mit Hilfe des bereits erwähnten negativen Feedbackmechanismus der β -HMG-CoA-Reduktase und der Cholesterin-7- α -Hydroxylase die Cholesterinsynthese mitsteuern. Zuletzt fungieren GS auch als wichtige Signalmoleküle im Glucose- und Fettstoffwechsel (2).

1.3.2 Primäre und sekundäre Gallensäuren

Unterschieden wird zwischen primären und sekundären GS. Die primären GS Chenodesoxycholsäure (CDCA) und Cholsäure (CA), welche wie in Abbildung 3 dargestellt in der Gallenblase als Salze Chenodesoxycholat und Cholat vorliegen, entstehen durch Einführung von OH-Gruppen, Reduktion von Doppelbindungen und Kürzung von Doppelbindungen direkt im Hepatozyten aus Cholesterin. Nach der Bildung gelangen sie über den Ductus hepaticus communis und den Ductus cysticus in die Gallenblase. Dort werden sie durch die Resorption von Natriumchlorid und Wasser auf bis zu 10% des ursprünglichen Volumens stark eingedickt und als primäre GS gespeichert. Bei späterer Nahrungsaufnahme kommt es über einen Reiz des N.Vagus zur Ausschüttung der Hormone Cholezystokin (CCK) und Acetylcholin, was in weiterer

Folge einerseits den Schließmuskel der Gallenblase, den Sphincter Oddi, erschlaffen lässt und andererseits eine Gallenblasenkontraktion auslöst. Dies führt zur Ausschüttung der Gallenflüssigkeit über den Ductus choledochus direkt in das Duodenum. Die in den Darm ausgeschütteten GS werden von Darmbakterien durch Abspaltung von Glycin und Taurin wieder in konjugierte GS umgewandelt. Danach entstehen aus ihnen durch Dehydroxylierungsreaktionen die sekundären GS Deoxycholsäure (DCA), Lithocholsäure (LA) und Ursodeoxycholsäure (UDCA).

Abbildung 3: Schematische Darstellung des Stoffwechsels der Gallensäuren



1.3.3 Konjugate der Gallensäuren

Bevor die GS aus dem Hepatozyten gelangen, werden sie mit Glycin oder Taurin konjugiert, wobei physiologisch der Anteil an Glycin konjugierten GS überwiegt. So entstehen die in Tabelle 4 und 5 angeführten konjugierten GS.

Tabelle 4: Auflistung der Taurin konjugierten Gallensäuren

TCA	Taurocholsäure
TCDC	Taurochenodeoxycholsäure
TLA	Taurolithocholsäure
TUDCA	Tauroursodeoxycholsäure

Tabelle 5: Auflistung der Glycin konjugierten Gallensäuren

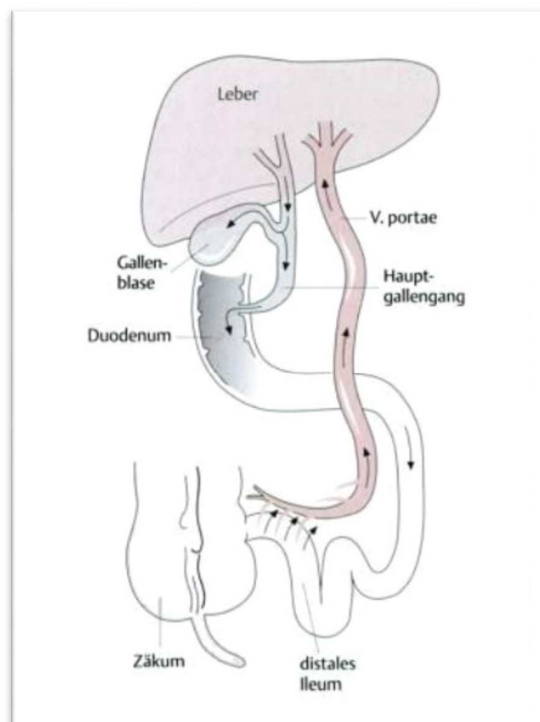
GCA	Glycholsäure
GCDCA	Glycochenodeoxycholsäure
GLA	Glycolithocholsäure
GUDCA	Glykoursodeoxycholsäure

1.3.4 Der enterohepatische Kreislauf

GS durchlaufen den sogenannten „enterohepatischen Kreislauf“. Nach jeder Mahlzeit werden GS über die in Kapitel 1.3.2 besprochenen Mechanismen in das Duodenum abgegeben. Ein Teil der GS wird im distalen Ileum mit Hilfe von aktiven Transportern resorbiert und gelangt über das Pfortaderblut zurück in die Leber. Deshalb ist während der Verdauung die Konzentration an GS im Blut relativ hoch- über den bereits in Kapitel 1.3.1 besprochenen negativen Feedbackmechanismus wird so die Neubildung gehemmt. Da etwa 20g GS für die Verdauung einer fettreichen Mahlzeit benötigt

werden, die Leber täglich aber nur 200-500mg neu synthetisiert, müssen etwa 95% der sich im Darmlumen befindenden GS diesen Kreislauf durchlaufen. Nur so können genügend Fette und fettlösliche Vitamine aufgenommen und verdaut werden (2). Jedes einzelne Gallensäuremolekül durchläuft diesen Kreislauf bis zu 18-mal, bevor es weiter in das Kolon gelangt. Bei jedem Verdauungsvorgang gelangt der Teil der GS, der nicht rückresorbiert wird, in das Kolon, wo sie mit den Lipiden der luminalen Epithelzellen interagiert und die Wasserpermeabilität erhöhen damit der Stuhl ausreichend eingedickt werden kann. Funktioniert dies nicht oder nur eingeschränkt, so kommt es zu Durchfällen. Auch im Kolon werden noch GS passiv wiederaufgenommen. Der Rest, nämlich 200-500mg täglich, wird mit dem Stuhl ausgeschieden. Dies entspricht genau der Menge, die täglich neu gebildet wird (35).

Abbildung 4: Darstellung des enterohepatischen Kreislaufs



Der enterohepatische Kreislauf kann an unterschiedlichster Stelle gestört sein. Kann Gallenflüssigkeit aufgrund mechanischer Hindernisse wie Steinbildungen oder tumorösen Veränderungen nicht oder nicht ausreichend aus der Gallenblase sezerniert werden kommt es nicht nur zu schmerzhaften Koliken durch Cholestase sondern auch zum zunehmenden posthepatischen Ikterus, Müdigkeit, Juckreiz und Übelkeit (36). Können GS aufgrund gestörter Transporter nicht ausreichend rückresorbiert werden gelangt ein größerer Teil an GS in das Colon wo einerseits durch die Dekonjugation durch Dickdarmbakterien Kokarzinogene gebildet werden, andererseits kann es durch Reizung der Schleimhaut chologischen Diarrhoen kommen (37).

2 Zielsetzung und Fragestellung

Das Hauptaugenmerk der Arbeit richtet sich im Wesentlichen auf zwei Gruppen. Einerseits RG mit unterschiedlichen Erkrankungen bei denen ein eventueller Zusammenhang mit im Serum gemessenen gesamt GS-Werten besteht. Andererseits FG bei denen die gesamt GS-Werte in Abhängigkeit des Gestationsalters untersucht werden. Außerdem werden GS-Profile erstellt um herauszufinden, ob einzelne GS im Zusammenhang mit BI, AS oder Frühgeburtlichkeit signifikant verändert sind.

Verglichen werden die Werte jeweils mit einer Kontrollgruppe, welche aus 88 gesunden RG besteht bei denen innerhalb der ersten 3 Tage eine Blutentnahme und Bestimmung der GS stattgefunden hat.

In dieser Arbeit sollen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- Gibt es signifikante Unterschiede in Gesamt-GS-Werten bei RG mit BI oder perinataler AS verglichen mit der Kontrollgruppe?
- Gibt es signifikante Unterschiede in Gesamt-GS-Werten bei FG verglichen mit der Kontrollgruppe?
- Gibt es signifikante Unterschiede der GS-Profile der einzelnen Gruppen verglichen mit der Kontrollgruppe?

3 Material und Methoden

3.1 Methoden zur Bestimmung von Gallensäuren

3.1.1 Chromatographie

Der Begriff Chromatographie (chroma, griech.: Farbe und Graphein, griech.: schreiben) wurde vom russischen Botaniker MICHAIL TSWETT eingeführt, als er beobachtete, dass sich scheinbar einfarbige Pflanzenfarbstoffe beim Durchsickern durch fein gepulverten Kalk in verschiedene Bestandteile auftrennen ließen.

Allen chromatographischen Methoden gemeinsam sind die Trennprinzipien: Adsorption und Verteilung. Eine Probe wird mit Hilfe eines fluiden Mediums (der mobilen Phase) an einem kondensierten Material (der stationären Phase, häufig an einen Träger gebunden) vorbeigeführt. Bei diesem Vorgang werden die Teilchen der Probe unterschiedlich stark adsorbiert oder bei Anwesenheit eines Fluidfilms gelöst und weitertransportiert. In Abhängigkeit von ihrer Verteilung zwischen den Phasen wandern die Komponenten eines Gemisches folglich mit unterschiedlicher Geschwindigkeit in Strömungsrichtung der mobilen Phase und lassen sich so voneinander trennen. Entsprechend der Art der Phasen die miteinander in Kontakt gebracht werden kann man die wichtigsten Chromatographie-Techniken folgendermaßen charakterisieren (6).

Tabelle 6: Auflistung der unterschiedlichen Chromatographie-Techniken nach mobiler und stationärer Phase

Mobile Phase	Stationäre Phase	Chromatographie-Technik
flüssig	fest	Dünnschichtchromatographie (DC) Papierchromatographie (PC) Säulenchromatographie (SC, HPLC, GPC)
flüssig	flüssig	Extraktionschromatographie
gasförmig	fest oder flüssig	Gaschromatographie (GC)

3.1.2 HPLC

Die High-performance liquid chromatography (HPLC), oder auch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie genannt, ist eine spezielle Form der Chromatographie mit der man nicht nur Substanzen voneinander trennen, sondern diese auch quantifizieren kann. Wie bei allen chromatographischen Trennverfahren wird die zu untersuchende Substanz mit einer mobilen Phase durch eine Trennsäule gepumpt. In Abhängigkeit der Testsubstanz und deren Interaktion mit stationärer und mobiler Phase findet die Auftrennung statt. Im Gegensatz zur Gaschromatographie können bei der HPLC die einzelnen Klassen von GS, also Glycin- oder Taurin-Konjugate, analysiert werden ohne vorausgehende Derivatisierung. Dadurch kann eine hohe Anzahl an GS in kurzer Zeit bestimmt werden.

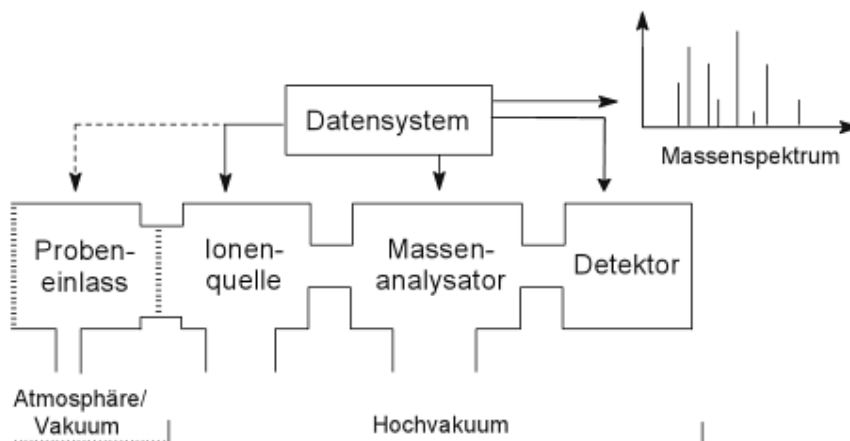
3.1.3 Massenspektrometrie

Bei der Massenspektrometrie (MS) werden aus organischen oder anorganischen Substanzen Ionen erzeugt, anhand ihres Masse-zu Ladungs-Verhältnis (m/z) sortiert und anschließend quantifiziert. Dazu sind einige Schritte notwendig die wie folgt nacheinander stattfinden: Aus neutralen Molekülen oder ionischen Strukturen eines Gases oder eines Festkörpers werden Ionen erzeugt. Die Ionisation der Substanzen

kann thermisch, durch elektrische Felder oder durch Beschuss der Probe mit energiereichen Elektronen, Ionen oder Photonen erfolgen. Danach werden die Ionen mit Hilfe elektrischer und magnetischer Felder voneinander getrennt und quantitativ nachgewiesen.

In Abbildung 5 wird das Grundschaema nach dem alle Massenspektrometer aufgebaut sind dargestellt. Es besteht aus einer Ionenquelle, einem Massenanalysator und einem Detektor, die unter Hochvakuum betrieben werden. Außerdem sind Vorrichtungen zur Probenezuführung, Verdampfung und Ionisation vorhanden (5).

Abbildung 5: Schematische Darstellung des Grundaufbau eines Massenspektrometers



3.1.4 HPLC-MS

Für eine höhere Auflösung können massenspektrometrische und chromatographische Methoden gekoppelt werden, wie etwa die HPLC-MS (high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry). Am Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Universitätsklinik Graz wird eben diese HPLC-MS verwendet.

Die HPLC-MS ist eine Flüssigkeitschromatographie, die Komponenten die sich in Lösung befinden, voneinander trennt. Die Probe auf eine Säule gebracht und die Komponenten voneinander getrennt. Die verschiedenen Komponenten passieren diese Säule mit unterschiedlicher Geschwindigkeit, jeweils abhängig von ihren chemischen Eigenschaften und Wechselwirkung mit der stationären Phase der Säule. Mit Hilfe der Massenspektrometrie werden nun die Moleküle in einem elektrischen Feld beschleunigt und in einem Magnetfeld in unterschiedliche Ausrichtungen gebracht. So lässt sich die Molekülmasse und das Molekulargewicht genau bestimmen, was wiederum einen Rückschluss auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung einer Verbindung zulässt (5).

3.2 Patientenkollektiv

Aufgrund vorangegangener Arbeiten von Barbara Stering , Melanie Prietl-Glößl, und Annemarie Saringer, die sich mit dem Thema „Gallensäuren in der Pädiatrie“ im weitesten Sinne beschäftigen und die an der Abteilung für Kinder- und Jugendheilkunde der Universitätsklinik Graz bereits verfasst wurden sind bereits gesammelte Daten vorhanden. Diese wurden zwischen 2012 und 2014 erhoben und in Tabellen zusammengefasst. Zur neuerlichen Verwendung und Auswertung der Daten wurde ein Ethikantrag (26-215ex 13/14), sowie eine Zustimmung eingeholt.

3.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Für die vorliegende Arbeit wurden ausschließlich Werte von NG ausgewertet bei welchen innerhalb der ersten drei Lebenstage Blutproben entnommen und analysiert wurden. Die Datensätze wurden in zwei große Gruppen unterteilt: FG und RG.

Folgende Einschlusskriterien wurden für die Gruppe der FG festgelegt:

- Probenentnahme innerhalb der ersten drei Lebenstage
- Schwangerschaftsalter bei Geburt maximal 36+6 SSW
- Probenanalyse auf Gesamt GS und GS-Profil
- Vorliegen folgender Daten: Geburtsdatum, Geschlecht, Schwangerschaftsalter
- Restblut von mindestens 50µl, welches sonst verworfen werden würde

Folgende Ausschlusskriterien wurden für die Gruppe der FG festgelegt:

- Probenentnahme später als drei Tage nach Geburt
- FG mit genetischen Defekten
- FG mit komplexen Syndromen

Folgende Einschlusskriterien wurden für die Gruppe der RG festgelegt:

- Probenentnahme innerhalb der ersten drei Lebenstage
- Schwangerschaftsalter bei Geburt mindestens 37+0 SSW
- Probenanalyse auf Gesamt GS und GS-Profil
- Vorliegen folgender Daten: Geburtsdatum, Geschlecht, Schwangerschaftsalter
- Zuteilbar laut Arztbrief zu den Untergruppen BI, AS oder Kontrollgruppe
- Restblut von mindestens 50µl, welches sonst verworfen werden würde.

Die Zuteilung zu den Gruppen BI und AS erfolge aufgrund folgender Kriterien:

- BI: CRP-Wert >5mg/l, Diagnose BI im Arztbrief
- AS: pH<7, Diagnose AS im Arztbrief

Folgende Ausschlusskriterien wurden für die Gruppe der RG festgelegt:

- Probenentnahme später als drei Tage nach Geburt
- RG mit genetischen Defekten
- RG mit komplexen Syndromen
- RG mit Erkrankungen die sich nicht einer der zu untersuchenden Gruppen zuordnen ließen.

Die Kontrollgruppe bestand aus 88 gesunden RG bei denen innerhalb der ersten 3 Lebenstage eine Blutentnahme und darauf folgend eine Bestimmung der GS stattgefunden hatte.

3.4 Auswertung der Proben

Zur Erhebung der Daten wurde Probenmaterial verwendet, welches zur serologischen Diagnostik abgenommen wurde. Für keine weiteren Diagnosezwecke im Interesse der

PatientInnen mehr benötigtes Restblut wurde zur Bestimmung der Gesamt GS und des GS-Profils verwendet. Die Bestimmung der Gesamt-GS und der GS-Profile erfolgte mit der, in Kapitel 1.3.5.4. beschriebenen, HPLC-MS am Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Universitätsklinik Graz.

3.5. Statistische Auswertung

Die Mittelwerte der unterschiedlichen Studiengruppen und der Kontrollgruppe wurden mittels T-Test für unabhängige Stichproben verglichen.

Die Grenze für die statistische Signifikanz wurde ein p-Wert <0.05 angenommen, das Konfidenzintervall lag bei 95%.

Die Werte wurden sowohl für jede Gruppe einzeln als auch im zusammengefasst für FG und RG ausgewertet, jeweils auch im Vergleich zur Kontrollgruppe.

4 Ergebnisse

4.1 Frühgeborene

4.1.1 Patientencharakterisierung

Erfasst wurden insgesamt 115 FG, bei denen zwischen Mai 2013 und September 2014 innerhalb der ersten 3 Lebenstagen Blutproben entnommen wurden. Die Proben stammen von unterschiedlichen Abteilungen, zumeist von der Abteilung für Neonatologie und der neonatologischen Intensivstation der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz. Von der Auswertung ausgeschlossen wurden FG mit genetischem Defekt oder komplexen Syndromen. Die verbleibenden FG wurden wie in Tabelle 7 dargestellt in 3 Gruppen unterteilt.

Tabelle 7: Gruppeneinteilung und Gruppengröße der Frühgeborenen

	SSW	Anzahl
Gruppe 1	23-28	25
Gruppe 2	29-32	37
Gruppe 3	>32	53
Gesamt		115

SSW = Schwangerschaftswoche

4.1.2. Gesamtgallensäuren nach Schwangerschaftswoche

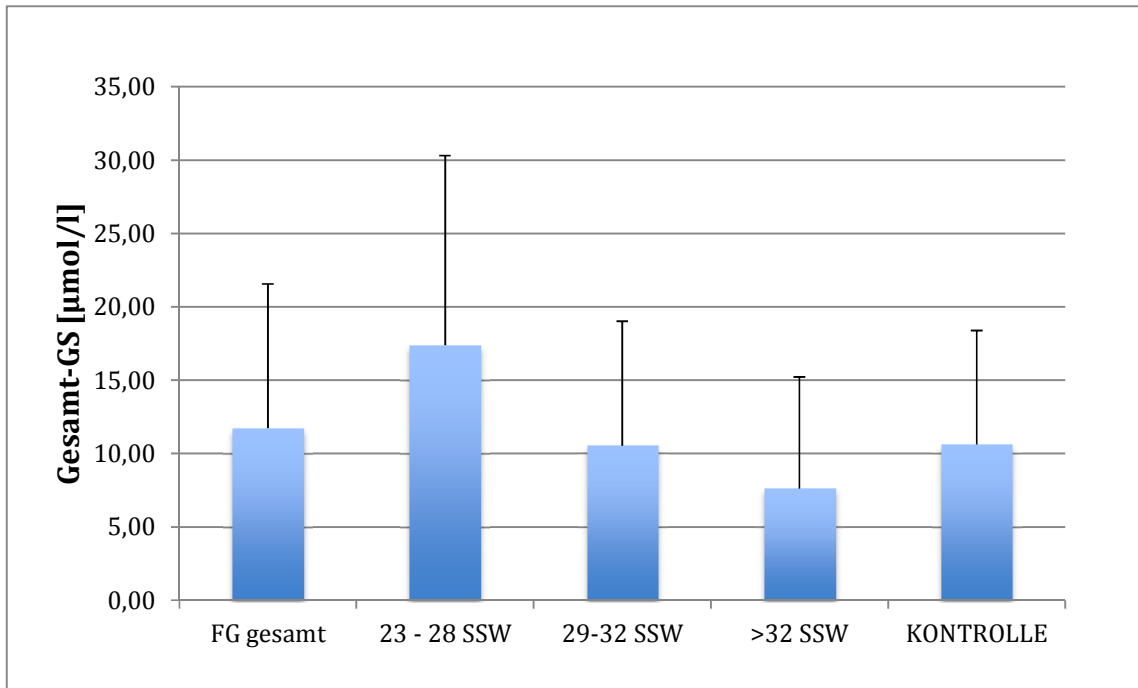
Die Bestimmung der Gesamt-GS erfolgte im Serum. Die Mittelwerte, die Standardabweichung und die Anzahl der Proben der jeweiligen Gruppen sind in Tabelle 8 dargestellt. Festzustellen ist, dass die im Serum gemessenen Gesamt-GS in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter bei Geburt unterschiedlich sind. Die gemessenen Werte an Gesamt-GS im Serum sind in Abbildung 6 dargestellt. Kinder die vor 29 SSW geboren wurden zeigen mit einem Mittelwert von 17,39 $\mu\text{mol/l}$ signifikant erhöhte GS-Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe mit p-Wert von 0,031. Kinder die zwischen 29 und 32 SSW geboren werden haben annähernd gleiche Werte wie jene der Kontrollgruppe. Bei FG ab 32 SSW sinken die gemessenen Werte unter jene der Kontrollgruppe.

Tabelle 8: Mittelwerte der Gallensäuren der einzelnen Gruppen, aufgelistet nach Schwangerschaftswochen

Schwangerschaftsalter	Mittelwert	Standardabweichung	N
Kontrollgruppe	10,62	8,52	88
>32 SSW	7,61	7,63	53
29 -32 SSW	10,53	8,47	37
23 -28 SSW	17,39	12,93	25
FG gesamt	11,73	9,82	115

Werte jeweils in $\mu\text{mol/l}$, N= Anzahl der Proben, „SSW = Schwangerschaftswoche

Abbildung 6: Grafische Darstellung der Gallensäuremittelwerte von Früh- und Reifgeborenen im Vergleich



SSW = Schwangerschaftswoche, FG = Frühgeborene, GS = Gallensäuren

4.1.3. Vergleich zur Kontrollgruppe

Vergleicht man die gemessenen Werte der FG mit jenen gesunder RG so zeigt sich, dass beinahe alle FG einen Gesamt-GS Spiegel haben der über dem der RG liegt. Lediglich FG die 33 Wochen oder älter zur Welt kamen haben mit einem Mittelwert von 7,61 µmol/l niedrigere Werte als die Kontrollgruppe. Vergleicht man die Ergebnisse der RG mit denen der FG der die in der 29 bis 32 SSW geboren wurden und deren Mittelwert bei 10,53 µmol/l liegen die gemessenen Werte der FG bereits darüber. Vergleicht man nun Werte gesunder RG mit 10,62 µmol/l mit FG die bereits vor 29 SSW zur Welt kamen und einen Mittelwert von 17,39 µmol/l haben, so liegen die gemessenen Werte deutlich darüber und sind mit einem p-Wert von 0,031 signifikant erhöht. Die Werte der einzelnen Gruppen sind in Tabelle 8 dargestellt.

4.2 Reifgeborene

4.2.1 Patientencharakterisierung

Die zweite große Gruppe des Patientenkollektives besteht aus 130 RG bei denen zwischen Oktober 2012 und September 2014 ebenfalls bis maximal drei Tage nach der Geburt eine Blutabnahme zur Auswertung erfolgte. Auch hier wurden RG mit komplexen Syndromen oder genetischen Defekten nicht in die Auswertung mit einbezogen. Die verbleibenden RG wurden wie in Tabelle 9 dargestellt nach ihrer Grunderkrankung in drei unterschiedliche Gruppen eingeteilt. Es konnten 88 lebergesunde RG als Kontrollgruppe, 36 RG mit BI laut Arztbrief und 6 RG mit perinataler AS, ebenso laut Arztbrief in der Auswertung berücksichtigt werden.

Tabelle 9: Gruppeneinteilung und Gruppengröße der Reifgeborenen

	Gruppeneinteilung	Anzahl
Gruppe 1	Asphyxie	6
Gruppe 2	Bakterielle Infektion	36
Gruppe 3	Kontrollgruppe	88
Gesamt		130

4.2.2 Gesamtgallensäuren der Reifgeborenen

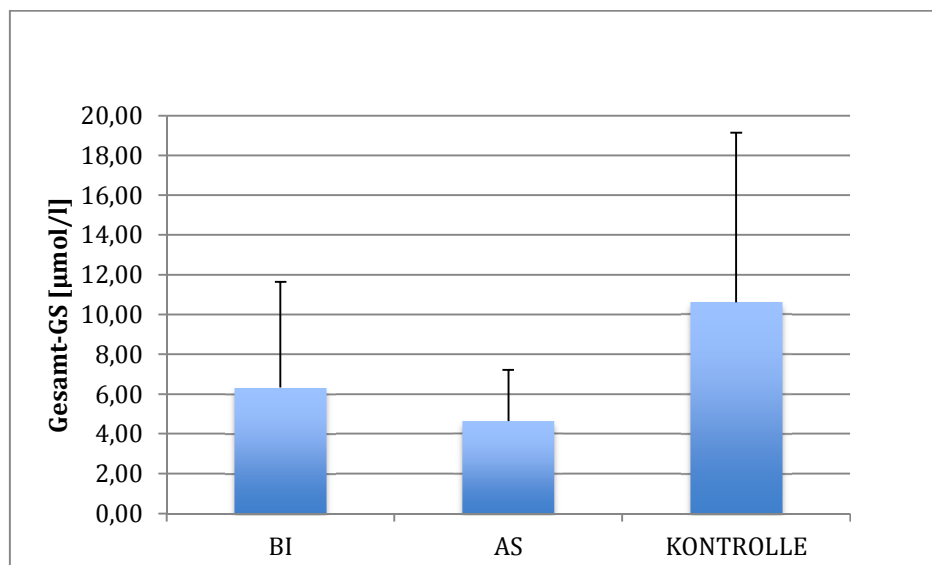
Die Gesamt-GS wurden im Serum bestimmt. In Tabelle 10 sind Mittelwerte, Standardabweichungen und die Anzahl der Proben der jeweiligen Gruppen dargestellt. Bereits hier ist erkennbar dass die Kontrollgruppe höhere GS Werte zeigt als kranke Kinder. In Abhängigkeit der Erkrankung ist dieser Unterschied mehr oder weniger ausgeprägt. In Abbildung 7 sind die einzelnen Werte graphisch dargestellt.

Tabelle 10: Mittelwerte der Gallensäuren der einzelnen Gruppen der Reifgeborenen

Gruppeneinteilung	Mittelwert	Standardabweichung	N
Asphyxie	4,63	2,58	6
Bakterielle Infektion	6,33	5,31	36
Kontrollgruppe	10,62	8,52	88

Werte jeweils in $\mu\text{mol/l}$, N= Anzahl der Proben

Abbildung 7: Grafische Darstellung der Gallensäuremittelwerte von Reifgeborenen mit Bakterieller Infektion und Asphyxie, verglichen mit der Kontrollgruppe



BI = bakterielle Infektion, AS = Asphyxie, GS = Gallensäuren

4.2.3 Vergleich der Kontrollgruppe zu bakterielle Infektion

Vergleicht man die gemessenen Werte der Kontrollgruppe, die einen Mittelwert von 10,62 $\mu\text{mol/l}$ aufweisen mit RG mit BI deren Mittelwert der Gesamt-GS bei 6,33 $\mu\text{mol/l}$ (siehe Tabelle 10) liegt so ergibt sich mit einem p-Wert von 0,005 ein signifikanter Unterschied. Die Gesamt-GS von Kindern mit BI sind also deutlich niedriger als jene der Kontrollgruppe.

4.2.4 Vergleich Kontrollgruppe zu Asphyxie

Kinder mit perinataler AS zeigen mit einem Mittelwert von 4,63 $\mu\text{mol/l}$ (siehe Tabelle 10) Gesamt-GS deutlich niedrigere Werte als jene der Kontrollgruppe. Es ergibt sich der größte Unterschied in den gemessenen Werten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied kann jedoch aufgrund der geringen Probenzahl nicht nachgewiesen werden.

4.2.5 Vergleich zu Normwerten

Barbara Stering beschäftigte sich in ihrer Diplomarbeit ausführlich mit der Bestimmung von Normwerten von GS bei Kindern und Jugendlichen. Bei Kindern zwischen 0 und 5 Monaten fand sie einen Mittelwert der Gesamt-GS von 5,09 $\mu\text{mol/l}$ bei einer Standardabweichung von 2,20 $\mu\text{mol/l}$. Verglichen mit den hier gemessenen Werten lebergesunder RG von 10,62 $\mu\text{mol/l}$ ist dies ein deutlich niedrigerer Wert. Auch verglichen mit RG mit BI und deren Gesamt-GS Werten von 6,33 $\mu\text{mol/l}$ zeigen sich die hier gemessenen Werte höher als die bestimmten Normwerte. Nur die GS-Werte RG mit AS mit einem Mittelwert von 4,63 $\mu\text{mol/l}$ nähern sich an die von Barbara Stering definierten Normwerte an.

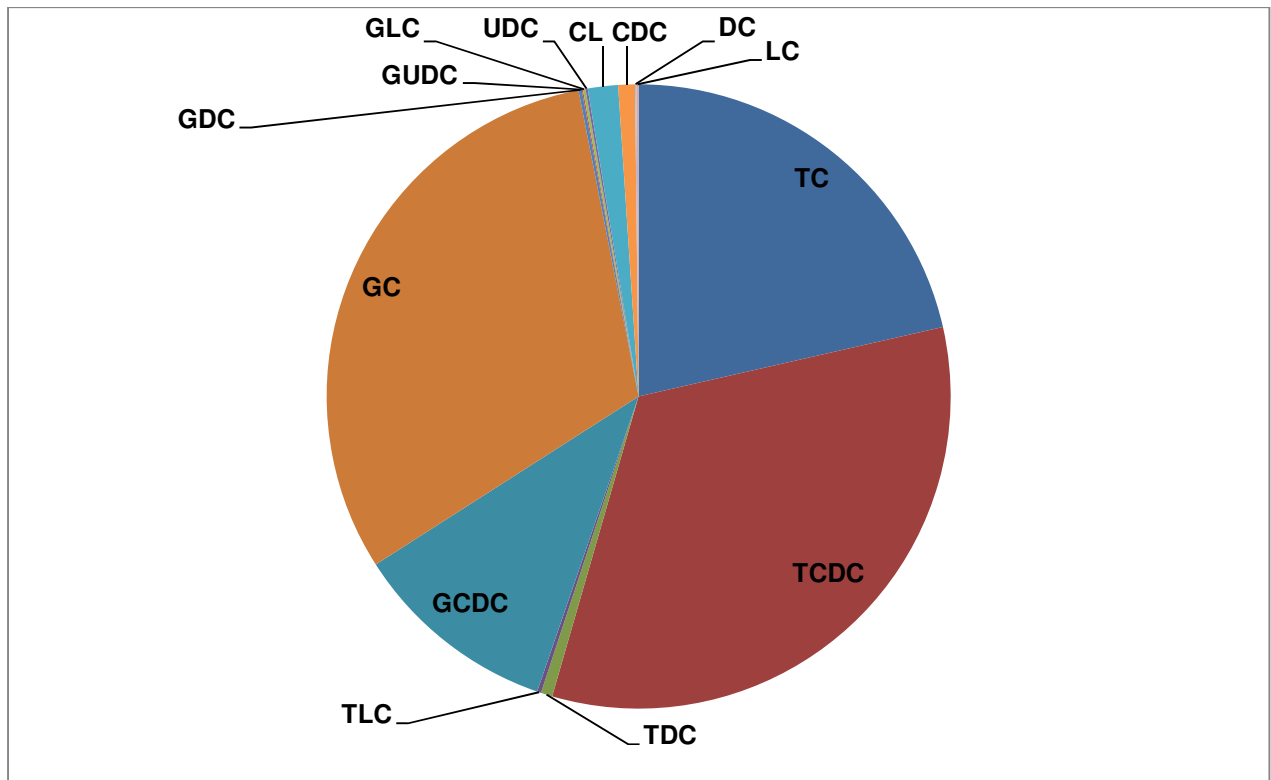
4.3 Gallensäureprofile

Untersucht wurden jeweils die einzelnen GS der unterschiedlichen Gruppen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die jeweiligen Werte in Tabellen vermerkt. (Siehe Tabelle 12 und Tabelle 13). In den graphischen Darstellungen der GS Profile sind jeweils die am häufigsten vorkommenden GS markiert.

4.3.1 Gallensäureprofil der Kontrollgruppe

Das GS-Profil der Kontrollgruppe gilt jeweils als Vergleichsbasis um Aussagen über die GS Profile der jeweiligen Gruppen der RG und FG treffen zu können. Die genauen Werte der einzelnen GS der Kontrollgruppe sind in Tabelle 11 aufgelistet.

Abbildung 8: Grafische Darstellung der Gallensäuren- Verteilung der Kontrollgruppe



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

Tabelle 11: Mittelwerte der einzelnen Gallensäuren der gesunden Reifgeborenen

	Kontrollgruppe
TC	2,28
TCDC	3,51
TDC	0,06
TLC	0,02
GCDC	1,13
GC	3,29
GDC	0,02
GUDC	0,01
GLC	0,01
UDC	0,01
CL	0,17
CDC	0,09
DC	0,01
LC	0,01

Werte jeweils in $\mu\text{mol/l}$, TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; CA= Cholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

Tabelle 12: Mittelwerte der einzelnen Gallensäuren der Frühgeborenen, aufgelistet nach Schwangerschaftswochen

	FG 23 -28 SSW	FG 29 -32 SSW	FG >32 SSW
TC	2,06	1,68	1,96
TCDC	3,56	4,19	4,65
TDC	0,06	0,01	0,05
TLC	0,01	0,02	0,01
GCDC	0,55	0,69	0,81
GC	9,01	3,48	3,01
GDC	0,03	0,02	0,01
GUDC	0,02	0,15	0,06
GLC	0,01	0,01	0,00
UDC	0,02	0,07	0,01
CL	0,07	0,07	0,08
CDC	0,08	0,06	0,06
DC	0,06	0,02	0,01
LC	0,04	0,04	0,02

Werte jeweils in $\mu\text{mol/l}$, SSW = Schwangerschaftswoche, TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure;

CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA=

Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA=

Glycodeoxycholsäure; CA= Cholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA=

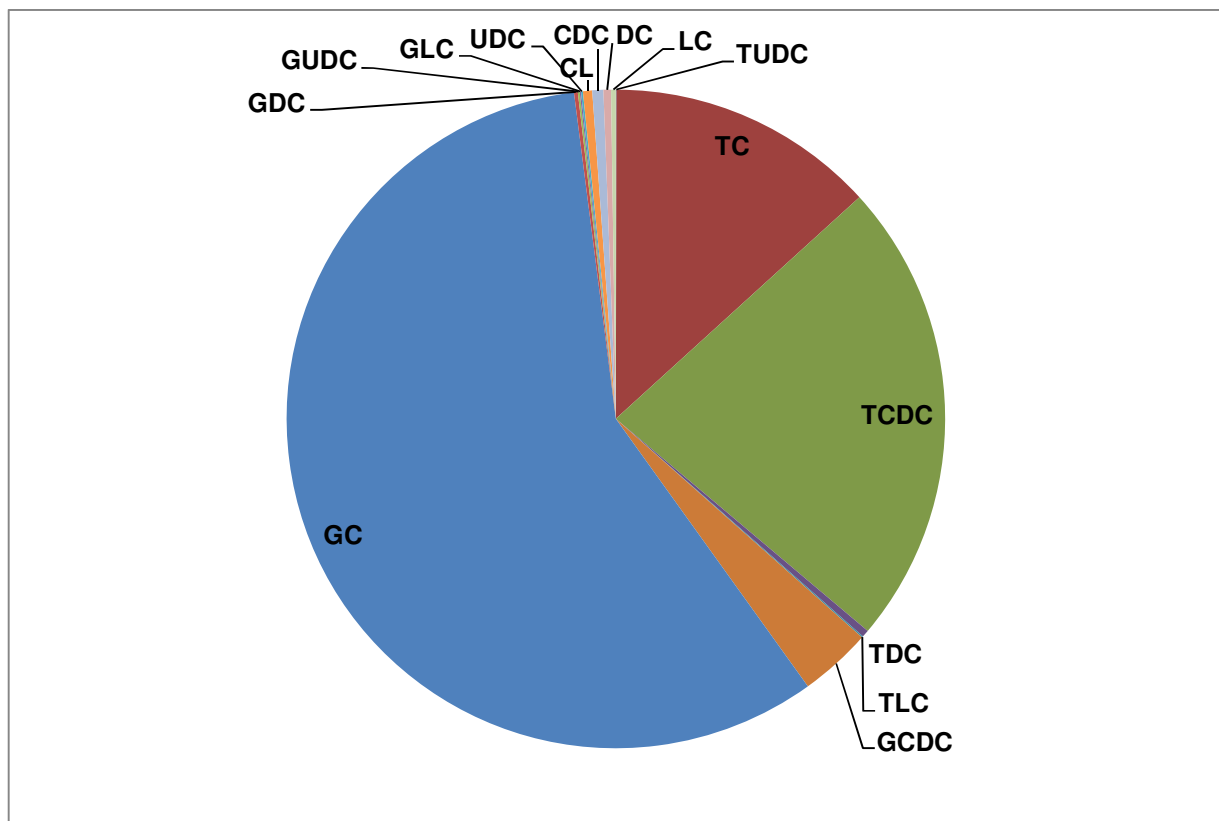
Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA=

Glycoursodeoxycholsäure

4.3.1.1 Frühgeborene der 23 bis 28 Schwangerschaftswoche

Die Abbildung macht deutlich dass FG der 23 -28 SSW verglichen mit der Kontrollgruppe deutlich niedrigere GCDC Werte zeigen. GC hingegen liegt bei dieser Gruppe in höherer Konzentration vor als bei der Kontrollgruppe. Signifikante Unterschiede in den Konzentrationen ließen sich jedoch nicht feststellen.

Abbildung 9: Grafische Darstellung der Gallensäuren- Verteilung der Frühgeborenen der 23 – 28 Schwangerschaftswoche

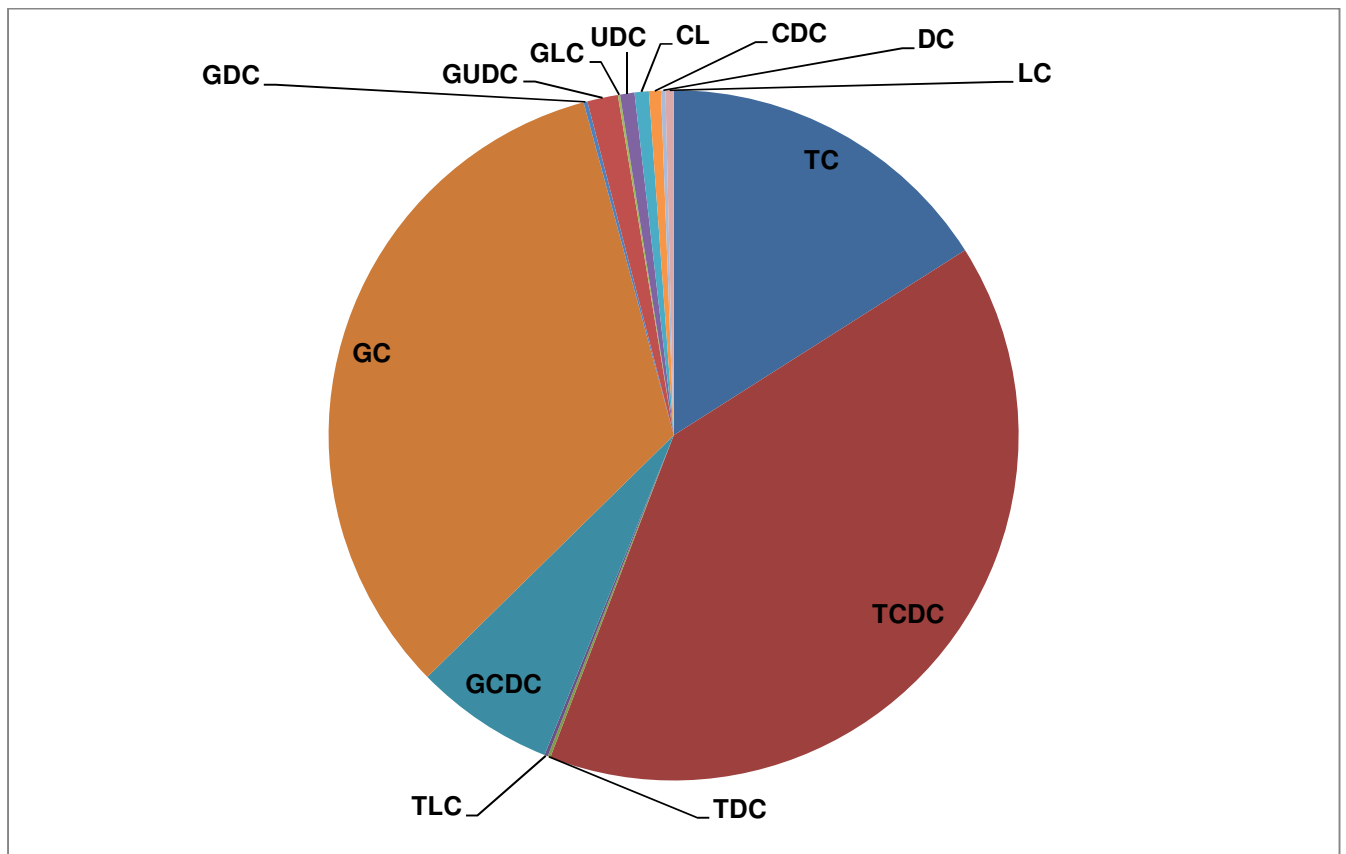


TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; CA= Cholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Tauroolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA=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

4.3.1.2 Frühgeborene der 29 bis 32 Schwangerschaftswoche

Bereits bei der Gruppe der FG der 29 bis 32 SSW ergeben sich, wie in Abbildung 10 dargestellt, andere Aufteilungen der einzelnen GS. Verglichen mit der Kontrollgruppe liegen GC und TCDC in annähernd gleicher Konzentration vor. Die genauen Werte sind in Tabelle 12 dargestellt. Auch hier ergeben sich keine signifikanten Unterschiede.

Abbildung 10: Grafische Darstellung der Gallensäuren-Verteilung der Frühgeborenen der 29 – 32 Schwangerschaftswoche

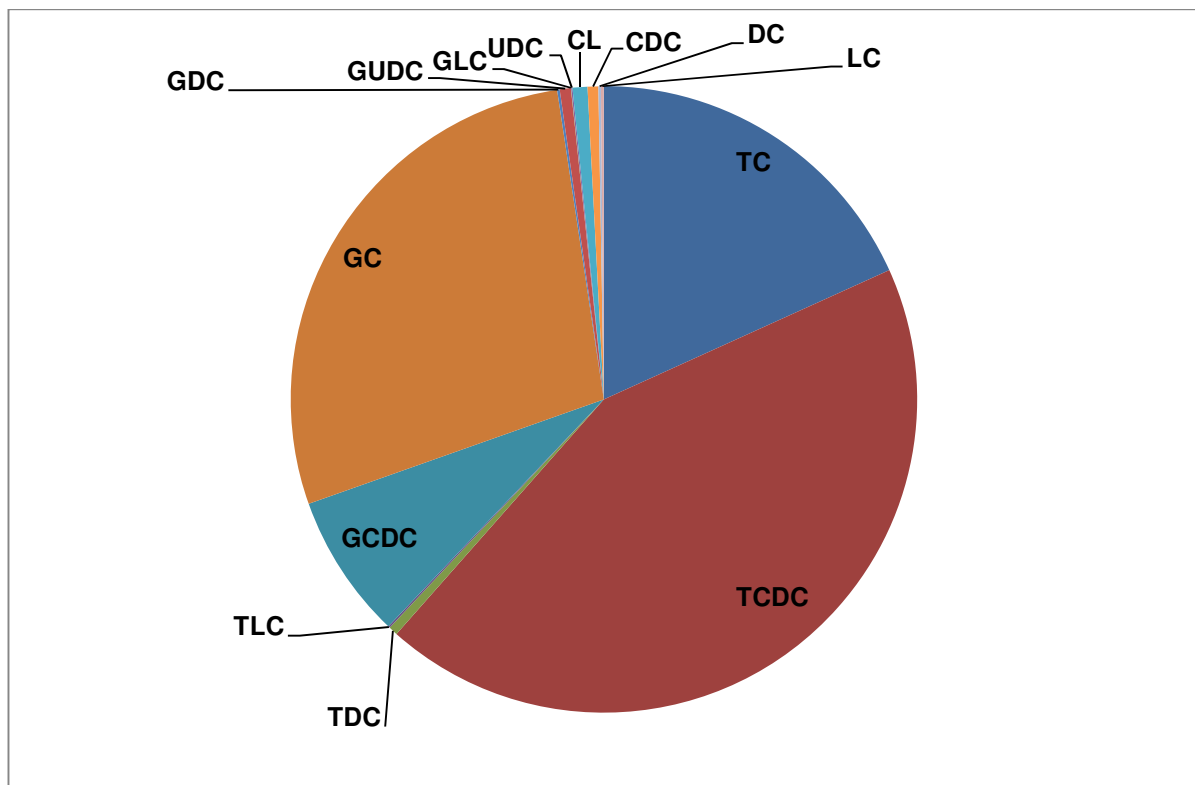


TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDC= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; CA= Cholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA=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

4.3.1.3 Frühgeborene nach 32 Schwangerschaftswochen

Das GS Profil der FG nach 32 SSW unterscheidet sich nur noch gering von jenem der Kontrollgruppe. Signifikante Unterschiede konnten nicht nachgewiesen werden.

Abbildung 11: Grafische Darstellung der Gallensäure – Verteilung der Frühgeborenen nach 32 Schwangerschaftswochen



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

4.3.1.4 Zusammenfassung der Gallensäureprofile der Frühgeborenen

Obwohl die einzelnen GS zum Teil in sehr unterschiedlicher Menge vorliegen ergeben sich kaum signifikante Unterschiede. Es fällt jedoch auf das GC mit längerer Schwangerschaftsdauer abnimmt und TCDC im Gegenzug dazu zunimmt.

4.3.1.5 Gallensäureprofile der Reifgeborenen

Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind in Tabelle 12 sind die einzelnen Werte der GS Profile der RG aufgelistet.

Tabelle 13: Mittelwerte der einzelnen Gallensäuren der Reifgeborenen, aufgelistet nach Grunderkrankung

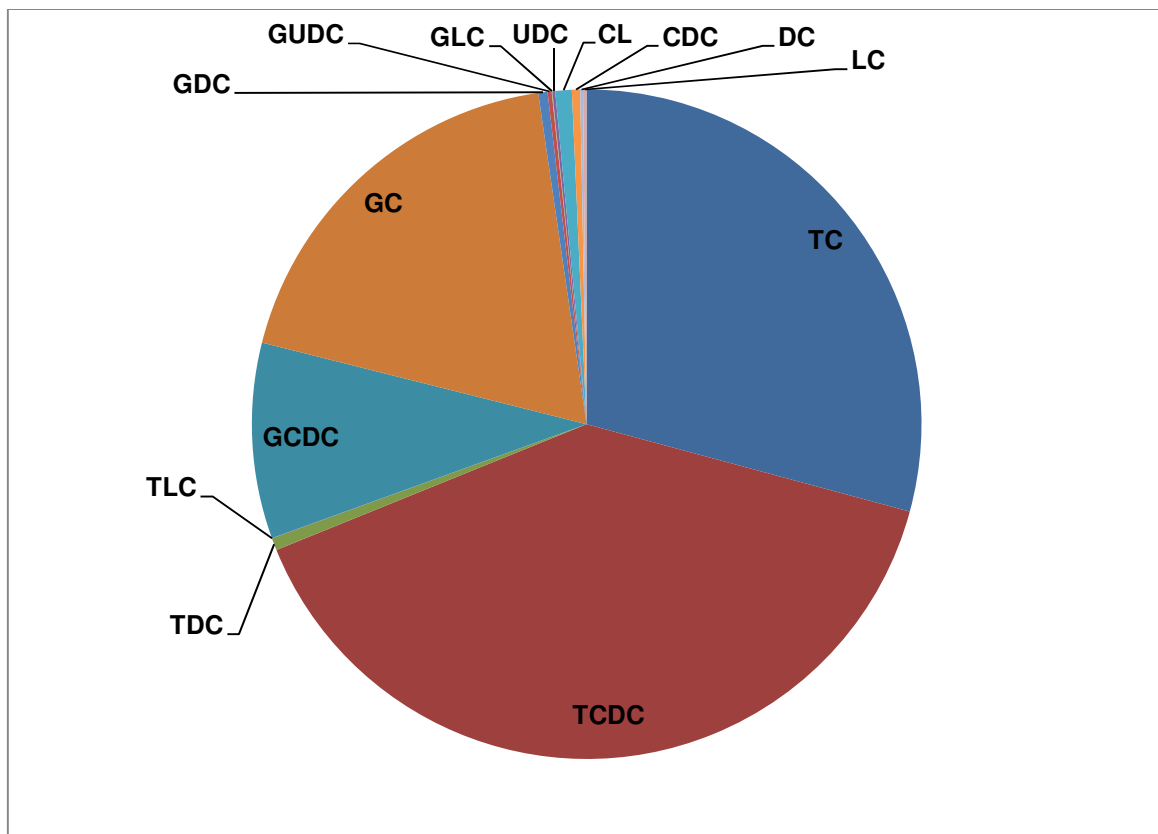
	BI	AS
TC	1,84	0,69
TCDC	2,50	1,64
TDC	0,04	0,00
TLC	0,00	0,00
GCDC	0,60	0,64
GC	1,18	1,52
GDC	0,03	0,02
GUDC	0,01	0,12
GLC	0,00	0,01
UDC	0,01	0,00
CL	0,05	0,03
CDC	0,02	0,04
DC	0,01	0,01
LC	0,01	0,00

Werte jeweils in $\mu\text{mol/l}$, BI = bakterielle Infektion, AS = Asphyxie, TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycocholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glycochenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; CA= Cholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure, TUDCA= Tauroursodeoxycholsäure; GUDCA= Glycoursodeoxycholsäure

4.3.1.6 Reifgeborene mit bakterieller Infektion

Verglichen mit der Kontrollgruppe zeigen RG mit BI eine höhere Konzentration an Taurin konjugierten GS haben, verglichen mit der Kontrollgruppe. Trotz Varianzen der anderen GS zeigen sich keine signifikanten Unterschiede.

Abbildung 12: Grafische Darstellung der Gallensäuren – Verteilung der Reifgeborenen mit bakterieller Infektion

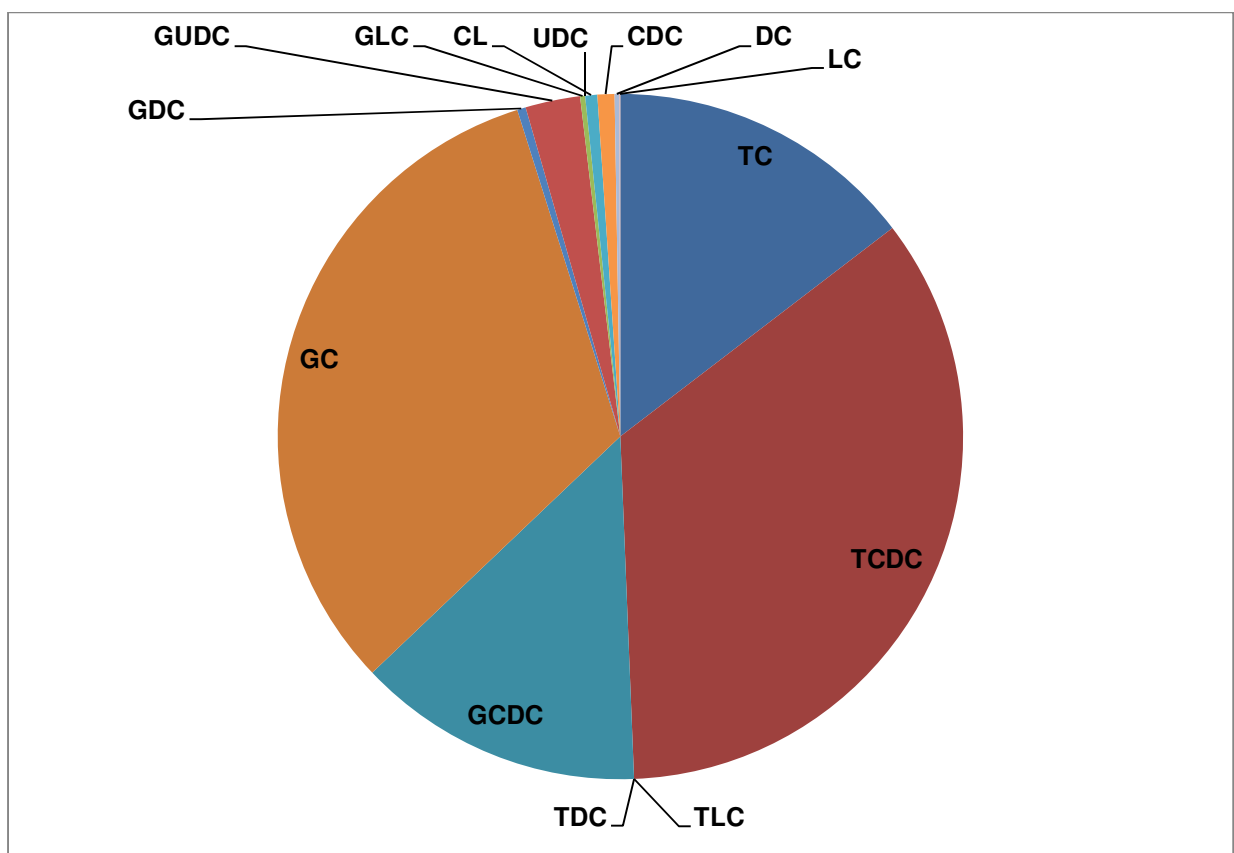


TCA= Taurocholsäure; GCA= Glycholsäure; CDCA= Chenodeoxycholsäure; TCDCA= Taurochenodeoxycholsäure; GCDCA= Glychenodeoxycholsäure; DCA= Deoxycholsäure; TDCA= Taurodeoxycholsäure; GDCA= Glycodeoxycholsäure; CA= Cholsäure; LA= Lithocholsäure; TLA= Taurolithocholsäure, GLA= Glycolithocholsäure; UDCA= Ursodeoxycholsäure,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

4.3.1.7 Reifgeborene mit Asphyxie

RG mit AS zeigen im GS Profil verglichen mit der Kontrollgruppe erniedrigte TC und TCDC Werte. Die restlichen GS weichen in ihrer Konzentration gering von jenen der Kontrollgruppe ab. Signifikante Unterschiede ließen sich nicht feststellen.

Abbildung 13: Grafische Darstellung der Gallensäuren – Verteilung der Reifgeborenen mit Asphyxie



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

4.3.1.8 Zusammenfassung der Gallensäureprofile der Reifgeborenen

Zusammenfassend zeigt sich dass die Konzentration Taurin-Konjugierter GS bei RG mit BI höher sind als bei der Kontrollgruppe. Obwohl die Konzentrationen der anderen GS variieren lassen sich weder weitere Zusammenhänge mit den untersuchten Erkrankungen noch signifikante Unterschiede nachweisen.

5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, Unterschiede der GS bei FG und RG zu untersuchen. Es gibt bisher wenig Literatur über GS in der Pädiatrie, vor allem bei NG innerhalb der ersten drei Lebensstage. Die für unsere Untersuchungen eingesetzte Messmethode HPLC-MS benötigt nur ein sehr geringes Probenvolumen und liefert dennoch genaue Messwerte.

Priv.-Doz. Dr. Rodeck und Prof. Dr. Zimmer beschreiben in ihrem Buch „Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung“ wie sich der absolute GS-Wert und auch dessen Zusammensetzung in den ersten Lebenswochen verändert. Diese Veränderung wird unter anderem auf die, nach Geburt neue, Notwendigkeit der Fettresorption zurückgeführt. Außerdem hängt die Funktion der GS-Transportsysteme mitunter von der Ernährung des NG ab, bei gestillten NG ist die Funktion dieser Transportsysteme vermindert was wiederum Einfluss auf die gemessenen GS-Werte hat (38).

Die Ergebnisse zeigen, dass sich die gesamt GS-Werte bei FG, je näher sich der Geburtstermin an den errechneten Termin eines RG annähert, auch die Werte jenen von RG annähern. Vermutlich ist dafür die mit der Frühgeburtlichkeit des Kindes verbundene Unreife der Leber verantwortlich. Diese verhindert, dass GS ausreichend im Stoffwechsel umgesetzt und abgebaut werden können. Je früher die Kinder geboren werden umso unreifer sind natürlich auch Organe und damit einhergehend deren Funktionen. Außerdem finden sich bei FG, verglichen mit RG, große Unterschiede in der bakteriellen Besiedelung des Darmes, welche eine große Rolle im GS-Stoffwechsel spielen. Die Rückresorption der GS im Darmlumen scheint bei Frühgeburtlichkeit deutlich eingeschränkt. Umso früher die Geburt, umso unreifer die Frühgeborenen und deren Organfunktionen und umso höher auch die gemessenen GS-Werte. All diese Faktoren spielen gewiss eine Rolle. In welchem Ausmaß die einzelnen Faktoren und eventuell bisher noch nicht bekannte Faktoren Einfluss nehmen und mit welcher Gewichtung sie zum Zustandekommen erhöhter GS-Werte bei FG beitragen sollten auf jeden Fall in Zukunft noch näher untersucht werden. Kurz vor Geburtstermin, also bei FG mit 33 SSW und danach geboren werden, liegen die gemessenen Werte der gesamt

GS unter jenen der Kontrollgruppe. Aufgrund der Fallzahl von 53 FG dieser Gruppe ist nicht von einem zufälligen Sinken der Werte auszugehen. Woran genau diese Verminderung der gesamt GS-Werte vor Geburtstermin liegt könnte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Annemarie Saringer verglich GS-Werte von FG mit den von Barbara Stering untersuchten Normwerten und fand ebenfalls heraus, dass FG die vor 29 SSW zur Welt kommen erhöhte Werte zeigen (39). Je näher die Geburt der FG an den errechneten Geburtstermin herankommt umso näher sind die gemessenen Werte auch an den von Stering festgelegten Normwerten (40). Ein Absinken der gemessenen GS-Werte unter den Normwert der 0-6 Monate alten Säuglinge fand sich jedoch nicht. Wie bereits besprochen liegt aber der von Barbara Stering untersuchte Normwert deutlich unter dem in dieser Arbeit gemessenen Wert der Kontrollgruppe, was vermutlich an der für diese Arbeit vorausgesetzten Probenentnahme innerhalb der ersten drei Lebenstage liegt.

Die Ergebnisse der RG zeigen einen signifikanten Unterschied in GS-Werten bei lebergesunden RG verglichen mit jenen mit BI. Die Zuteilung zur Gruppe BI erfolgte unter anderem anhand des CRP-Wertes und des Vermerks BI im Arztbrief. Nora Hofer *et al.* fanden 2011 heraus, dass CRP Werte bei FG signifikant erniedrigt sind, verglichen mit den Werten von RG. Andererseits stehen unterschiedliche Faktoren wie das Mekoniumaspirationssyndrom oder ein erhöhtes Geburtsgewicht in Zusammenhang mit erhöhten CRP-Werten (41). In einer anderen Untersuchung aus dem Jahr 2012 gehen Nora Hofer *et al.* auf unterschiedliche nicht infektiöse Faktoren der CRP Erhöhung bei NG innerhalb der ersten 3 Lebenstage ein (42). Die Gruppenzuteilung der RG mit BI erfolgte in der hier vorliegenden Arbeit ungeachtet des Geburtsgewichtes mit Rücksichtnahme auf den gemessenen CRP-Wert, jedoch ohne Einbeziehung nichtinfektiöser Faktoren die diesen Wert verändern können. In weiteren Untersuchungen könnte hier noch weiter differenziert werden.

Die signifikant erniedrigten GS-Werte bei RG mit BI könnte auch auf die unterschiedliche bakterielle Besiedelung und der damit verbundenen Immunreaktion zurückzuführen sein. Breuling *et al* untersuchten in einer Studie mit insgesamt 83

Kindern und Jugendlichen die Mortalität des septischen Schocks im Kindesalter und fanden heraus dass ein hoher PRISM III score, niedriger pH, niedriger systolischer Blutdruck und das Vorhandensein einer disseminierten intravasalen Gerinnung als signifikante Risikofaktoren für die Mortalität bei septischem Schock gelten, nicht aber Laktat und Basenexzess. Außerdem haben Kinder die in Abteilungen mit wenigen derartigen Fällen behandelt werden eine auf bis zu 25% erhöhte Mortalität (43). Umso deutlicher wird wie wichtig die möglichst frühe Erkennung und damit zusammenhängende frühe Therapie einer Sepsis ist. Neunhoeffer *et al* untersuchten hierzu die diagnostische Wertigkeit von immature myeloid information (IMI) , IL-6, IL-8 und CRP zur Verbesserung der Sensitivität und Spezifität der diagnostischen Mittel bei Verdacht auf early onset sepsis. Sie fanden heraus dass IMI alleine zur Erkennung zwar als nicht geeignet erscheint, eine Kombination von IMI, IL-6, IL-8 oder CRP aber sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität verbessert (44). Roger F. Soll *et al* kommentierten 2015 die von Joseph Schuman *et al* veröffentlichte Untersuchung und unterstrichen damit noch einmal die Wichtigkeit des strukturierten und Erregerspezifischen Einsatzes der antibiotischen Therapie, welche klarerweise die frühe Erkennung einer Infektion voraussetzt. In Indien starben im Jahr 2013 58 000 Kinder an den Folgen von durch antibiotikaresistente Keime ausgelöster Infektionen (45).

BI und die damit einhergehenden Immunreaktionen haben erheblichen Einfluss auf die GS Exkretion und die Expression von spezifischen Transportern. Jahnelt *et al* beschäftigten sich in einer Studie speziell mit dem Thema ulzerative Kolitis, deren Einfluss auf die Zusammensetzung der Galleflüssigkeit und entzündungsbedingter Reduktion hepatobiliärer Transporter. Untersucht wurde an männlichen Mäusen bei denen durch dextran sulfat sodium eine chronische Colitis induziert wurde (46). Da das Erregerspektrum bei BI von vielen Faktoren abhängt, wie beispielsweise auch dem Geburtsmodus und der Ernährung nach Geburt, könnte auch der Einfluss dieser Faktoren in weiteren Untersuchungen genauer analysiert und geklärt werden. Auch Dikopoulos *et al* untersuchten in einer 2003 veröffentlichten Studie den Zusammenhang zwischen entzündlichen Prozessen wie Hepatitis, entzündlichen Darmerkrankungen oder Sepsis und dem GS-Stoffwechsel. Sie fanden heraus dass durch eine Erhöhung von Lipopolysacchariden bei Mäusen und Ratten die Expression der Cholesterin-7- α -

Hydroxylase mRNA herabsetzt. Diese wiederum ist, wie in Kapitel 1.3 erklärt, maßgeblich für die Regulation der GS Synthese verantwortlich. Bei Mäusen scheint dieser Mechanismus stärker ausgeprägt als bei Ratten, inwiefern sich dieser Mechanismus auch beim Menschen, insbesondere bei NG findet gilt es noch zu klären (47).

Bei Kindern mit perinataler AS ließ sich kein signifikanter Unterschied der GS-Werte nachweisen. Betrachtet man die GS-Werte von asphyktischen Kindern und vergleicht diese mit der Kontrollgruppe so liegt nahe, dass dies weniger an den gemessenen Werten als viel mehr an der geringen Fallzahl mit nur sechs Proben liegt. Melanie Prietl-Glöbl fand in ihrer Arbeit heraus dass sich auch Unterschiede der im Serum gemessenen GS bei männlichen und weiblichen NG mit AS ergeben (48). Eine Aufteilung der Gruppen nach Geschlechtern fand in dieser Arbeit nicht statt und könnte bei zukünftigen Untersuchungen mit größerer Fallzahl deutlichere Ergebnisse liefern. Dass sich die hier gemessenen Werte stark von jenen unterscheiden die von Barbara Sterling als Normwerte für Kinder bis zum fünften Lebensmonat definiert wurden ist vermutlich darauf zurückzuführen dass die hier untersuchten Blutproben alle in den ersten drei Lebenstagen abgenommen wurden und sich die Werte vor allem in den ersten Lebensmonaten sehr rasch verändern. Um dazu genauere Aussagen treffen zu können wäre eine engmaschige Kontrolle der Serum GS in den ersten Lebensmonaten notwendig was selbstverständlich mit häufigen Blutprobenentnahmen bei NG und Säuglingen einherginge. Hier gilt es abzuwägen ob diese rechtfertigbar sind.

Mögliche Ursache für die bisher geringe Menge an Literatur zu diesem Thema ist die aus mehreren Gründen erschwerte Datenerhebung in dieser Altersgruppe. Nicht zuletzt ist die Abnahme des für die Bestimmung von GS-Werten benötigten Probenmaterials bei Kindern mit geringem Geburtsgewicht eine ethische Fragestellung. In dieser Studie wurde nur Restblut verwendet, welches nach Abklärung diagnostischer Fragestellungen übrig blieb und ansonsten verworfen worden wäre. Dank der hohen Patientenfrequenz und dem relativ langen Zeitraum der Datensammlung an der Kinderklinik Graz konnten Großteils statistisch aussagekräftige Fallzahlen erreicht werden.

In der Darstellung der GS-Profile zeigen sich sowohl bei den FG als auch bei den RG zum Teil große Unterschiede in den verschiedenen Gruppen. Sowohl die Frühgeburtlichkeit als auch die unterschiedlichen Erkrankungen bei den RG greifen stark in den gesamten Stoffwechsel der NG ein. Die hier gemessenen Werte der Konzentrationen der einzelnen GS stehen vermutlich damit in Zusammenhang.

Zusammenfassend wurden in dieser Untersuchung statistisch signifikante Unterschiede nachgewiesen. Einerseits im Vergleich der GS-Werte von FG vor der 29. SSW, welche signifikant höhere Gesamt GS haben als die Kontrollgruppe, andererseits im Vergleich von RG mit BI und der Kontrollgruppe. Hier sind die gemessenen GS-Werte signifikant niedriger als jene gesunder RG.

Literaturverzeichnis:

1. Pfleiderer A, Breckwoldt M. Gynäkologie und Geburtshilfe: sicher durch Studium und Praxis; 103 Tabellen: Thieme; 2000.
2. Horn F. Biochemie des Menschen: das Lehrbuch für das Medizinstudium: Georg Thieme Verlag; 2009.
3. J Koolman, Röhm KH. Taschenatlas der Biochemie: Georg Thieme Verlag; 2003.
4. J Helmoortel, T Hirth, P Wühl. Lehrbuch der viszeralen Osteopathie: peritoneale Organe; 13 Tabellen: Georg Thieme Verlag; 2002.
5. JH Gross. Massenspektrometrie: Ein Lehrbuch: Springer-Verlag; 2012.
6. Stange B. Physikalische Trennverfahren als experimentelles Gruppenpuzzle im Chemie-Unterricht: Chromatographie, Destillation und Extraktion: GRIN Verlag; 2009.
7. Oruc AS, Seckin B, Ozcan N, Ozyer S, Uzunlar O, Danisman N. Role of postprandial bile acids in prediction of perinatal outcome in intrahepatic cholestasis of pregnancy. The journal of obstetrics and gynaecology research. 2014;40(7):1883-9.
8. S Barnes GB, BI Hirschowitz, D Wirtschafter, G Cassady. Postnatal physiologic hypercholeemia in both premature and full-term infants. The American Society for Clinical Investigation. 1981;68:775 -82.
9. J Jahnel, P Fickert, AC Hauer, CHögenauer, A Avian, M Trauner. Inflammatory bowel disease alters intestinal bile acid transporter expression. Drug Metabolism and Disposition. 2014;42(9):1423-31.
10. FC Sitzmann. Duale Reihe Pädiatrie. Georg Thieme Verlag. Stuttgart; 2007.
11. M Bald PB, C Blattmann, HM Bosse, G Engelmann, G Fitzke, P Freisinger, G Hellstern, M Hempel, N Pape-Feußner, R Trollmann, T Zimmermann. Kurzlehrbuch Pädiatrie: Thieme; 2012.
12. G F. Hoffmann MJL, J Spranger, F Zepp. Pädiatrie. Springer Verlag. 4., vollständig überarbeitete Auflage 2014;2.
13. B Koletzko, GA Harnack. Kinder-und Jugendmedizin: Springer; 2013.
14. D Reinhardt. Therapie der Krankheiten im Kindes-und Jugendalter: Springer-Verlag; 2014.
15. F Flake FS. Kindernotfälle im Rettungsdienst: Springer-Verlag; 2012.
16. Secchi A, T Ziegenfuß. Checkliste Notfallmedizin: Georg Thieme Verlag; 2009.
17. AC Katheria, G Truong, L Cousins, B Oshiro, NN Finer. Umbilical cord milking versus delayed cord clamping in preterm infants. Pediatrics. 2015;136(1):61-9.
18. Austria S. Frühgeborene seit 1984. 2014.
19. B Karges, N Wagner. Padiatrie... In 5 Tagen: Springer-Verlag; 2010.
20. G Jorch, Hübler A. Neonatologie: Die Medizin des Früh-und Reifgeborenen: Georg Thieme Verlag; 2010.
21. B Hoffmann. Crashkurs Pädiatrie: Urban & Fischer; 2003.
22. C Gruber SG. Basics Pädiatrie. Urban & Fischer Verlag. 2009, 2. Auflage.
23. C Kröner BK. Basiswissen Pädiatrie: Springer-Verlag; 2010.
24. Flemmer A, Maier R, Hummler H. Behandlung der neonatalen Asphyxie unter besonderer Berücksichtigung der therapeutischen Hypothermie. Klinische Pädiatrie. 2013;45(01):29-37.

25. R Roos, O Genzel-Boroviczény, H Proquitté. Checkliste Neonatologie: Georg Thieme Verlag; 2010.
26. N Gerstl, C Youssef, F Cardona, K Klebermass-Schrehof, A Grill, M Weninger, et al. Management of Hypothermia for Perinatal Asphyxia in Austria-a Survey of Current Practice Standards. *Klinische Padiatrie*. 2015;227(1):10-4.
27. AL Lampland, B Plumm, C Worwa, P Meyers, MC Mammel. Bi-level CPAP does not improve gas exchange when compared with conventional CPAP for the treatment of neonates recovering from respiratory distress syndrome. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*. 2015;100(1):F31-F4.
28. P Bhat, DS Patel, S Hannam, GF Rafferty, JL Peacock, AD Milner, et al. Crossover study of proportional assist versus assist control ventilation. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*. 2014;100:fetalneonatal-2013-305817.
29. C Madler, KW Jauch, KS Werdan FP, D Brokate. *Akutmedizin-die ersten 24 Stunden: das NAW-Buch*: Elsevier, Urban&FischerVerlag; 2009.
30. R Roos PB, A Franz, PGroneck, W Handrick, H Küster, F Pohlandt, M Weiß. Bakterielle Infektionen bei Neugeborenen. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 24/008. AWMF online. 2006.
31. J Schulman, RJ Dimand, HC Lee GD, MV Bennett, , JB Gould. Neonatal intensive care unit antibiotic use. *Pediatrics*. 2015;135(5):826-33.
32. Kerbl R, Kurz R, Roos R, Wessel L. *Checkliste Pädiatrie*: Georg Thieme Verlag; 2011.
33. K Lang. *Biochemie der Ernährung*: Springer-Verlag; 1982
34. H Wiesener. *Einführung in die Entwicklungsphysiologie des Kindes*: Springer-Verlag; 2013.
35. R Klink SS. *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme Verlag. 2003, 4. Auflage.
36. W Siegenthaler, Blum HE. *Klinische pathophysiologie*: Georg Thieme Verlag; 2006.
37. Adam B. *Gastroenterologie: das Referenzwerk für Klinik und Praxis*: Georg Thieme Verlag; 2007.
38. B Rodeck, KP Zimmer. *Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung*: Springer; 2013.
39. A Saringer. *Gallensäuren im Serum bei Frühgeborenen*. Graz Medical University. 2015(Diplomarbeit Humanmedizin).
40. Stering B. *Bestimmung von Normwerten der Gallensäuren im Serum bei Kindern und Jugendlichen*. Graz Medical University. 2015(Diplomarbeit Humanmedizin).
41. N Hofer, Müller W, Resch B. Non-infectious conditions and gestational age influence C-reactive protein values in newborns during the first 3 days of life. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2011;49(2):297-302.
42. N Hofer, Zacharias E, Müller W, Resch B. An update on the use of C-reactive protein in early-onset neonatal sepsis: current insights and new tasks. *Neonatology*. 2012;102(1):25-36.
43. T.Breuling ET, A.Große-Lordemann, C.Hünseler, C. Schmidt, F. Niemann, P.Dettmer, H. Freymann, C. von Noorden, M. Wallot, P. Heister, F.Heitmann, T.Rothoef, U. Schürmann, A. Backendorf, M. Heldmann, E. Schubert, F.B. Nunez, P. Seiffert, Ul. Felderhoff-Müser, C. Dohna-Schake. Septischer Schock bei Kindern und Jugendlichen in Westdeutschland-Outcome, Risikofaktoren für Mortalität und Infektions-Epidemiologie *Klinische Pädiatrie-Cinical Research and Practice in Pediatrics*. 2015.

44. F Neunhoeffler, MT Dabek, H Renk, P Rimmele, C Poets, R Goelz, et al. Diagnostic value of immature myeloid information in early-onset bacterial infection in term and preterm neonates. *Klinische Padiatrie*. 2015;227(2):66-71.
45. RF Soll, WH Edwards. Antibiotic Use in Neonatal Intensive Care. *Pediatrics*. 2015;135(5):928-9.
46. J Jahnel, P Fickert, C Langner, C Högenauer, D Silbert, J Gumhold, et al. Impact of experimental colitis on hepatobiliary transporter expression and bile duct injury in mice. *Liver International*. 2009;29(9):1316-25.
47. N Dikopoulos, H Weidenbach, G Adler, RM Schmid. Lipopolysaccharide represses cholesterol 7 - alpha hydroxylase and induces binding activity to the bile acid response element II. *European journal of clinical investigation*. 2003;33(1):58-64.
48. Prietl-Glößl M. Gallensäuren bei Reifgeborenen und Korrelation mit verschiedenen Krankheitsbildern in der Neonatologie. Graz Medical University. 2015(Diplomarbeit Humanmedizin).