

Aus der  
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen  
Abteilung Kinderheilkunde IV

(Schwerpunkt: Neonatologie, neonatologische Intensivmedizin)

Konzentration von Purinen und Pyrimidinen im  
Nabelschnurblut von Früh- und Reifgeborenen – eine  
Beobachtungsstudie

Inaugural-Dissertation  
Zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

Frische, Birte Kristin

2021

Dekan: Professor Dr. rer. nat. Bernd Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Franz

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. F. Neunhoeffer

Tag der Disputation: 07. Dezember 2021

Für meine Eltern

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	8
Tabellenverzeichnis.....	11
Abbildungsverzeichnis.....	12
1 Einleitung.....	15
1.1 Das Frühgeborene .....	15
1.2 Ernährung Neu- und Frühgeborener .....	21
1.3 Mikronährstoffe .....	25
1.4 Fragestellung der Studie .....	33
2 Material und Methoden.....	34
2.1 Studiendesign .....	34
2.2. Studienziele.....	34
2.3 Zustimmende Bewertung der Ethik-Kommission.....	34
2.4 Stichprobe .....	35
2.4.1 Einschlusskriterien .....	36
2.4.2 Ausschlusskriterien .....	36
2.5 Rekrutierung.....	36
2.6 Datenerhebung .....	36
2.7 Probengewinnung .....	38
2.7.1 Lagerungstest Nabelschnurblut.....	38
2.7.2 Nabelschnurblut .....	39
2.8 Verarbeitung und Laborparameterbestimmung.....	40
2.8.1 Eichkurven .....	41
2.9 Statistische Auswertung.....	53
3 Ergebnisse .....	54
3.1 Lagerungstest .....	54
3.1.1 Cytosin .....	55
3.1.2 Uracil .....	57
3.1.3 Thymin .....	57

3.1.4 Adenin .....	58
3.1.5 Hypoxanthin .....	58
3.1.6 Guanin.....	60
3.1.7 Xanthin .....	60
3.1.8 Thymidin.....	63
3.1.9 Cytidin .....	63
3.1.10 Uridin.....	66
3.1.11 Adenosin .....	68
3.1.12 Inosin.....	71
3.1.13 Guanosin.....	73
3.1.14 CMP .....	75
3.1.15 UMP .....	77
3.1.16 AMP .....	77
3.1.17 GMP .....	79
3.1.18 IMP.....	81
3.1.19 TMP.....	81
3.1.20 Zusammenfassung.....	82
3.2 Untersuchungen im Nabelschnurblut .....	83
3.2.1 Studienpopulation.....	83
3.2.2 Cytosin .....	88
3.2.3 Uracil .....	89
3.2.4 Thymin .....	90
3.2.5 Adenin .....	90
3.2.6 Hypoxanthin .....	91
3.2.7 Guanin.....	92
3.2.8 Xanthin .....	93

3.2.9 Thymidin.....	94
3.2.10 Cytidin .....	94
3.2.11 Uridin.....	95
3.2.12 Adenosin .....	97
3.2.13 Inosin.....	98
3.2.14 Guanosin.....	99
3.2.15 CMP .....	100
3.2.16 UMP .....	101
3.2.17 AMP .....	102
3.2.18 GMP .....	103
3.2.19 IMP.....	104
3.2.20 TMP.....	105
3.2.21 Gesamtkonzentration Purine.....	106
3.2.22 Gesamtkonzentration Pyrimidine.....	107
3.2.23 Gesamtkonzentration Monophosphate.....	108
3.2.24 Zusammenfassung der Korrelate der Nabelschnurblutkonzentrationen mit dem Gestationsalter bei Geburt ....	109
3.2.25 Korrelation ausgewählter Mikronährstoffe mit dem pH-Wert..... im arteriellen Blut .....	110
4 Diskussion .....	111
4.1 Aktualität der Fragestellung .....	111
4.2 Präanalytik .....	111
4.3 Diskussion der Studienergebnisse.....	112
4.3.1 Diskussion der Ausreißer .....	116
4.4 Methodendiskussion .....	117
5 Zusammenfassung.....	121
6 Literaturverzeichnis .....	123
7 Anhang.....	127

7.1 Aufklärungsbogen .....	127
7.2 Einverständniserklärung.....	132
7.3 Basisbogen - Mikronährstoff-Studie .....	133
7.4 Laborbogen - Mikronährstoff-Studie.....	136
8 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift .....	137
Danksagung .....	138

## Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
cAMP	cyclisches Adenosin-3',5'-Monophosphat
CDP	Cytidindiphosphat
cGMP	cyclisches Guanosin-3'.5'-Monophosphat
CMP	Cytidinmonophosphat
CoA-SH	Coenzym A
CTG	Cardiotokogramm
DGGG	Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELBW	Extremely Low Birth Weight
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
°C	Grad Celcius
GDP	Guanosindiphosphat
GMP	Guanosinmonophosphat
GTP	Guanosintriphosphat
hENT1	Human equilibrative nucleoside transporter 1



hENT2	Human equilibrative nucleoside transporter 2
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
ICCA	Intelspace Critical Care and Anesthesia
IgA	Immunglobulin A
IgM	Immunglobulin M
IMP	Inosinmonophosphat
LAURIS	Internes Laboranforderungssystem
LBW	Low Birth Weight (deutsch: niedriges Geburtsgewicht)
LC PUFAS	Long chaind polyunsaturated fatty acids (deutsch: mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
M	Mittelwert
m	Median
Max.	Maximum
Min.	Minimum
N	Anzahl
NAD	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
NEODAT	Neonatologisches Patientendatenbanksystem
NO	Stickstoffmonoxid
pH	„Potentia hydrogenii“ – Maßzahl für die Wasserstoffionenkonzentration
p-Wert	Signifikanzwert
PMA	Postmenstruelles Alter
Quantile25	25% Quantile

Quantile75	75% Quantile
$\rho$	Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman
RNS	Ribonukleinsäure
SD	Standardabweichung
SIDS	Sudden Infant Death Syndrom
slgA	sekretorisches Immunglobulin A
SSW	Schwangerschaftswochen
UDP-Galaktose	Uridindiphosphat-Galaktose
UDP-Glukose	Uridindiphosphat-Glukose
UMP	Uridinmonophosphat
VLBW	Very Low Birth Weight (deutsch: sehr niedriges Geburtsgewicht)

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Akute und chronische Krankheitsverläufe als Folgen einer Frühgeburt modifiziert nach: (Eichenwald und Stark, 2008) .....	20
Tabelle 2: Zielsubstrate .....	27
Tabelle 3: Nährwertangaben der Nukleotide in den entsprechenden Nestlé BEBA Produkten (Nestlé Babyservice Frankfurt; Persönliche Mail von Dziarski, 2019) .....	30
Tabelle 4: Nachweisgrenzen der gemessenen Mikronährstoffe und Prozentzahl der gemessenen Konzentrationen über der Nachweisgrenze .....	52
Tabelle 5: Geschlechtsverteilung in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Geburt .....	84
Tabelle 6: Gewichtsverteilung innerhalb der Studiengruppen .....	84
Tabelle 7: Mütterliche Altersverteilung innerhalb der Studiengruppen .....	85
Tabelle 8: Geburtsmodi innerhalb der Studiengruppen (N=Anzahl) .....	85
Tabelle 9: Gründe für die vorzeitige Entbindung innerhalb der Studiengruppen mit quantitativen Vorkommen in absteigender Reihenfolge .....	86
Tabelle 10: Durchgeführte Kortikosteroidtherapie innerhalb der Studiengruppen .....	87
Tabelle 11: Übersicht der Koeffizienz- und Signifikanzwerte der gemessenen Mikronährstoffe in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	109
Tabelle 12: Korrelation ausgewählter Mikronährstoffe mit dem pH-Wert .....	110
Tabelle 13: Anteil der Messwerte über der Nachweisgrenze in Prozent abhängig vom Mikronährstoff.....	119

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufteilung der Studiengruppen nach Schwangerschaftswochen .	35
Abbildung 2: Eichkurve 112-Cytosin.....	42
Abbildung 3: Eichkurve 113-Uracil .....	42
Abbildung 4: Eichkurve 127-Thymin.....	43
Abbildung 5: Eichkurve 136-Adenin .....	43
Abbildung 6: Eichkurve 137-Hypoxanthin.....	44
Abbildung 7: Eichkurve 152-Guanin .....	44
Abbildung 8: Eichkurve 153-Xanthin .....	45
Abbildung 9: Eichkurve 243-Thymidin .....	45
Abbildung 10: Eichkurve 244-Cytidin.....	46
Abbildung 11: Eichkurve 245-Uridin .....	46
Abbildung 12: Eichkurve 268-Adenosin.....	47
Abbildung 13: Eichkurve 269-Inosin .....	47
Abbildung 14: Eichkurve 284-Guanosin .....	48
Abbildung 15: Eichkurve 324-CMP.....	48
Abbildung 16: Eichkurve 325-UMP.....	49
Abbildung 17: Eichkurve 348-AMP.....	49
Abbildung 18: Eichkurve 364-GMP .....	50
Abbildung 19: Eichkurve 349-IMP .....	50
Abbildung 20: Eichkurve 321-TMP .....	51
Abbildung 21: Cytosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten .....	55
Abbildung 22: Cytosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	56
Abbildung 23: Hypoxanthinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten .....	58
Abbildung 24: Hypoxanthinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	59
Abbildung 25: Xanthinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten .....	61

Abbildung 26: Xanthinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	62
Abbildung 27: Cytidinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten	64
Abbildung 28: Cytidinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	65
Abbildung 29: Uridinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten	66
Abbildung 30: Uridinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	67
Abbildung 31: Adenosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten .....	69
Abbildung 32: Adenosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	70
Abbildung 33: Inosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten	71
Abbildung 34: Inosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	72
Abbildung 35: Guanosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten .....	73
Abbildung 36: Guanosinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	74
Abbildung 37: CMP-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4°C in Minuten.	75
Abbildung 38: CMP-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	76
Abbildung 39: AMP-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten	77
Abbildung 40: AMP-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	78
Abbildung 41: GMP-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 4 °C in Minuten	79
Abbildung 42: GMP-Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ bei Lagerung bei 20 °C in Minuten .....	80
Abbildung 43: Aufteilung der Studiengruppe anhand der Schwangerschaftswochen.....	83
Abbildung 44: Cytosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	88
Abbildung 45:Uracilkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	89

Abbildung 46: Adeninkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	90
Abbildung 47: Hypoxanthinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	91
Abbildung 48: Guaninkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	92
Abbildung 49: Xanthinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	93
Abbildung 50: Cytidinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	95
Abbildung 51: Uridinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	96
Abbildung 52: Adenosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters ...	97
Abbildung 53: Inosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	98
Abbildung 54: Guanosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters...	99
Abbildung 55: CMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	100
Abbildung 56: UMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	101
Abbildung 57: AMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	102
Abbildung 58: GMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	103
Abbildung 59: IMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	104
Abbildung 60: Purinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters.....	106
Abbildung 61: Pyrimidinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .	107
Abbildung 62: Monophosphat-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters .....	108

# Konzentration von Purinen und Pyrimidinen im Nabelschnurblut von Früh- und Reifgeborenen - eine Beobachtungsstudie

## 1 Einleitung

Während der 24. – 44. Schwangerschaftswoche (SSW) zeigt der menschliche Körper eine schnelle Wachstumsdynamik und Gewichtsentwicklung. Im dritten Trimenon wächst der Fetus am schnellsten und baut neben Knochen-, Muskel- und parenchymatösem Gewebe auch Energiereserven auf. Intrauterin ist die Versorgung mit Makro- und Mikronährstoffen als optimal anzunehmen. Wird die plazentare Versorgung durch die Situation der Frühgeburt unterbrochen, muss das Frühgeborene durch enterale (Muttermilch und Formula) und (teil-)parenterale Ernährung versorgt werden. Trotz der heute überall durchgeführten postnatalen Supplementierung der enteralen Ernährung Frühgeborener gibt es Unterschiede in der Entwicklung (beispielsweise Gewichts- und Größenzunahme) von Früh- und Neugeborenen (Rigo et al., 2001). Um dieses Defizit zu verbessern, werden weitere Studien benötigt. Diese Beobachtungsstudie beschränkt sich auf die Untersuchung der Versorgung mit Purinen und Pyrimidinen.

### 1.1 Das Frühgeborene

#### Definition

Ein Frühgeborenes ist ein Säugling, der vor der vollendeten 37. Schwangerschaftswoche, beziehungsweise vor dem 259. Tag, gerechnet ab dem ersten Tag der letzten Menstruationsblutung, geboren wurde (Quinn et al., 2016).

#### Epidemiologie

Weltweit werden jährlich ca. 15 Millionen Kinder zu früh geboren. 2010 wurden in einem Report von Blencowe et al. alle Kinder erfasst, die zwischen der 22. und

37. Schwangerschaftswoche (SSW) geboren wurden. Hier lag das weltweite Risiko für eine Frühgeburt durchschnittlich bei 11,1%.

Von diesen 15 Millionen Kindern sterben jährlich 1 Million. 50% der neonatalen Todesfälle betreffen Kinder, die vor der 37. Schwangerschaftswoche geboren wurden (Blencowe et al., 2013).

Deutschland gehört aufgrund seines Bruttonationaleinkommens zu den Ländern mit hohem Einkommen. In diesen Ländern entsprach im Jahr 2010 die Frühgeburtenrate 9,3%. (Blencowe et al., 2013). 2016 kamen in Deutschland 5773 Neugeborene mit einem Geburtsgewicht von 1000-1499g, 2134 Neugeborene mit einem Geburtsgewicht von 750-999g, 2161 Neugeborene mit 500-749g Geburtsgewicht und 924 Neugeborene unter 500g Geburtsgewicht zur Welt. Von 773338 registrierten Geburten, zählten 66851 als Frühgeburten (<28.SSW = 4579 Frühgeborene, 28.-31. SSW = 6956 Frühgeborene, 32.-36.SSW = 55316 Frühgeborene) (IQTIG, 2017).

#### Einteilung der Frühgeborenen

Eingeteilt werden die Frühgeborenen zum einen nach ihrem Geburtsgewicht. Hier können drei Gruppen unterschieden werden. Unter 2500g Geburtsgewicht bezeichnet man das Gewicht der Kinder als „Low birth weight“ (LBW), unter 1500g als „Very low birth weight“ (VLBW) und unter 1000 g als „Extremely low birth weight“ (ELBW) (Tchamo et al., 2016). Des Weiteren wird eine Einteilung nach Gestationswochen vorgenommen, da die auftretenden Probleme bei Frühgeborenen häufig auf die fehlende Organreife zurückzuführen sind. Es wird daher eine exakte Einteilung der Schwangerschaft in Wochen und Tagen vorgenommen. Vor Vollendung der 28. SSW gelten Frühgeborene als „extremely preterm“, ab der 28. SSW bis zur nicht vollendeten 32. SSW als „very preterm“ und von Beginn der 32. bis zur nicht vollendeten 37. SSW als „moderately preterm“. Die drei Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich verschiedener Risikobereiche für Morbidität und Mortalität (Blencowe et al., 2013).

Durch Längsschnitterhebungen von Körpergewicht, Körperlänge und Kopfumfang kann das Wachstum Neugeborener nach Geburt und bis in das Erwachsenenalter unter einander anhand von existierenden



Wachstumspersentilen verglichen werden. Für Frühgeborene gibt es solche Längsschnitterhebungen nicht. Bis zum errechneten Geburtstermin orientiert man sich bei Frühgeborenen an den intrauterinen Wachstumskurven, die anhand von Geburtsgewichten konstruiert wurden (Voigt et al., 1996).

#### Ursachen einer Frühgeburt

Nach heutigem wissenschaftlichem Stand sind die genauen Ursachen einer Frühgeburt nicht bekannt. Die Zahl der Frühgeborenen steigt weiterhin an. Risiken können benannt werden. Zu unterscheiden sind mütterliche und kindliche Ursachen: beispielsweise eine mütterliche Grunderkrankung, Uterusfehlbildungen, hohes oder niedriges Alter der Mutter, Präeklampsie, Plazentainsuffizienz, intrauterine Wachstumsretardierung, Amnioninfektionssyndrom, Blasensprung und unaufhaltsame Wehentätigkeit.

Bei einer Infektion der Mutter können Erreger vertikal auf das ungeborene Kind übertragen werden. Folgen sind Fehlbildungen, Fehl- und Frühgeburten (Halawa et al., 2014, Stegmann und Carey, 2002). Da die Infektion der Mutter und die vertikale Infektion des Kindes vermieden oder verringert werden kann, sind bei Lues, Röteln, Hepatitis B und Chlamydien in Deutschland Screening-Untersuchungen gesetzlich vorgegeben (Gemeinsamer-Bundesausschuss, 2016).

Auch die Genetik scheint eine wichtige Rolle zu spielen. Wissenschaftler identifizierten Mutationen bei Müttern, die mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für Frühgeburten korrelierten (Pauls et al., 1998).

Die unterschiedlich hohen Frühgeburtenraten der Länder werden mit sozialen Risikofaktoren und verschiedenen die Schwangerschaft belastenden Faktoren assoziiert. Ein prägnantes Beispiel ist der Konsum von Tabakwaren und dem damit verbundenem Passivrauchen. Been et al. untersuchten in einer Metaanalyse die Langzeitergebnisse nach der Einführung des Gesetzes zum Schutz vor den Gefahren des Passivrauchens (Deutschland 1. September 2007). Rauchen und Passivrauchen ist mit vermehrten Totgeburten und Frühgeburten, kleinerem Geburtsgewicht, kongenitalen Fehlbildungen und neonataler und infantiler Sterblichkeit verbunden. Nach Einführung des Gesetzes zum Schutz

vor den Gefahren des Passivrauchens sank die Zahl der Frühgeburten klinisch signifikant (Been et al., 2014).

Auch Mehrlingsschwangerschaften und fetale Fehlbildungen werden als Risiken angeführt. Das mütterliche Durchschnittsalter bei Erstlingsschwangerschaften zeigt eine stetig steigende Tendenz und stellt einen Risikofaktor für Frühgeburten dar. 2011 betrug das durchschnittliche Alter der Mütter bei Geburt ihres ersten Kindes 30,1 Jahre. 2015 ist das durchschnittliche Alter auf 30,6 Jahre angestiegen (Destatis, 2017). Neben dem steigenden Alter stellt auch der gleichzeitig steigende Einsatz der Reproduktionsmedizin einen Risikofaktor für Frühgeburten dar. Durch technischen Fortschritt, erweiterte pränatale Versorgung und Schwangerschaftsvorsorgeuntersuchungen können Auffälligkeiten früher erkannt und eine Entscheidung zum frühzeitigen Kaiserschnitt getroffen werden.

#### Postpartale Adaptation

Es ist anzunehmen, dass die intrauterine Versorgung des gesunden Fetus im Rahmen einer gesunden Schwangerschaft ideal ist und bei der Geburt von reifen Neugeborenen die Organsysteme für die extrauterine Umgebung weitestgehend vorbereitet sind. Nach der Geburt finden Anpassungen im Herz-Kreislaufsystem, in der Thermogenese, in den endokrinen Funktionen und im Substratmetabolismus statt (Hillman et al., 2012). Frühgeborene werden zu früh von der adäquaten placentaren Versorgung abgeschnitten und müssen sich an die neuen Umstände adaptieren. Dünne Haut, eine große Körperfläche im Vergleich zum geringen Körpergewicht und unreife Organsysteme führen zu Adaptationsproblemen (Hübler und Jorch, 2010).

#### Folgen der Frühgeburtlichkeit

Allgemein führt die Frühgeburt zu Belastungen der Neugeborenen und deren Familien auf biologischer, ökonomischer und psychosozialer Ebene. Wood et al. beobachtete in einer Studie 314 Kinder über einen Zeitraum von 30 Monaten, die im Alter zwischen der 22. und der 25. SSW geboren wurden. 2 % der Frühgeborenen starben, 23 % hatten schwere Beeinträchtigungen, 25 % andere

Beeinträchtigungen und 49 % hatten keine Beeinträchtigungen, von 2 % fehlten Daten (Wood et al., 2000).

Wie Tabelle 1 zeigt, kann es in mehreren Organsystemen wie Lunge, Herz- und Kreislaufsystem und Gastrointestinaltrakt zu akuten oder chronischen Krankheitsverläufen kommen (Härtel und Herting, 2010).

Frühgeborene, die direkt nach der Geburt in neonatologischen Zentren versorgt wurden, zeigten in einer Studie eine geringere Mortalität, weniger nosokomiale Infektionen und eine verkürzte Abhängigkeit von zusätzlichem Sauerstoff als die Kinder, die erst durch einen Transport in ein Zentrum kamen (Shah et al., 2005). Je kleiner das Gewicht der Frühgeborenen bei Geburt war, desto schlechter waren die Langzeitergebnisse. 40 % aller infantilen Zerebralpareesen können laut Eichenwald et al. auf eine Frühgeburt zurückgeführt werden. Neben einer gestörten Neurosensibilität traten auch motorische und kognitive Defizite auf. Oft blieben Beeinträchtigungen bis hin zum Grundschulalter oder zeigten sich nur leicht verbessert. Auch wenn bei Entlassung kein neurologisches Defizit diagnostiziert werden konnte, wiesen ein Drittel der Frühgeborenen unter 1000 g später Intelligenzquotient-Verminderungen und Lernschwächen auf (Eichenwald und Stark, 2008). Viele kombinierte Risikofaktoren wie eine Retinopathie, bronchopulmonale Dysplasie (BPD), sonographisch gesicherte Gehirnschäden oder niedriges Geburtsgewicht begünstigen bei Frühgeborenen neurokognitive Defizite (Vohr et al., 2004).

Eine individuelle und ausreichende Ernährung kann das Auftreten von akuten und chronischen Krankheitsverläufen positiv beeinflussen (Bhat und Gupta, 2003).

Tabelle 1: Akute und chronische Krankheitsverläufe als Folgen einer Frühgeburt  
 modifiziert nach: (Eichenwald und Stark, 2008)

<b>Organsystem</b>	<b>Akute Krankheitsverläufe</b>	<b>Chronische Krankheitsverläufe</b>
Lunge	Atemnotsyndrom Apnoen	Asthma bronchiale Infektionsanfälligkeit
Herz-Kreislauf-System	Arterielle Hypotension Offener Ductus arteriosus	Hypertension Dysplasien
Gastrointestinal-Trakt Ernährung	Nahrungstoleranz Nekrotisierende Enterokolitis Wachstumsretardierung	Metabolisches Syndrom Gedeihstörungen
Zentralnervensystem	Intrazerebrale Blutung Hydrozephalus	Zerebralparese Taubheit Neurokognitive Störungen
Immunsystem/ Hämatologie	Infektionen Anämie	Infektionsanfälligkeit
Augen	Frühgeborenenretinopathie	Blindheit
Niere/Urogenitaltrakt Hormonelles System	Wasser-/Elektrolyt-/Säure- Basen- Ungleichgewicht	Metabolisches Syndrom Insulinresistenz

## 1.2 Ernährung Neu- und Frühgeborener

### Anspruch an die Nahrung

Der Anspruch an die menschliche Nahrung ist hoch. Sie soll dem Organismus genügend Energie und Nährstoffe liefern, um die Funktionen des Körpers aufrecht zu erhalten. Man unterscheidet zwischen verschiedenen Anteilen in der Nahrung. Kohlenhydrate, Fett und Eiweiß gehören zu den Makronährstoffen und liefern beim Erwachsenen hauptsächlich die benötigte Energie. Zu den Mikronährstoffen zählen die vorwiegend nicht Energie liefernden Substanzen, wie Vitamine, Spurenelemente (beispielsweise Zink, Eisen, Selen) und Mineralstoffe. Diese Nährstoffe werden für das Wachstum und die Zelldifferenzierung und somit für die Entwicklung eines Individuums benötigt. Von besonderer Bedeutung sind diese Substanzen für Früh- und Neugeborene, die noch am Anfang ihrer Entwicklung stehen. Eine optimale Zufuhr an Makro- und Mikronährstoffen fördert das Wachstum, die Zelldifferenzierung und die Entwicklung von Geweben und Organen (Hay und Thureen, 2010).

Eine individuelle an den Nährstoffbedarf angepasste statt einer standardisierten Ernährung fördert das Wachstum und die neurokognitive Entwicklung. So konnte Arslanoglu et al. in seiner Studie zeigen, dass Frühgeborene, die individuell mit Eiweiß supplementierte Nahrung erhielten, im Vergleich zu standardisiert ernährten Frühgeborenen signifikant mehr Körpergewicht zunahmten und ein höheres Kopfumfangswachstum erzielten. Da das Kopfwachstum maßgeblich vom Gehirnwachstum beeinflusst wird, wird vermutet, dass die individuelle Ernährung auch ein besseres Gehirnwachstum bewirkt (Arslanoglu et al., 2006).

### Intrauterine Ernährung

Die befruchtete Eizelle entwickelt sich innerhalb von durchschnittlichen 268 Tagen zu einem reifen Neugeborenen. Diese Zeit ist durch schnelles Wachstum, Zelldifferenzierung und einen hohen Energiebedarf geprägt. Während der Schwangerschaft findet die Versorgung über die Plazenta statt, sodass sich der Fötus physiologisch entwickeln kann.

Der Metabolismus der Nährstoffe wird durch den Fötus selbst reguliert. Unter den Nährstoffen stellt Glukose die größte Energiequelle dar. Glukose gelangt durch erleichterte Diffusion vom maternalen in den fetalen Kreislauf (Graves und Haley, 2013).

Die Purine und Pyrimidine gelangen von den plazentaren Zellen durch erleichterte Diffusion und Natrium-abhängige-Kanäle in den fetalen Kreislauf. Des Weiteren sind Transporter wie „human equilibrative nucleoside transporter 1“ (hENT1) und „human equilibrative nucleoside transporter 2“ (hENT2) bekannt. (Griffiths et al., 1997).

Bricht die plazentare Versorgung nach der Geburt ab, muss sie durch andere Quellen wie Muttermilch, industriell hergestellte Säuglingsnahrung und oder parenterale Ernährung ersetzt werden, damit das Neugeborene sich weiter entwickeln kann. Der Beginn der enteralen Ernährung stimuliert dabei gleichzeitig die Hormonproduktion zur Darmentwicklung. Bei Frühgeborenen entsteht diese Situation unphysiologisch früh. Die Körper und Organsysteme sind zum Zeitpunkt der Geburt noch nicht vollständig entwickelt und ausdifferenziert (Graves und Haley, 2013).

#### Postnatale Ernährung

Es ist anzunehmen, dass Muttermilch die ideale Nahrung für Reifgeborene in den ersten sechs Lebensmonaten darstellt, da sie gut verdaulich ist und mit ihrer für das menschliche Individuum spezifischen Zusammensetzung den Bedarf an den benötigten Nährstoffen und der benötigten Flüssigkeit deckt (Gartner et al., 2005).

Da der Bedarf der Frühgeborenen sehr individuell ist, sollte auch die Ernährung individuell erfolgen (Arslanoglu et al., 2006). Eine enterale Ernährung ist nach heutigem wissenschaftlichem Stand einer parenteralen Ernährung vorzuziehen und verbessert die Kurz- und Langzeitergebnisse der kindlichen Entwicklung (Hay, 2008). Nach der Geburt braucht die Brust der Mutter einige Tage bis es durch das Saugen des Kindes und die reflektorische Ausschüttung von Oxytocin und Prolaktin vom Kolostrum zum vollen „Milcheinschuss“ kommt. Es wird angenommen, dass diese Verzögerung der Adaptation des Kindes an die

enterale Ernährung dient. In dieser Zeit liegt beim Kind eine katabole Stoffwechsellage vor, die das Kind durch eigene Reserven ausbalanciert. Das gesunde reife Neugeborene verliert dadurch bis zu 10 % an Gewicht, das Frühgeborene bis zu 15 %. Der größte Teil dieses Gewichtsverlustes besteht dabei aus Wasserverlusten (Pauls et al., 1998).

### Ernährung mit Muttermilch

Muttermilch weist nicht nur gesundheitliche und immunologische Vorteile für Neu- und Frühgeborene auf und fördert deren langfristige Entwicklung, sondern zeigt auch auf der psychologischen, sozialen und ökonomischen Ebene viele Vorteile gegenüber Formula Nahrung (Gartner et al., 2005). Dabei kommt es Studien zufolge auch auf einen frühen Beginn des Stillens, möglichst in der ersten Stunde postnatal, an. Des Weiteren ist die Dauer des Stillens ausschlaggebend (Wright et al., 1989). Muttermilch schützt vor akuten und chronischen Erkrankungen wie „Sudden infant death syndrome“ (SIDS), Allergien, nekrotisierender Enterocolitis und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Gartner et al., 2005).

In der Muttermilch sind verschiedene Wachstumsfaktoren und Nukleotide enthalten, die die Darmreifung unterstützen. Außerdem sind langkettige mehrfachungesättigte Fettsäuren zu finden, die Gehirn- und Retinaentwicklung fördern. Immunsystem und Infektionsabwehr werden durch lebende Zellen der Immunabwehr und antimikrobielle Faktoren, die in der Frauenmilch enthalten sind, unterstützt (Isaacs et al., 2010, Cacho und Lawrence, 2017). Mehrere Studien konnten zeigen, dass sowohl bei Neu- und Frühgeborenen Muttermilch bereits in kleinen Mengen vor Atemwegserkrankungen und der Gefahr einer Sepsis schützt (Wright et al., 1989). Die Muttermilch von Frühgeborenen habe durch höhere Konzentrationen an sekretorischen Immunglobulin-A (IgA) einen vermehrten protektiv immunologischen Effekt für den Gastrointestinaltrakt (Hylander et al., 1998). Auch für die Mutter sind Vorteile zu erkennen. Stillen fördert die postpartale Uterusinvolution, hemmt Blutungen und unterstützt die Gewichtsreduktion und senkt nachweislich das Brustkrebsrisiko (Gartner et al., 2005).

Muttermilchernährung kann auch kontraindiziert sein, wenn zum Beispiel eine Infektion mit dem Humanen Immundefizienz Virus (HIV) vorliegt, mütterlicher Drogenkonsum, Medikamenteneinnahme oder eine Galaktosämie bekannt sind. Der Erfolg der Muttermilchernährung sollte anhand von Stillproben, ärztlichen Vorsorgeuntersuchungen und der Entwicklung des Kindes kontrolliert werden (Gartner et al., 2005).

Das Frühgeborene hat im Gegensatz zum Reifgeborenen einen höheren Bedarf an Kalorien, Proteinen, Kalzium, Phosphor und Vitaminen. Um diesen höheren Bedarf an Nährstoffen zu decken, wird ab einer enteralen Nahrungszufuhr von 100ml/kg empfohlen die Muttermilch mit Zusätzen anzureichern (Valentine et al., 1994). Diese Supplemente werden „Fortifier“ genannt und enthalten je nach Herstellerfirma (zum Beispiel „FM85“ (Nestlé), „FMS“ (Milupa)) unterschiedliche Konzentrationen an Proteinen, Kalzium, Phosphor, Elektrolyten, Vitaminen und Spurenelementen, sowie Kohlenhydrate und Lipide als Energiequellen. Eine ausreichende Versorgung mit den oben genannten Nährstoffen führt zu einer Reduzierung der frühgeburtlichen Komplikationen und Verbesserung der Langzeitergebnisse (Bhat und Gupta, 2003).

#### Ernährung mit Formula Nahrung

Nicht alle Mütter können ihre Kinder mit eigener Muttermilch versorgen. Es gibt verschiedene Stillhindernisse, wie eine fehlende oder nicht ausreichende Laktation der Brustdrüse, aber auch Stillverbote wie beispielsweise nach einer mütterlichen Chemotherapie oder bei mütterlicher HIV-Infektion. Bei fehlender Muttermilch ist eine Versorgung mit industriell hergestellter Milch, sogenannter Formula Nahrung, indiziert.

Die Kombination der Nährstoffe bleibt konstant und ist an der Zusammensetzung der Muttermilch der Frauen orientiert. Für Frühgeborene gibt es speziell entwickelte Zusammensetzungen. Innerhalb der ersten drei Lebensmonate zeigen Frühgeborene der Gruppe mit VLBW durch die Ernährung mit Nucleosid angereicherter Formula Nahrung ein Wachstumsvorteil gegenüber den Kindern, die mit herkömmlicher Formula Nahrung ernährt wurden (Picaud, 2003).



### 1.3 Mikronährstoffe

Die Nahrung des Menschen besteht vorwiegend aus sieben verschiedenen Komponenten. Während Kohlenhydrate, Lipide und Proteine zu den Makronährstoffen zählen, teilt man die Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente den Mikronährstoffen zu. Wasser ist die siebte Komponente. Insbesondere die Kohlenhydrate und Lipide liefern Energie. Proteine, Vitamine, Mineralstoffe, Spurenelemente und Wasser dienen dem Wachstum, der Entwicklung von Geweben und Organen und der Stoffwechselregulation (Biesalski und Grimm, 2015).

Zu den Mikronährstoffen zählen die vorwiegend nicht Energie liefernden Stoffe, wie die Vitamine, Spurenelemente (beispielsweise Zink, Eisen, Selen) und Mineralstoffe, sowie die Nucleotide. Der katabole Stoffwechsel beinhaltet den Abbau der Kohlenhydrate, Lipide und Proteine in der Glykolyse, der Atmungskette und dem Fettsäureabbau. Katabole Prozesse ergeben freie Energie. Oxidations- und Reduktionsreaktionen finden während dieser Prozesse statt und werden von Coenzymen, wie zum Beispiel den Nucleotiden Adenosintriphosphat (ATP) und Guanosintriphosphat (GTP) katalysiert. Im anabolen Stoffwechsel stellen diese Coenzyme Energie für Aufbauprozesse bereit, sodass große Moleküle wie Aminosäuren oder Proteine aufgebaut werden können (Bley et. al 2015).

Diese Eigenschaft macht die Nucleotide in Kombination mit der teilweise eingeschränkten Eigensynthese für den Menschen essenziell. Je nach Mikronährstoff ist der tägliche Bedarf, um die abhängigen Körperfunktionen aufrecht zu erhalten, unterschiedlich hoch. Da manche Substanzen langsamer abgebaut werden als andere oder Speichermöglichkeiten im Körper vorhanden sind, ist eine tägliche Zufuhr nicht immer zwingend erforderlich. Knochen, Zähne, Muskulatur und Haut dienen als mögliche Depotgewebe (Biesalski, 2015).

## Mangel an Mikronährstoffen

Im Gegensatz zu dem gesteigerten Appetit, mit dem der Körper auf einen Mangel an Makronährstoffen reagiert, besitzt der Körper kein spezifisches akutes Warnsignal für einen Mangel an Mikronährstoffen, obwohl dieser Mangel schwere Folgen hat. Oft bemerken Betroffene nur unspezifische Krankheitssymptome wie Schmerzen, vermehrte Infektionen oder Leistungsschwäche. Im schwerwiegendsten Fall kann die Mangelernährung auch zum Versterben des Individuums führen (Biesalski, 2015).

## Purine und Pyrimidine

Purine und Pyrimidine gehören zu den oben beschriebenen Mikronährstoffen. Die Purine sind heterobizyklische aromatische organische Verbindungen, die mit vier Stickstoffatomen ausgestattet sind. Das Molekül besteht aus zwei miteinander verbundenen Ringsystemen. Bei dem einem handelt es sich um das Grundgerüst eines Pyrimidins, der zweite hat die Struktur eines Imidazolrings. Ohne Substitution von weiteren Atomen oder Molekülen kommt Purin nicht in der Natur vor. Zu den wichtigsten Purinen zählen die Basen Adenin und Guanin. Weitere bedeutende Vertreter sind Hypoxanthin, Xanthin, Theobromin, Coffein, Harnsäure und Isoguanin. Uracil, Cytosin und Thymin gehören zu der Gruppe der Pyrimidine. Das Grundgerüst dieser Moleküle besteht aus einer heterocyclischen, aromatischen, organischen Verbindung, die aus sechs Gliedern besteht (Rassow et al., 2008).

## Nucleoside und Nucleotide

Nucleoside bestehen aus einer stickstoffhaltigen Base, die entweder eine Pyrimidin- oder Purinbase darstellen, und über eine N-glykosidische Verbindung mit einem aus fünf Kohlenstoffatomen bestehenden Monosaccharid der Ribose oder Desoxyribose verknüpft ist.

Aus der Verbindung einer der genannten Basen mit der Pentose und zusätzlich einem oder mehreren Phosphatresten bilden sich die Nucleotide, die den Grundbaustein der DNA und RNA bilden (Rassow et al., 2008, Lerner und

Shamir, 2000). Tabelle 2 zeigt die Benennung der einzelnen Nucleoside und Nucleotide in Abhängigkeit ihrer Base.

Tabelle 2: Zielsubstrate

<b>Basen</b>	<b>Base + Zucker = Nucleosid</b>	<b>Base + Zucker + Phosphat = Nucleotid</b>
Cytosin	Cytidin	CMP
Adenin	Adenosin	AMP
Guanin	Guanosin	GMP
Thymin	Thymidin	TMP
Uracil	Uridin	UMP
Hypoxanthin		
Inosin		

Durch weitere Phosphatanlagerungen an das Adenosin entstehen unter Energieverbrauch weitere energiereiche Moleküle. Adenosindiphosphat und Adenosintriphosphat setzen diese Energie bei der Spaltung der Phosphorsäureanhydridbindung wieder frei und dienen daher als universelle Energiewährung in der Zelle. Auch Guanosintriphosphat dient zur Speicherung der Energie für viele zelluläre Aktivitäten (Heinrich et al., 2014).

Die Nucleotide sind an essenziellen biochemischen Prozessen beteiligt, die für den Körper lebensnotwendig sind. Sie bilden Coenzyme wie Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD), Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) oder Coenzym A (CoA-SH) (Lerner und Shamir, 2000).

Durch Cyclasen entstehen zyklisches Adenosin-3',5'-Monophosphat (cAMP) und zyklisches Guanosin-3',5'-Monophosphat (cGMP), die intrazelluläre Second-Messenger-Kaskaden aktivieren und damit eine regulierende Schlüsselfunktion im Zellmetabolismus einnehmen. In glatten Gefäßmuskelzellen führt Stickstoffmonoxid (NO) zur Aktivierung einer Guanylatcyclase, die GTP zu cGMP umbaut. Die steigende Konzentration an cGMP initiiert die Aktivierung der Proteinkinase G. Durch die Proteinkinase G

sinkt die Calciumkationen-Konzentration intrazellulär und es kommt zu einem geringerem Tonus der glatten Muskulatur und damit zur Vasodilatation. Diese Vasodilatation bedeutet eine metabolische Regulierung der Durchblutung (Hick und Hick, 2013).

Auch an Umbauprozessen wie bei Uridindiphosphat-Glukose (UDP-Glukose) in Glykogen oder Uridindiphosphat-Galaktose (UDP-Galaktose) in Lactose sind Nucleotide durch Bildung der aktivierten Zwischenprodukte involviert.

Aufgrund der Beteiligung an den vielen Stoffwechselwegen und Prozessen sind die Purine und Pyrimidine somit maßgeblich für die physiologische Entwicklung der Organe und das Wachstum des Fötus verantwortlich.

#### Eigensynthese und Recycling der Purine und Pyrimidine

Grundsätzlich sind alle kernhaltigen Zellen des menschlichen Körpers in der Lage, die benötigten Purin- und Pyrimidinbasen selbst de-novo zu synthetisieren oder im so genannten Salvage-Pathway aus Abbauprodukten zu recyceln. Allerdings unterscheiden sich die Zellen im Umfang ihrer Biosynthese. Übersteigt der Bedarf an Purinen und Pyrimidinen die Synthese, werden die Mikronährstoffe zu essenziellen Bestandteilen der Nahrung (Che et al., 2016).

Das Zentralnervensystem hat eine vergleichsweise geringe Enzymausstattung zur Purinbiosynthese, besitzt jedoch eine ausgeprägte Aktivität der Hypoxanthin-Guanin- und der Adenosin-Phosphoribosyltransferase. Zudem bezieht der Körper über den Intestinaltrakt Nucleoside aus Abbauprodukten der Nucleinsäuren der Nahrung. Teilweise sind die Nucleoside auch in hohen Konzentrationen frei in der Nahrung vorhanden und können direkt genutzt werden. Über in der Membran der Zelle lokalisierten Transporter gelangen die Purine und Pyrimidine über erleichterte Diffusion oder über sekundär aktive natriumabhängige Transporter gegen einen Konzentrationsgradienten in den Intrazellularraum und stehen dem Körper zur Verfügung (Heinrich et al., 2014). Auch die intestinale Mukosa, das Knochenmark und hämatopoetische Zellen sind überwiegend vom Salvage-Pathway abhängig und können nur limitiert die De-Novo-Synthese zur Bereitstellung von Purinen und Pyrimidinen nutzen (Yu, 2002).

## Nucleotide und freie Nucleoside in der Muttermilch

Muttermilch ist die für Früh- und Neugeborenen zu präferierende Nahrung. Kinder, die ausschließlich gestillt werden, erhalten über die Muttermilch 50-150  $\mu\text{mol/L}$  Nucleotide und Nucleoside (Yu, 2002). Der gesamte Mechanismus, der zu der Zusammensetzung der Muttermilch führt, ist bisher nicht vollständig wissenschaftlich erforscht. Die Ernährung der Mutter selbst scheint einen Einfluss zu haben (Yu, 2002). Hauptquelle der Nucleotide sind die Bestandteile der Desoxyribonukleinsäure (DNS) und der Ribonukleinsäure (RNS) der lebenden Zellen in der Muttermilch (Lerner und Shamir, 2000).

Es konnte gezeigt werden, dass Muttermilch 15-30 % Nucleotide enthält, die einen nicht proteinogenen Ursprung haben (Liao et al., 2011). In Kuhmilch liegt der Anteil dieser Nucleotide bei 2-5 %. Mit zunehmendem Laktationsalter nahm der Anteil der nicht-proteinogenen Nucleotide in der Milch der Frauen und der Kühe ab (Janas und Picciano, 1982). Nucleotide erreichen in Muttermilch in Abhängigkeit von geographischer Lage und Zeitpunkt Konzentrationen von 82-402  $\mu\text{mol/L}$  (Lerner und Shamir, 2000).

Neun Nucleotide konnten in der Milch der Frauen nachgewiesen werden: Adenosinmono- und diphosphat (AMP, ADP), Cytidinmono- und diphosphat (CMP, CDP), Guanosinmono- und diphosphat (GMP, GDP) und Inosinmonophosphat (IMP) (Janas und Picciano, 1982). Unabhängig vom Gestationsalter und von der Geographie ist CDP das vorherrschende Nucleotid und Cytidin und Uridin die vorherrschenden freien Nucleoside in der Frauenmilch (Liao et al., 2011). In der Milch von Mutterkühen, auf deren Basis Formula Nahrung hergestellt wird, konnten lediglich AMP und ADP detektiert werden (Janas und Picciano, 1982).

## Nucleotide in Formula Nahrung

Formula Nahrung basiert auf Kuhmilch und soll die Frauenmilch möglichst imitieren. Daher werden in Europa seit 1983 Nucleotide der Formula Nahrung zugefügt. Die Supplementierung ist auf AMP, CMP, GMP, IMP und Uridinmonophosphat (UMP) limitiert. Negative Folgen der Supplementierung sind

bisher nicht bekannt (Yu, 2002). In den Packungsbeilagen der Hersteller werden keine genauen Angaben zum Nucleotidgehalt gegeben.

Die Universitätsklinik Tübingen versorgt die Früh- und Neugeborenen mit Nahrung von Nestlé Beba. Tabelle 3 gibt einen Überblick über den Nucleotidgehalt in den entsprechenden Produkten.

Tabelle 3: Nährwertangaben der Nucleotide in den entsprechenden Nestlé BEBA Produkten (Nestlé Babyservice Frankfurt; Persönliche Mail von Dziarski, 2019)

<b>Produkt</b>	<b>Nucleotidgehalt pro 100 kcal</b>
BEBA OPTIPRO PRE	3,006 mg
BEBA HA PRE	2,935 mg
FGN 1 trinkfertig	2,987 mg
FGN 2 trinkfertig	3,252 mg
FGN 2 Pulver	3,077 mg
FM 85	Keine Angabe in der Rezeptur

#### Effekte der Nucleotid Supplementierung

Trotz moderner Intensivmedizin haben Frühgeborene weiterhin Defizite in ihrem Wachstum, ihrer Organentwicklung und ihrem Immunsystem. In vorhandenen Studien zeigten sich bereits einige potenzielle Vorteile einer Supplementierung von Nucleosiden und Nucleotiden in vitro und in Tierexperimenten (Yu, 2002). Wachstumsretardierte Probanden profitierten deutlich mehr von einer Supplementierung mit Nucleotiden (Che et al., 2016).

#### Gastrointestinaltrakt

Durch eine Supplementierung mit Nucleotiden bei kleinen Rattenjungen manifestierte sich im Darm eine höhere Konzentration an Mukosaproteinen. Die Mikrovilli waren ausgeprägter und die Enzymaktivität gesteigert. Eine vermehrte Genexpression mit der Folge von einer größeren Anzahl von „tight junctions“ konnte nachgewiesen werden. Man vermutet, dass diese Veränderungen die Darmbarriere verbessern und so der Gastrointestinaltrakt weniger anfällig für Infektionen ist. Nucleotidsupplementierung reduzierte in Ratten die Inzidenz von

Diarrhoe und verbesserte zusätzlich die Diarrhoe Genesung (Lerner und Shamir, 2000). Des Weiteren könnte die Verhinderung von Endotoxin induzierter bakterieller Translokation durch Nukleotide eine Ursache für die positive Auswirkung auf den Darm sein (Che et al., 2016).

### Immunsystem

Durch die Nucleotidsupplementierung bei wachstumsretardierten Ferkeln zeigen sich Vorteile im humoralen und zellulären Immunsystem. So holten Ferkel das Defizit an Interleukin-1 $\beta$  innerhalb von 28 Tagen auf (Lerner und Shamir, 2000). In einer Studie von Hawkes et al. zeigte sich bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht <2500 g, dass die Anzahl an Leukozyten und neutrophilen Granulozyten steigt, wenn die Standard Formula Nahrung mit einem durchschnittlichen Gehalt von 10 mg/l Nucleosiden pro Liter mit zusätzlich 17,3 mg/l CMP, 6,6 mg/l UMP, 4,4 mg/l AMP, 3,1 mg/l IMP und 2,2 mg/l GMP supplementiert wird (Hawkes et al., 2006).

Nach der Impfung mit Haemophilus Influenza Typ B und Dyptherie Vaccinen konnten eine verstärkte Immunantwort und höhere Immunglobulin-M- und Immunglobulin-A-Titer bei mit Nucleosiden supplementierten Rattenjungen beobachtet werden (Lerner und Shamir, 2000).

### Metabolismus

Nucleoside, Inosine, Hypoxanthine und Harnsäure steigern die Eisenaufnahme im Darm signifikant. Unter Nucleotidsupplementierung konnte eine höhere Konzentration an langen mehrfach ungesättigten Fettsäuren in Erythrozyten von Rattenjungen festgestellt werden. Des Weiteren bestand eine höhere Toleranz gegenüber der Lipidzufuhr. Diese Toleranz könnte auf eine erhöhte Aktivität der Plasma-Lecithin-Cholesterol-Acyltransferase zurück zu führen sein (Lerner und Shamir, 2000).

## Wachstum

Dass in Studien die Lebewesen mit Wachstumsdefizit von der Nucleotidsupplementierung profitierten, könnte darauf zurückzuführen sein, dass diese Probandengruppen eine zu frühe Trennung von der adäquaten physiologischen Versorgung erfuhren und ihnen so essenzielle Mikronährstoffe für eine physiologische Entwicklung und eine optimale Versorgung fehlten (Hawkes et al., 2006). In den wachstumsretardierten Probandengruppen stiegen nach der Gabe von Nucleotiden die Wachstumskurven deutlich steiler an und es kam zu einem vermehrten Längenwachstum, gesteigerter Gewichtszunahme und Kopfumfangszuwachs. Gestillte Kinder zeigten gegenüber Kindern, die mit Formula Nahrung ernährt wurden, ein vermehrtes Wachstum (Lerner and Shamir, 2000, Che et al., 2016).



#### 1.4 Fragestellung der Studie

Purine und Pyrimidine sind als Kofaktoren an vielen Stoffwechselprozessen beteiligt. Eine unzureichende Versorgung könnte das Wachstum und die Entwicklung Frühgeborener ungünstig beeinflussen. Es ist anzunehmen, dass Muttermilch für ein reifgeborenes Kind in ihrer Zusammensetzung für die physiologische Entwicklung optimal angepasst ist. Unklar ist jedoch, ob Muttermilch den Bedarf Frühgeborener an Purinen und Pyrimidinen decken kann. In dieser Dissertation sollen die Konzentrationen der Purine und Pyrimidine, sowie deren Derivate und Monophosphate im Nabelschnurblut Früh- und Reifgeborener erhoben und in Abhängigkeit des Gestationsalters ermittelt werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Diese Dissertationsschrift stellt einen Teil der „Beobachtungsstudie zur Versorgung Reif- und Frühgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen

- Wissenschaftliche Untersuchung bei Minderjährigen“ dar. Die prospektive Beobachtungsstudie wurde in der Universitätskinderklinik Tübingen, Abteilung Neonatologie durchgeführt. Es wurden postnatale Nabelschnurblutproben von Früh- und Reifgeborenen, Blutproben von den Müttern und der stationär behandelten Kinder und Muttermilchproben gesammelt. Diese Dissertation untersuchte die Mikronährstoffe Purine und Pyrimidine im Nabelschnurblut.

Bei in Frage kommenden Früh- und Neugeborenen wurde unmittelbar postnatal Nabelschnurblut asserviert.

Die klinischen Daten wurden anhand von Fragebögen und der klinikinternen Datenverarbeitungsprogramme erhoben.

### 2.2. Studienziele

Folgende Punkte sind die Ziele dieser Dissertation:

- Bestimmung der Konzentrationen der Purine und Pyrimidine im Nabelschnurblut
- Prüfung, ob sich die Konzentrationen der Purine und Pyrimidine im Nabelschnurblut bei Geburt in Abhängigkeit vom Gestationsalter unterscheiden

### 2.3 Zustimmende Bewertung der Ethik-Kommission

Die Ethik-Kommission der medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität Tübingen und am Universitätsklinikum Tübingen genehmigte die am 15.02.2017

eingereichte zweite Version des Ethikantrags zur „Beobachtungsstudie zur Versorgung Reif- und Frühgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen – Wissenschaftliche Untersuchung bei Minderjährigen“ Projektnummer: 007/2017BO1.

## 2.4 Stichprobe

In die Studie wurden Reif- und Frühgeborene eingeschlossen, die in der Universitätsfrauenklinik Tübingen geboren wurden.

Die Studienpopulation wurde auf Reif- und Frühgeborenen von 23 + 0/7 bis 42 + 0/7 SSW begrenzt und entsprechend des postmenstruellen Alters (PMA) bei Geburt in fünf Gestationsalterklassen eingeteilt.

Aufgrund der fehlenden Datenlage zu den Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in Nabelschnurblut bei Früh- und Reifgeborenen, gibt es keine Orientierung für eine Poweranalyse.

Innerhalb eines Jahres werden in der Universitätsfrauenklinik ca. 110 Kinder mit einem Gestationsalter von weniger als 32 Wochen geboren. Ausgehend von einer Zustimmungsrate von 50%, können so jeweils ca. 30 Nabelschnurproben für die klinisch bedeutsamen Altersklassen gewonnen werden. Im Falle von normalverteilten Daten lassen sich zwischen den Gruppen Konzentrationsunterschiede in der Größenordnung von 0,75-1,0 Standardabweichungen mit einem alpha von 0,05 und einer Power von 80% bei zweiseitigem Testen nachweisen.

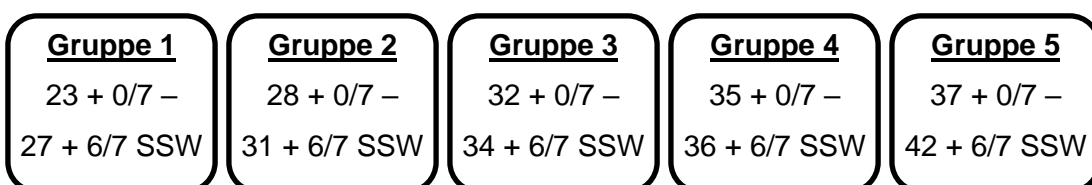


Abbildung 1: Aufteilung der Studiengruppen nach Schwangerschaftswochen

#### 2.4.1 Einschlusskriterien

- Reif- und Frühgeborene im Alter von 23 + 0/7 bis 42 0/7 SSW

#### 2.4.2 Ausschlusskriterien

- Fehlende Einverständniserklärung der Mutter und/oder des Sorgeberechtigten
- Stoffwechselerkrankungen, Fehlbildungen oder syndromale Erkrankungen des Reif- oder Frühgeborenen

#### 2.5 Rekrutierung

Die Aufklärung der Eltern über die Mikronährstoffstudie erfolgte in den ersten Tagen nach der Geburt mündlich und schriftlich durch eine Ärztin/ einen Arzt oder durch eine/n geschulte/n medizinische/n Doktoranden/in.

Aufklärungsbogen und Einverständnissbogen siehe Anhang.

#### 2.6 Datenerhebung

Die für die Studie benötigten klinisch relevanten Daten wurden einerseits im Interview mit den Müttern der Probanden und andererseits durch folgende klinische Patientendatenmanagementsysteme ermittelt:

- Intelspace Critical Care and Anesthesia (ICCA)
- Neonatologisches Patientendatenbanksystem (NEODAT)
- Internes Laboranforderungssystem LAURIS
- Medipaed

Die Parameter wurden anhand von Datenerfassungsbögen während des stationären Aufenthalts der Reif- und Frühgeborenen erhoben.

Die Messergebnisse und die erhobenen klinisch relevanten Daten der Mütter und ihrer Kinder wurden in pseudonymisierter Weise gespeichert. Die nachträgliche Zuordnung der Daten ist ausschließlich anhand einer Liste dem an der Studie arbeitendem Personal möglich. Der Zugang zu der Liste ist über ein Passwort-geschütztes Laufwerk auf einem UKT-Server möglich. Die Daten werden für 10 Jahre gespeichert. Eine Kopie der jeweiligen Datenerfassungsbögen befindet sich im Anhang.

Folgende Parameter wurden erhoben:

Allgemeine Daten:

- Geburtsuhrzeit
- Geburtsmodus
- Apgar-Score
- Nabelarterien pH
- Gestationsalter
- Geburtsgewicht und -länge, Kopfumfang
- Ursachen der Frühgeburtlichkeit
- Pränatale Therapie

Angaben zur Mutter:

- Alter
- Gestationsdiabetes
- Rauchverhalten in der Stillzeit
- Vorerkrankungen und Medikamente
- Essgewohnheiten
- Ernährungssupplementierung in der Schwangerschaft im zeitlichen Bezug
- Ernährungssupplementierung in der Stillzeit im zeitlichen Bezug

Angaben zum Kind:

- Stoffwechselscreening
- Anlage eines Anus praeter
- Entlassungsdatum
- Entlassungsmaße (Körpergewicht, -länge, Kopfumfang)

Angaben zu Laborwerten

- Datum und Uhrzeit der Einfrierung des Nabelschnurblutes

Die Daten aus den Datenerfassungsbögen wurden in eine Tabelle des Programmes Microsoft® Excel® für Office 365 MSO (16.0.11929.20928) übertragen.

## 2.7 Probengewinnung

### 2.7.1 Lagerungstest Nabelschnurblut

Material:

- Safety-Kanüle für S-Monovette Nr.2 0,8 x 38 mm (7070411), Sarstedt Nümbrecht
- Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) -Röhrchen:
- Eppendorfcups: Reaction Tubes, 1,5 ml, PP, graduated, attached cap, natural, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
- Plastikpipette: Eppendorf Tips epT.I.P.S. Standard 50-1000 Greiner Bio-One, Eppendorf AG Hamburg
- Eppendorf-Pipette Research 100 µl (10-100 µl), 1000 µl (100-1000 µl), Greiner Bio-One, Eppendorf AG Hamburg
- Zentrifuge: Biofuge fresco 75005521, Heraeus GmbH Hanau
- Gefrierschrank Electrolux -40 °C, Electrolux AG (Medical Refrigeration); Zürich, Schweiz

- Gefrierschrank SANYO -80 °C, Stiehl Kälte-und Klimatechnik; Tübingen, Deutschland

Aufgrund der fehlenden Datenlage über die Purin- und Pyrimidin-Konzentrationen in Nabelschnurblut bei Früh- und Neugeborenen wurde ein Lagerungstest durchgeführt. Das Nabelschnurblut von sechs Reifgeborenen wurde unmittelbar postnatal in einem EDTA-Röhrchen gewonnen und pseudoanonymisiert. Die eine Hälfte des Blutes wurde jeweils bei Raumtemperatur 20 °C, der andere Teil im Kühlschrank bei 4 °C über 4 Stunden gelagert. Nach 0, 30, 60, 120 und 240 Minuten Lagerung erfolgte die Zentrifugierung von Aliquots bei 3000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten. Plasma und Erythrozytenpellets wurden voneinander getrennt und jeweils 100 µl in Eppendorfcups überführt. Bei -40 °C wurden die Eppendorfcups eingefroren und innerhalb von zwei Wochen in einen gesicherten -80 °C Kühlschrank überführt.

### 2.7.2 Nabelschnurblut

#### Material:

- Safety-Kanüle für S-Monovette Nr.2 0,8 x 38 mm (7070411), Sarstedt Nümbrecht
- Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) -Röhrchen: GK 150 EDTA, 150 GK, 150 µl, Kabe Labortechnik GmbH Nürnberg-Elsenroth
- Eppendorfcups: Reaction Tubes, 1,5 ml, PP, graduated, attached cap, natural, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
- Plastikpipette: Eppendorf Tips epT.I.P.S. Standard 50-1000 Greiner Bio-One, Eppendorf AG Hamburg
- Eppendorf-Pipette Research 100 µl (10-100 µl), 1000 µl (100-1000 µl)
- Zentrifuge: Biofuge fresco 75005521, Heraeus GmbH Hanau
- Gefrierschrank Electrolux -40 °C, Electrolux AG (Medical Refrigeration); Zürich, Schweiz

- Gefrierschrank SANYO -80 °C, Stiehl Kälte-und Klimatechnik; Tübingen, Deutschland

Aus der Nabelvene der Plazenta wurde unmittelbar postnatal Nabelschnurblut in einem EDTA-Röhrchen gewonnen und für maximal 2 Stunden bei einer Temperatur von 4 Grad Celsius (°C) gelagert.

Nach Pseudoanonymisierung wurde das Nabelschnurblut bei 3000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten zentrifugiert. Plasma und Erythrozytenpellets wurden voneinander getrennt und jeweils 100 µl in Eppendorfcups überführt. Bei -40 °C wurden die Eppendorfcups eingefroren und innerhalb von zwei Wochen in einen gesicherten -80 °C Kühlschrank überführt.

## 2.8 Verarbeitung und Laborparameterbestimmung

Die Weiterverarbeitung und Untersuchung der Proben und Bestimmung der Purin- und Pyrimidinderivate, sowie die Erstellung der Eichkurven erfolgte im Labor von Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. Wolfgang Bernhard, Arbeitsgruppe Lipidstoffwechsel und Entwicklungsphysiologie, Abteilung Neonatologie der Kinderklinik des Universitätsklinikums Tübingen. Die Untersuchung der Plasmaextrakte fand mittels Tandemmassenspektrometrie statt.

Folgende Parameter wurden im Nabelschnurblut bestimmt:

- Adenin
- Adenosin
- Adenosinmonophosphat
- Guanin
- Guanosin
- Guanosinmonophosphat
- Hypoxanthin
- Xanthin
- Inosin
- Inosinmonophosphat



- Cytosin
- Cytidin
- Cytidinmonophosphat
- Uracil
- Uridin
- Uridinmonophosphat
- Thymin
- Thyimidin
- Thymidinmonophosphat

### 2.8.1 Eichkurven

Proben mit steigenden Konzentrationen der Zielsubstanzen wurden im Massenspektrometer untersucht. Die numerische Bezeichnung der Zielsubstanzen gibt die Masse pro Ladung des diagnostischen Fragments an. TIC bezieht sich auf den steigenden „Totalionenstrom“ bei steigender Konzentration des Substrats.

Die ermittelten Eichkurven werden auf den folgenden Seiten abgebildet.

Die Werte von 112-Cytosin waren ab einer Konzentration von 0,1 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

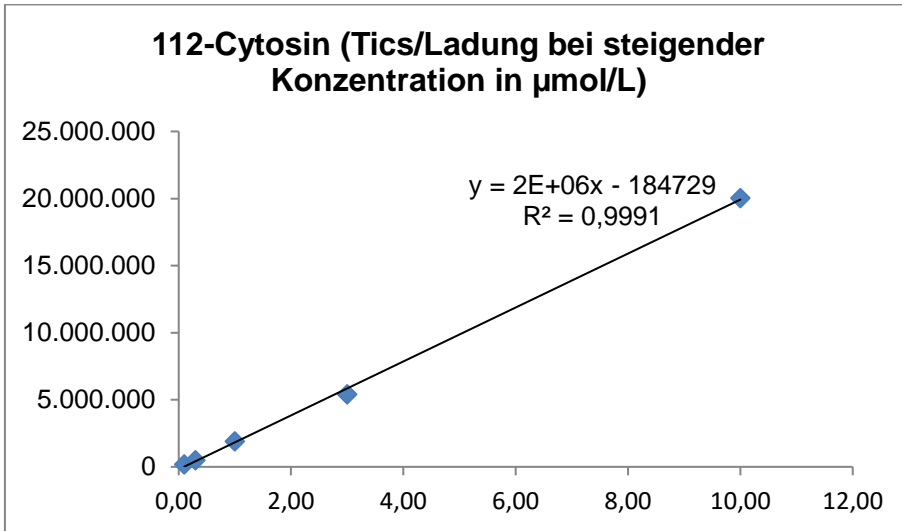


Abbildung 2: Eichkurve 112-Cytosin

Die Werte von 113-Uracil waren ab einer Konzentration von 1,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

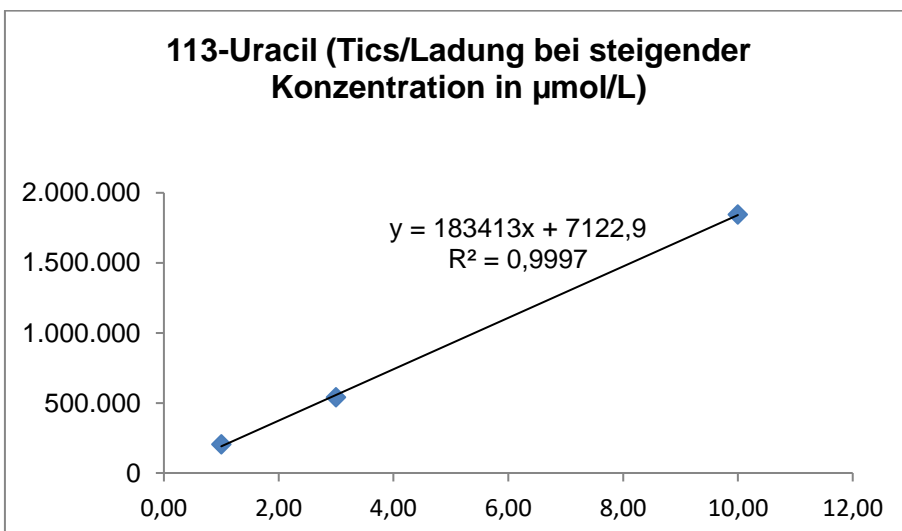


Abbildung 3: Eichkurve 113-Uracil

Die Werte von 127-Thymin waren ab einer Konzentration von 3,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

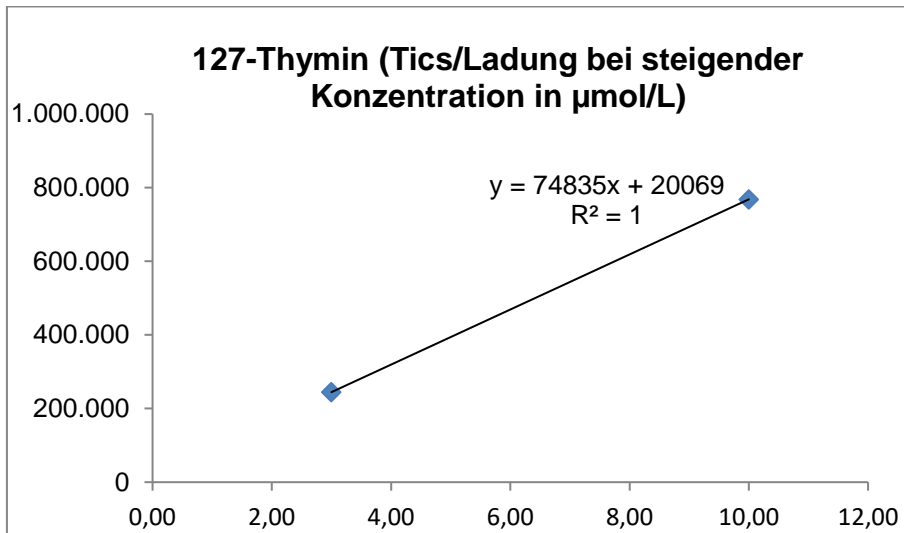


Abbildung 4: Eichkurve 127-Thymin

Die Werte von 136-Adenin waren ab einer Konzentration von 0,1 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

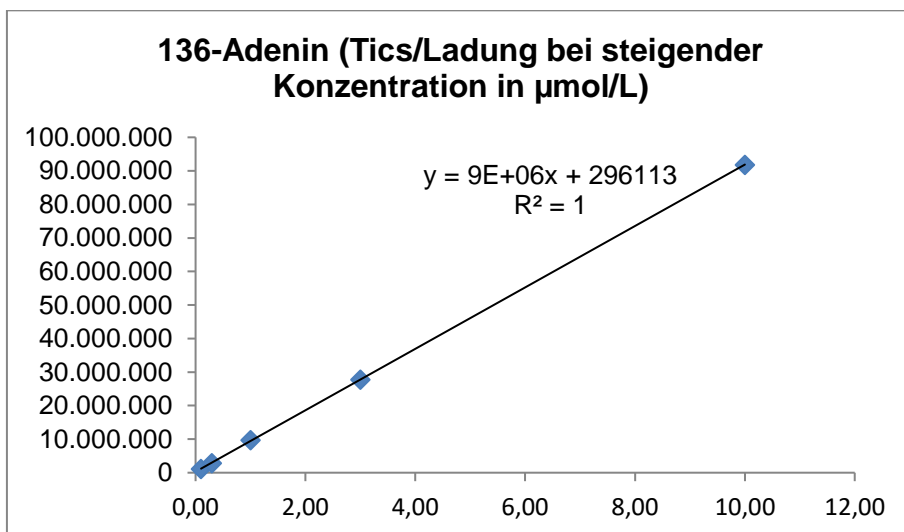


Abbildung 5: Eichkurve 136-Adenin

Die Werte von 137-Hypoxanthin waren ab einer Konzentration von 0,3 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

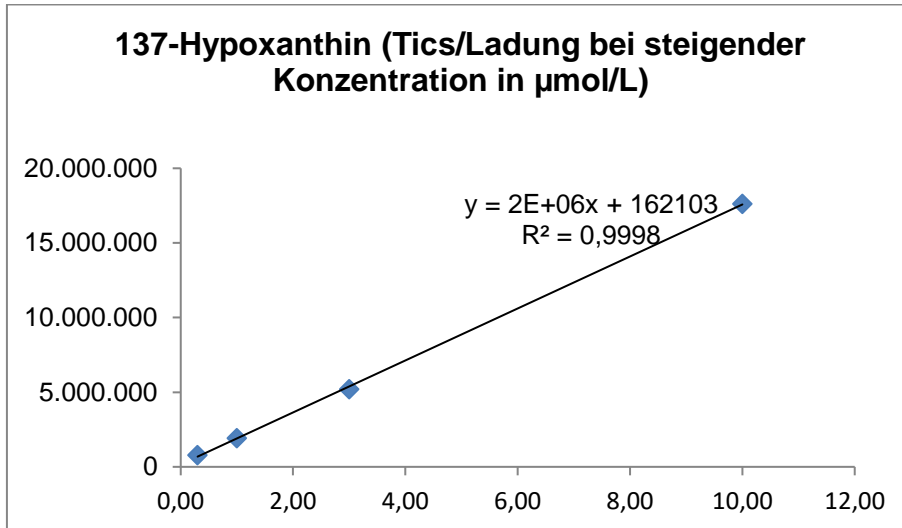


Abbildung 6: Eichkurve 137-Hypoxanthin

Die Werte von 152-Guanin waren ab einer Konzentration von 0,1 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

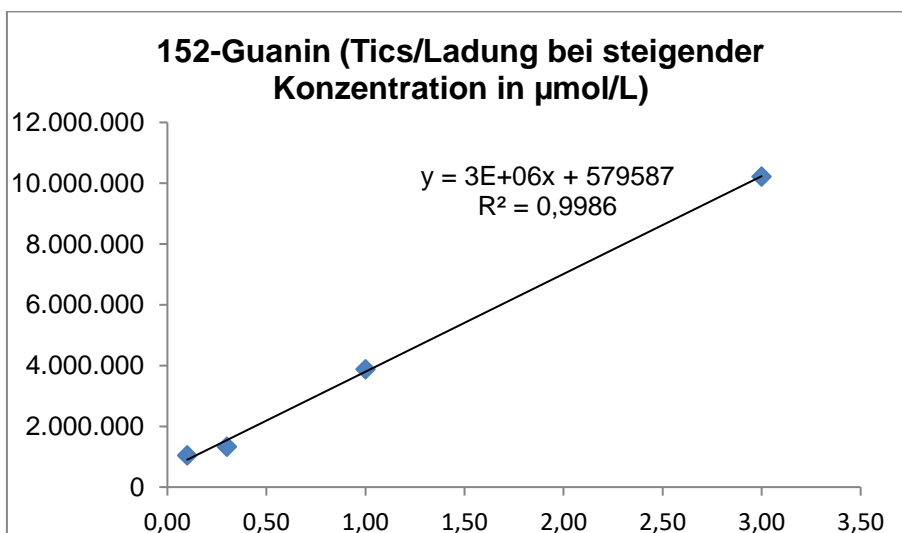


Abbildung 7: Eichkurve 152-Guanin

Die Werte von 153-Xanthin waren ab einer Konzentration von 1,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

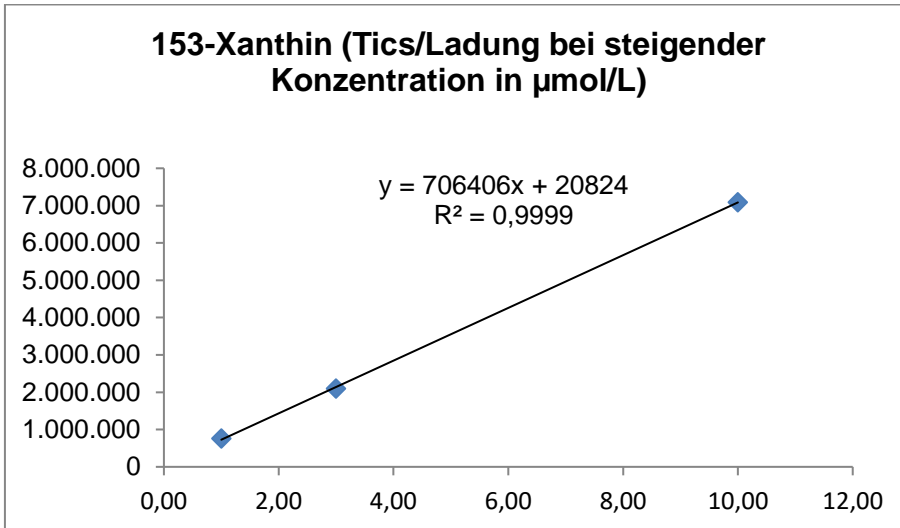


Abbildung 8: Eichkurve 153-Xanthin

Die Werte von 243-Thymidin waren ab einer Konzentration von 0,3 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

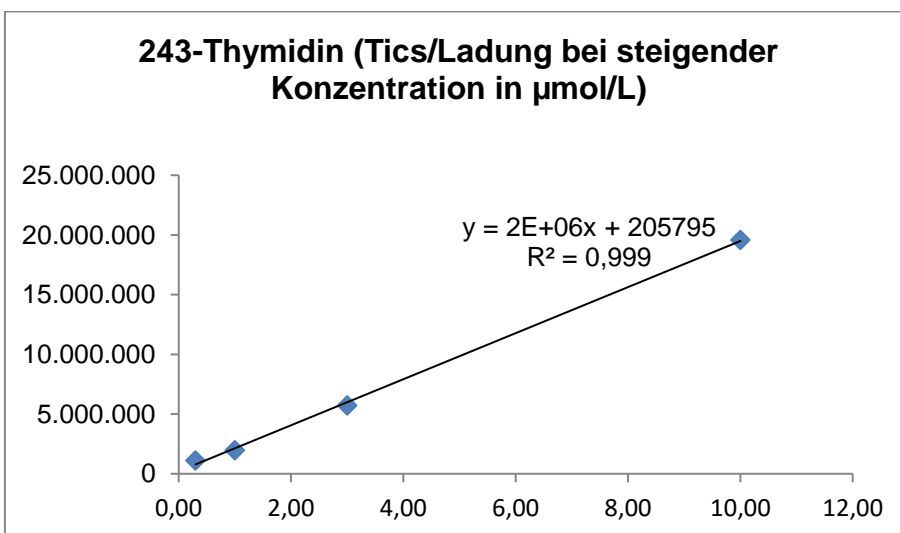


Abbildung 9: Eichkurve 243-Thymidin

Die Werte von 244-Cytidin waren ab einer Konzentration von 0,03 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

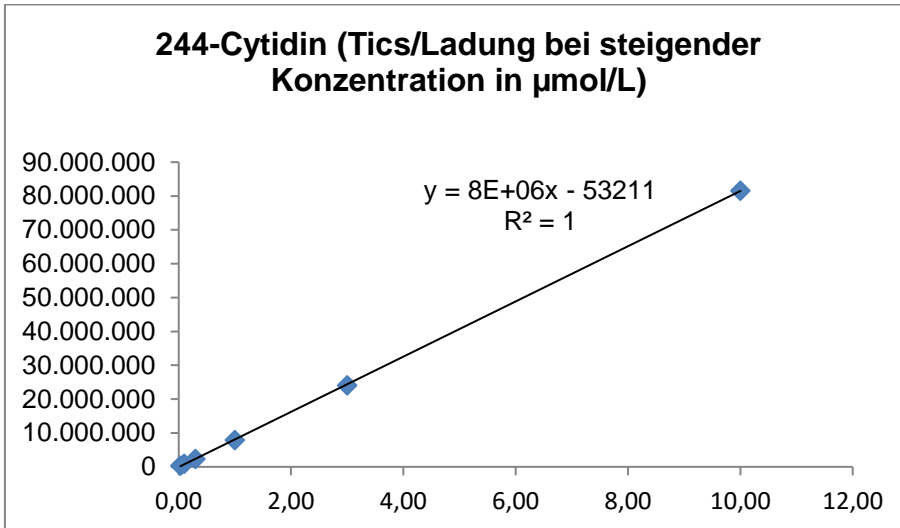


Abbildung 10: Eichkurve 244-Cytidin

Die Werte von 245-Uridin waren ab einer Konzentration von 0,3 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

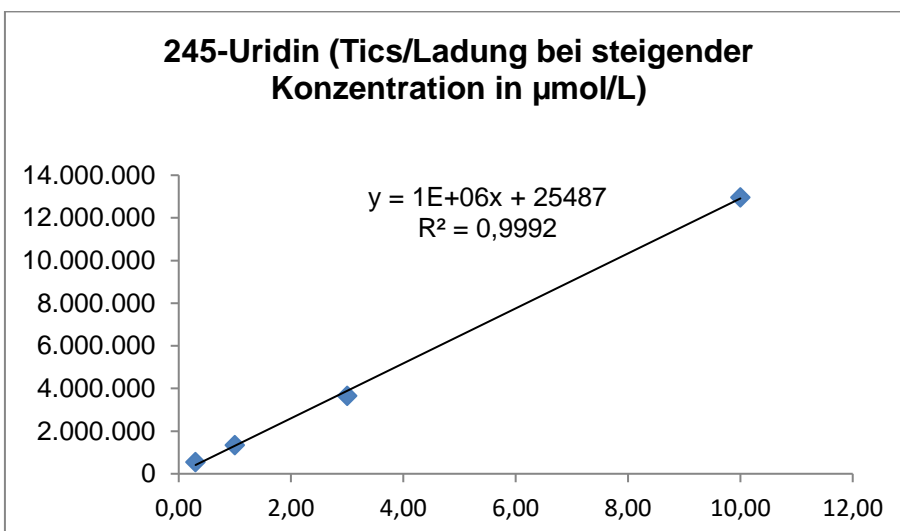


Abbildung 11: Eichkurve 245-Uridin

Die Werte von 268-Adenosin waren ab einer Konzentration von 0,01 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

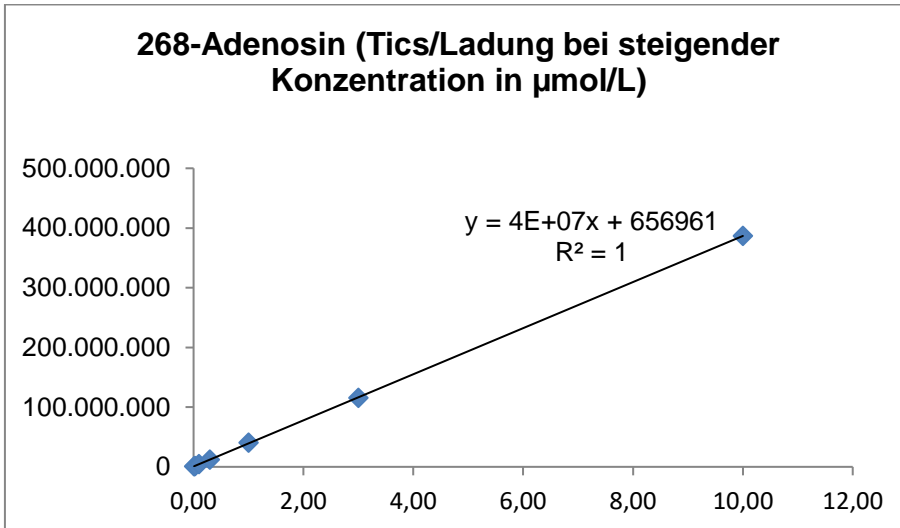


Abbildung 12: Eichkurve 268-Adenosin

Die Werte von 269-Inosin waren ab einer Konzentration von 0,1 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

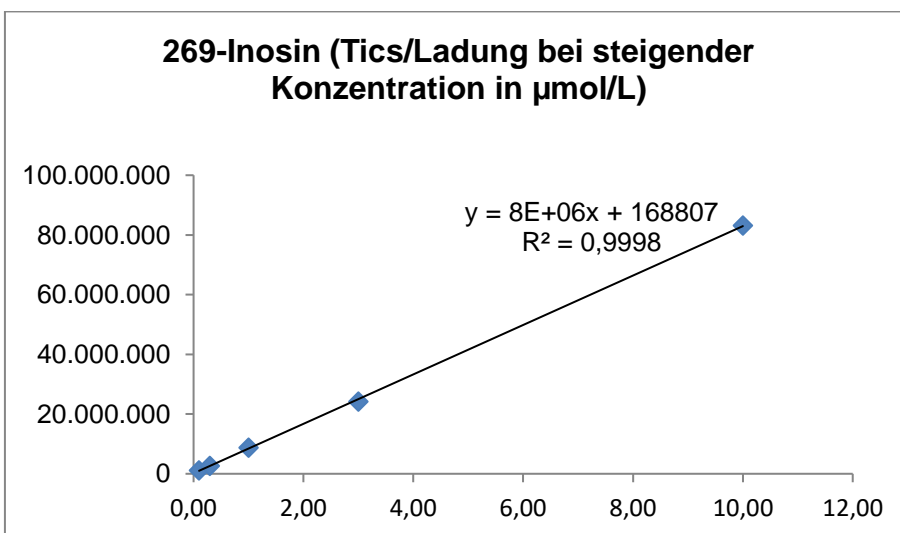


Abbildung 13: Eichkurve 269-Inosin

Die Werte von 284-Guanosin waren ab einer Konzentration von 0,03 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

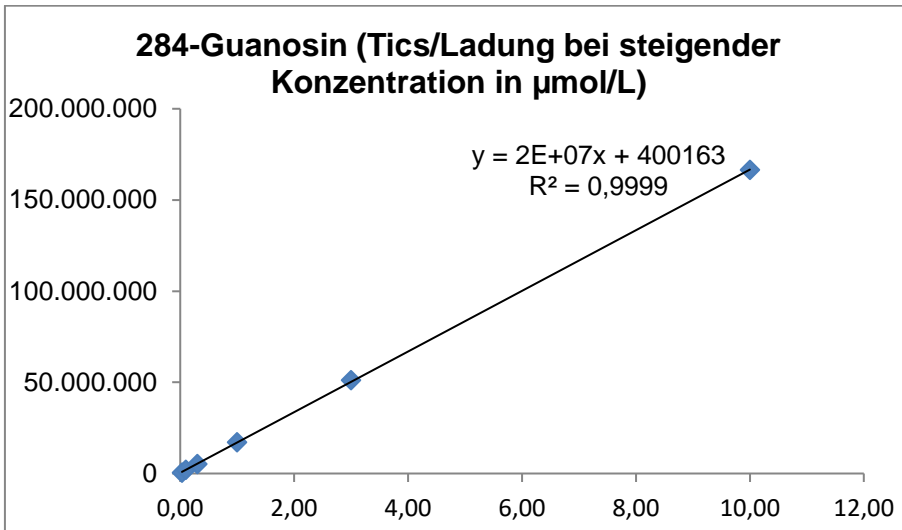


Abbildung 14: Eichkurve 284-Guanosin

Die Werte von 324-CMP waren ab einer Konzentration von 0,3 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

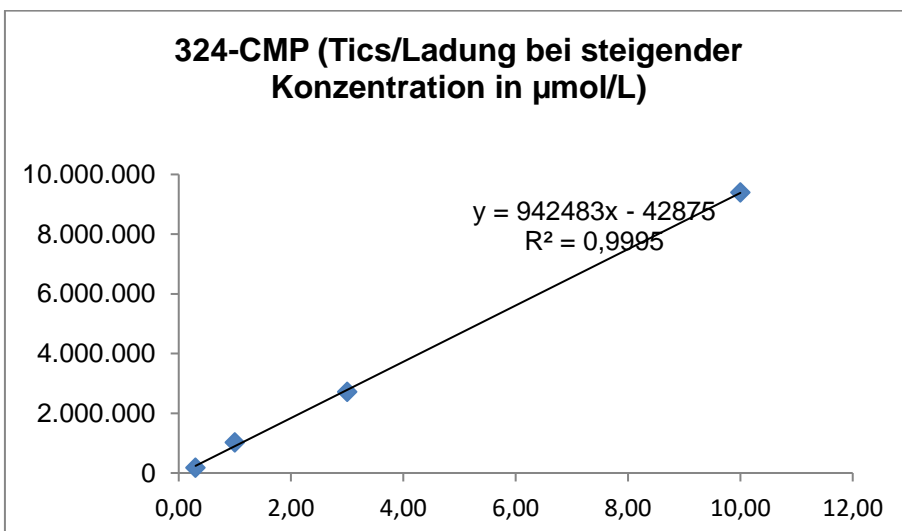


Abbildung 15: Eichkurve 324-CMP



Die Werte von 325-UMP waren bis zu einer Konzentration von 3,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

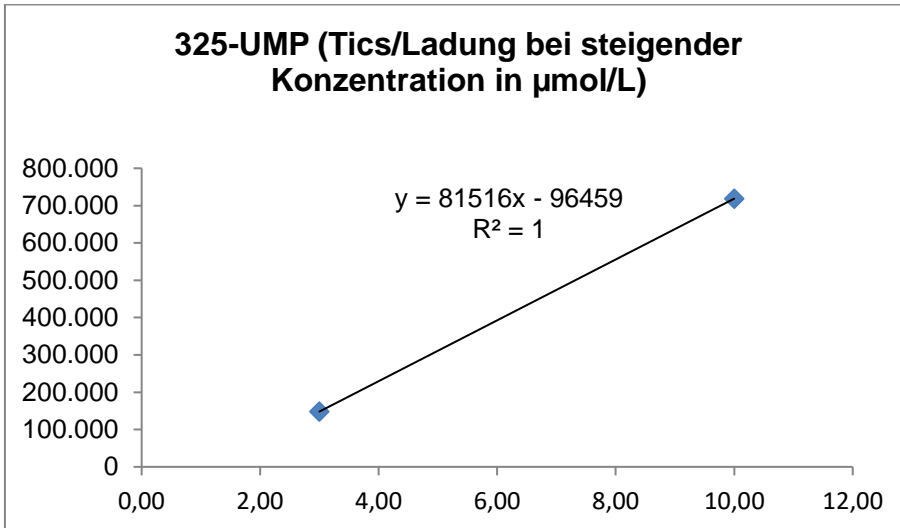


Abbildung 16: Eichkurve 325-UMP

Die Werte von 348-AMP waren ab einer Konzentration von 0,01 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

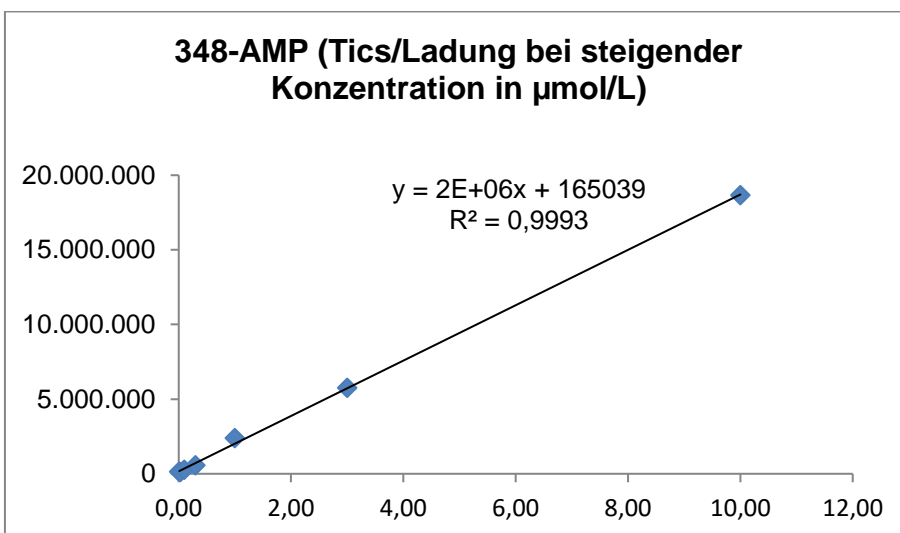


Abbildung 17: Eichkurve 348-AMP

Die Werte von 364-GMP waren ab einer Konzentration von 0,1 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

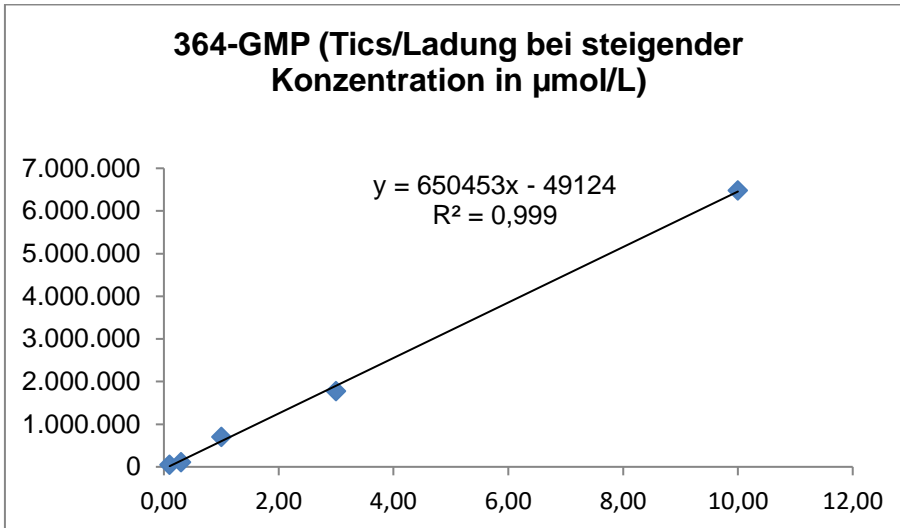


Abbildung 18: Eichkurve 364-GMP

Die Werte von 349-IMP waren ab einer Konzentration von 1,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

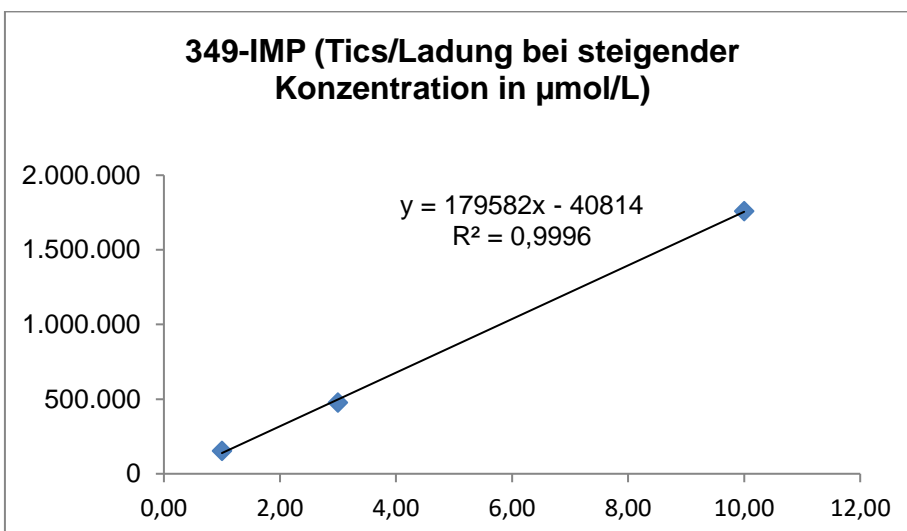


Abbildung 19: Eichkurve 349-IMP

Die Werte von 321-TMP waren bis zu einer Konzentration von 1,0 µmol/L detektierbar. Niedrigere Werte lagen im nicht messbaren Bereich.

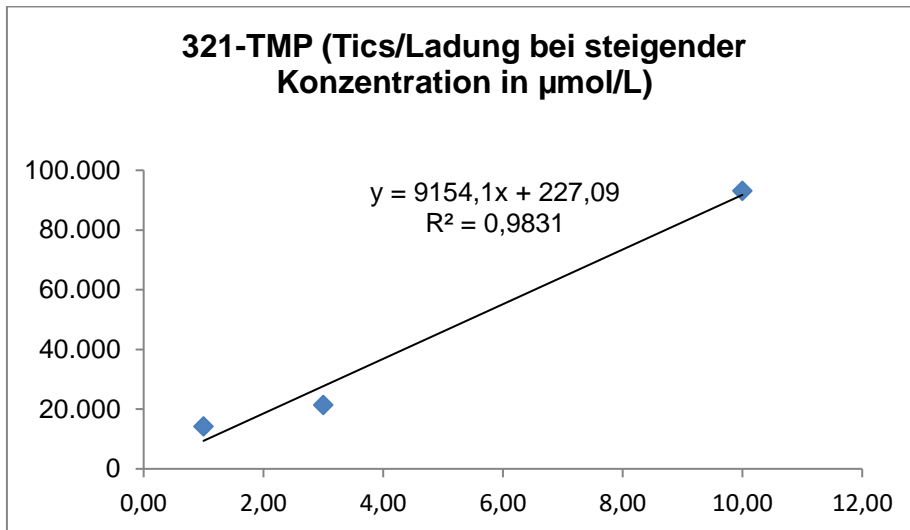


Abbildung 20: Eichkurve 321-TMP

Anhand der Eichkurven wurden die Nachweisgrenzen der Purine und Pyrimidine ermittelt. Eine Übersicht der Nachweisgrenzen und die Prozentzahl der gemessenen Konzentrationen über der Nachweisgrenze zeigt Tabelle 4 auf der folgenden Seite.

Tabelle 4: Nachweisgrenzen der gemessenen Mikronährstoffe und Prozentzahl der gemessenen Konzentrationen über der Nachweisgrenze

<b>Mikronährstoff</b>	<b>Nachweisgrenze</b>	<b>Messwerte über der Nachweisgrenze</b>
Cytosin	0,1 µmol/L	57,06 %
Uracil	1,0 µmol/L	6,54 %
Thymin	3,0 µmol/L	0,00 %
Adenin	0,1 µmol/L	5,23 %
Hypoxanthin	0,3 µmol/L	100,00 %
Guanin	0,1 µmol/L	5,03 %
Xanthin	1,0 µmol/L	46,41 %
Thymidin	0,3 µmol/L	0,65 %
Cytidin	0,03 µmol/L	72,55%
Uridin	0,3 µmol/L	100,00 %
Adenosin	0,01 µmol/L	24,80 %
Inosin	0,1 µmol/L	36,00 %
Guanosin	0,03 µmol/L	20,60 %
CMP	0,3 µmol/L	19,60 %
UMP	3,0 µmol/L	3,60 %
AMP	0,01 µmol/L	86,93 %
GMP	0,1 µmol/L	16,30 %
IMP	1,0 µmol/L	4,60 %
TMP	1,0 µmol/L	0,00 %

## 2.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung dieser Arbeit fand unter Anwendung von Microsoft Office 14 Programm Excel und anhand des Statistikprogramms JMP 13.1.0 (SAS-Institute, Cary, North Carolina) statt.

Die Normalverteilung wurde mittels Shapiro Wilk Test getestet.

Bei nicht normalverteilter Datenlage wurden Median, sowie 25. und 75.Quantile abgebildet und die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman ausgewertet.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Lagerungstest

Für den Lagerungstest wurde Nabelschnurblut von sechs Neugeborenen asserviert. Die Proben von ID 1 mussten aufgrund eines Etikettierungsfehlers ausgeschlossen werden. Die Resultate der Nabelschnurblutproben von ID 7 konnten wegen widersprüchlicher Messwerte und der Wahrscheinlichkeit des Vorliegens eines Messfehlers nicht mit einbezogen werden. Es verblieben 4 Probanden zur Auswertung. Die Ergebnisse des Lagerungstest wurden folgend für jeden Mikronährstoff einzeln und jeweils für die Lagerung bei Raumtemperatur 20 °C und im Kühlschrank bei 4 °C ausgewertet.

Gleichwertige Ergebnisse wurden in den Graphiken als ein Punkt dargestellt. Bei der geringen Anzahl an detektierbaren Konzentrationen wurde auf eine graphische Verlaufsdarstellung der Konzentrationen verzichtet. Bei 120 Minuten wurde nachträglich eine Linie eingezeichnet, die das zulässige Zeitintervall für die Zwischenlagerung bis zur Verarbeitung der Proben kennzeichnet.

### 3.1.1 Cytosin

Cytosin konnte zum postnatalen Zeitpunkt mit 0,55  $\mu\text{mol/L}$  bei ID 4 und 1,65  $\mu\text{mol/L}$  bei ID 6 nachgewiesen werden. Bei Lagerung im Kühlschrank fand sich nach 30 Minuten bei ID 4 eine Minderung der Konzentration auf 0,48  $\mu\text{mol/L}$ . Die Konzentration von ID 6 war nach 30 Minuten nicht detektierbar. Die Ergebnisse der weiteren Proben von ID 4 und der Probanden von ID 5 und ID 8 lagen unterhalb der Nachweisgrenze.

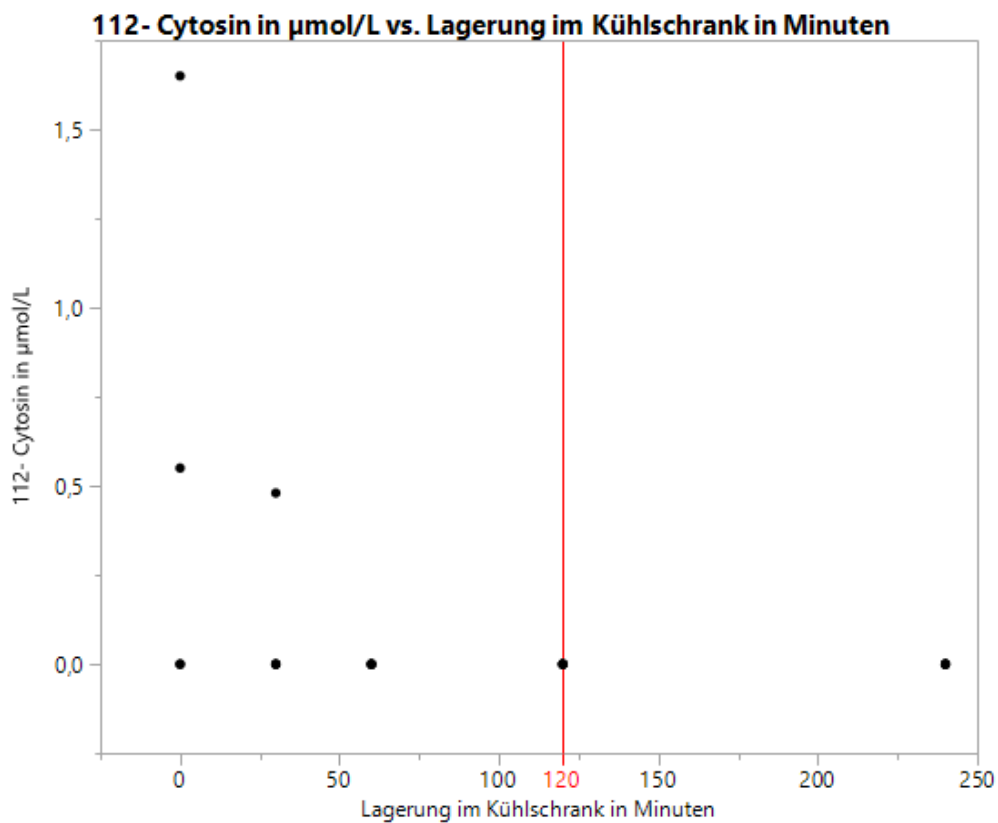


Abbildung 21: Cytosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

Bei Raumtemperatur konnte in der postnatalen Probe von ID 4 mit 0,55  $\mu\text{mol/L}$  und mit 1,65  $\mu\text{mol/L}$  bei ID 6 gemessen werden. Die weiteren Messungen ergaben Ergebnisse unterhalb der Nachweisgrenze.

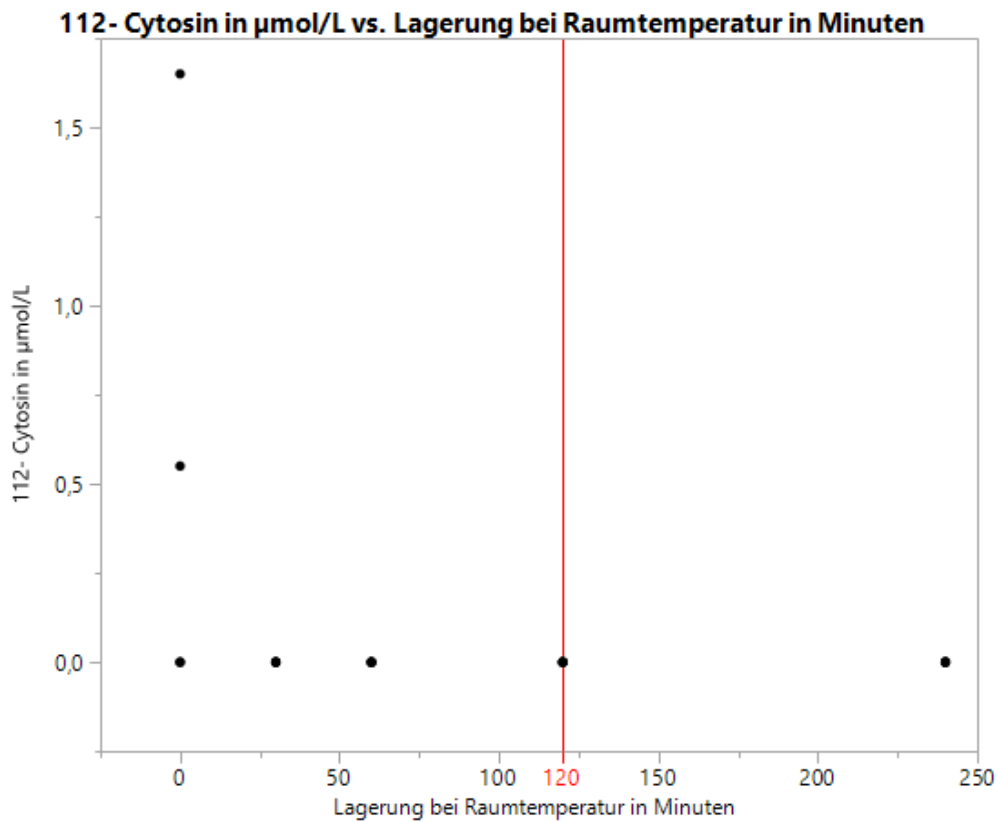


Abbildung 22: Cytosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten



### 3.1.2 Uracil

Die postnatale Konzentration von Uracil betrug bei ID 6 4,02  $\mu\text{mol/L}$ . Die Uracilkonzentrationen der anderen Probanden und der Proben im zeitlichen Verlauf lagen bei den bei Raumtemperatur und im Kühlschrank gelagerten Proben unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.1.3 Thymin

Die Konzentrationen von Thymin lagen bei Lagerung im Kühlschrank und bei Raumtemperatur sowohl postnatal als auch im zeitlichen Verlauf bei allen Probanden unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.1.4 Adenin

Die postnatale Konzentration von Adenin betrug bei ID 6 1,26  $\mu\text{mol/L}$ . Die Adeninkonzentrationen der anderen Probanden und der Proben im zeitlichen Verlauf lagen unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.1.5 Hypoxanthin

Der Median der postnatalen Hypoxanthinkonzentrationen lag bei 10,02 (6,62-13,00)  $\mu\text{mol/L}$ . Die bei 4 °C gelagerten Proben zeigten einen Anstieg der Konzentrationen im zeitlichen Verlauf. Bei 120 Minuten ergab der Median 26,08 (17,97-34,67)  $\mu\text{mol/L}$ . Nach 240 Minuten Lagerung stiegen die Konzentrationen auf einen Median von 54,34 (33,32-97,09)  $\mu\text{mol/L}$  an. Die Konzentrationen lagen im gesamten Verlauf des Lagerungstests im messbaren Bereich.

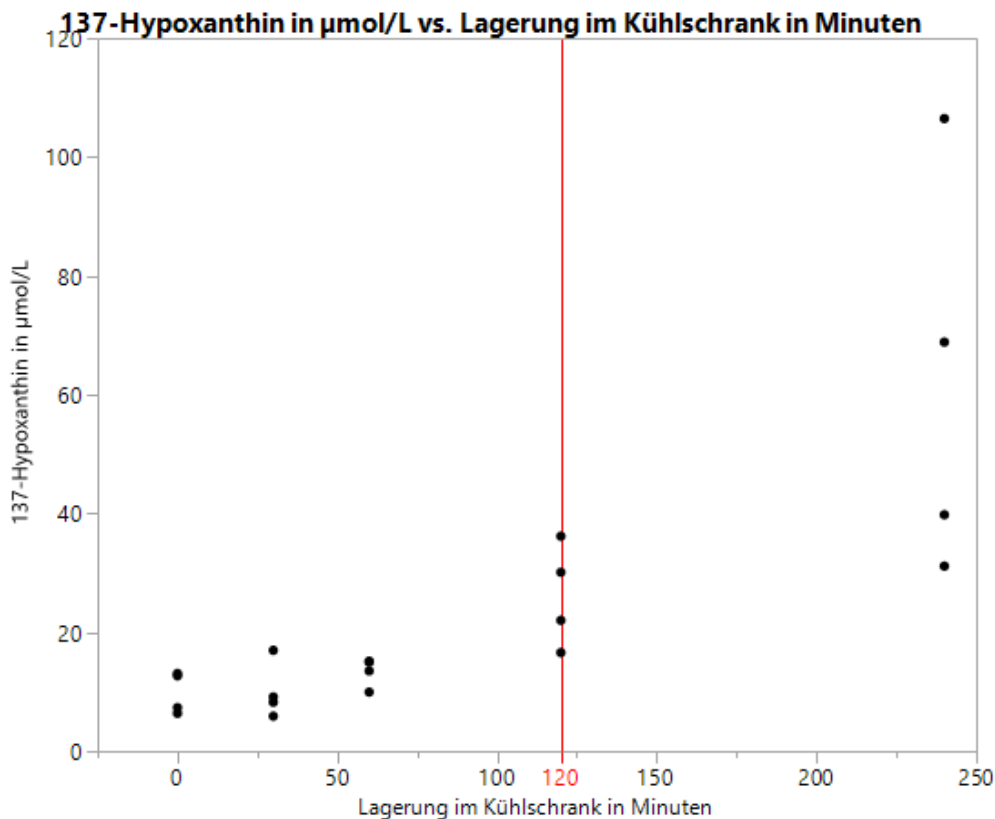


Abbildung 23: Hypoxanthinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

Die Konzentrationen von Hypoxanthin zeigen sich bei den bei Raumtemperatur gelagerten Proben im zeitlichen Verlauf steigend. Beginnend bei einem postnatalen Median von 10,02 (6,62-13)  $\mu\text{mol/L}$ , steigt der Median nach 120 Minuten auf 26,09 (16,67-38,37)  $\mu\text{mol/L}$  und nach 240 Minuten auf 43,40 (21,56-69,58)  $\mu\text{mol/L}$ . Die Konzentrationen lagen im gesamten Verlauf des Lagerungstests im messbaren Bereich.

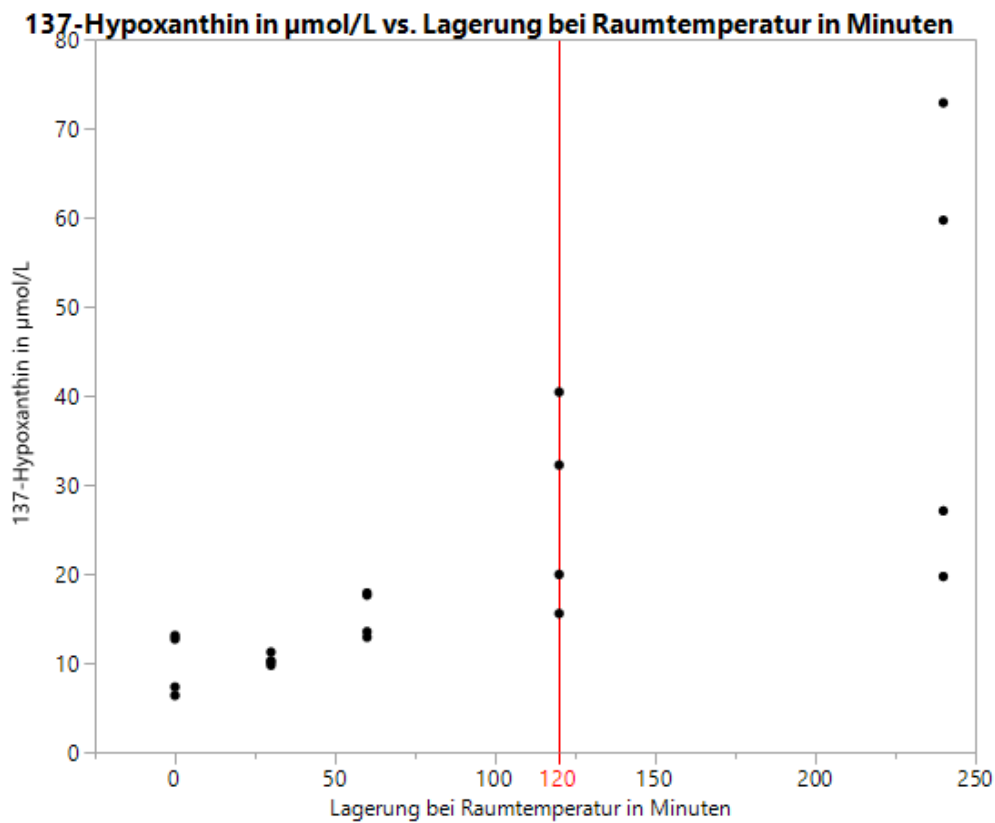


Abbildung 24: Hypoxanthinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.6 Guanin

Die postnatale Konzentration von Guanin betrug bei ID 4 1,44 µmol/L. Bei ID6 fand sich eine Konzentration von 1,34 µmol/L. Die Guaninkonzentrationen der anderen Probanden und im zeitlichen Verlauf lagen unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.1.7 Xanthin

Bei ID 4 konnte die höchste Xanthinkonzentration in der postnatalen Probe mit 3,52 µmol/L gemessen werden. Bei den bei 4 °C gekühlt gelagerten Proben lagen die Werte im zeitlichen Verlauf unterhalb der Nachweisgrenze. Bei den bei Raumtemperatur gelagerten Proben konnten bei 30 und 60 Minuten keine Konzentrationen nachgewiesen werden. Nach 120 Minuten zeigte sich eine Konzentration von 1,73 µmol/L. Nach 240 Minuten wurden 2,71 µmol/L detektiert. Bei Proband 5 lagen alle Messwerte unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze. Proband 6 zeigte eine postnatale Konzentration von 2,81 µmol/L. Bei den gekühlten Proben lagen die Werte nach 30, 60 und 240 Minuten unterhalb der Nachweisgrenze. Nach 120 Minuten befand sich der Wert bei 2,65 µmol/L. Bei Raumtemperatur konnten im zeitlichen Verlauf bei 30, 60 und 120 Minuten keine Konzentration nachgewiesen werden. Nach 240 Minuten wurde ein Wert von 2,71 µmol/L bestimmt. Die Probe von ID 8 enthielt nach 120 Minuten Lagerung bei Raumtemperatur eine Xanthinkonzentration von 2,59 µmol/L. Nach 240 Minuten stieg der Wert auf 2,88 µmol/L.

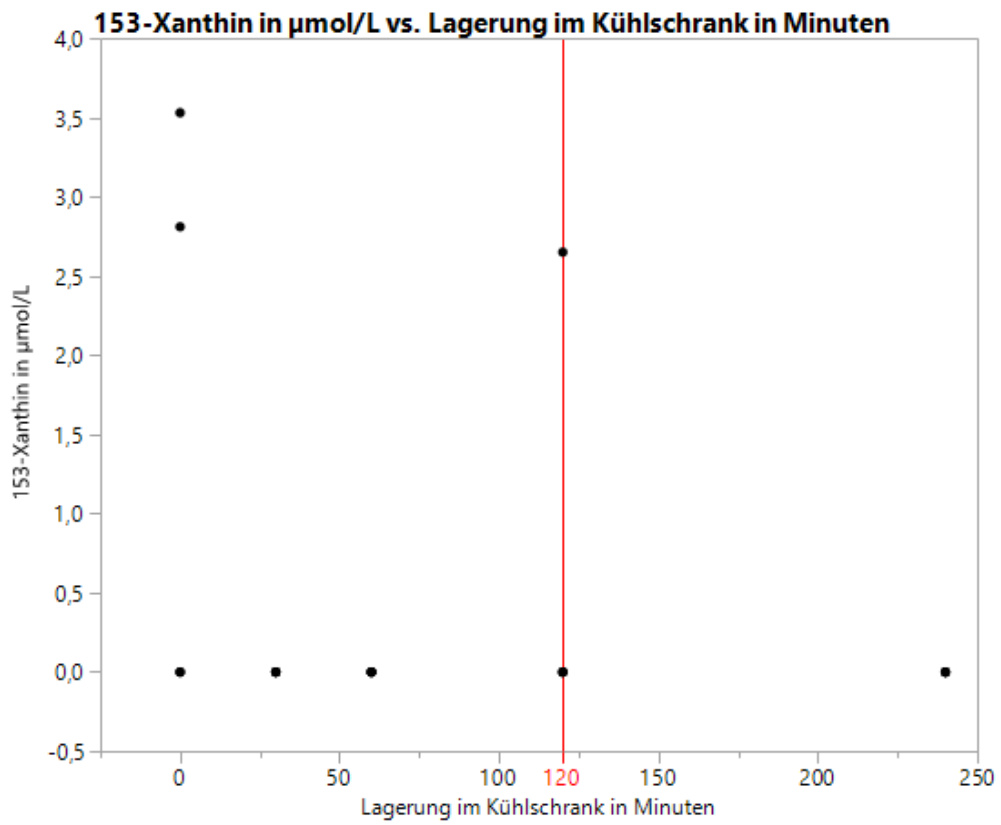


Abbildung 25: Xanthinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

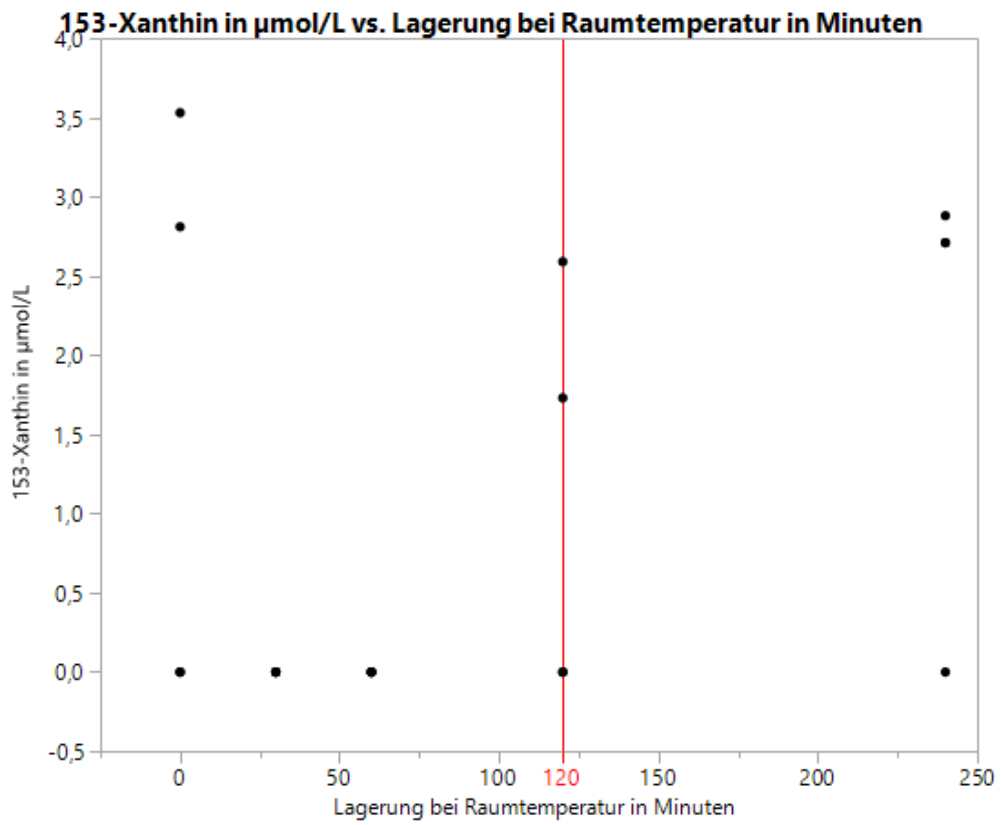


Abbildung 26: Xanthinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.8 Thymidin

Die Konzentration von Thymidin lag bei Lagerung im Kühlschrank und bei Raumtemperatur sowohl postnatal als auch im zeitlichen Verlauf bei allen Probanden unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.1.9 Cytidin

Die postnatale Konzentration der Probe von ID 4 betrug 0,54 µmol/L. Im zeitlichen Verlauf lagen die Konzentrationen bei ID 4 unterhalb der methodischen Nachweisgrenze. Bei ID 5 konnte eine postnatale Konzentration von 0,18 µmol/L nachgewiesen werden, die nach 30 Minuten gekühlter Lagerung keine Veränderung zeigte. Nach 60 Minuten stieg der Wert auf 0,19 µmol/L an. Nach 120 und 240 Minuten lagen die Konzentrationen unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze. Bei Lagerung bei Raumtemperatur befanden sich die Konzentrationen unterhalb der methodischen Nachweisgrenze.

Die postnatale Konzentration von ID 6 betrug 0,18 µmol/L. In dem Plasma der Proben von ID 6 konnten postnatal keine Werte oberhalb der Nachweisgrenze detektiert werden. Postnatal und bei der gekühlten Lagerung konnten in den Proben von ID 8 keine Konzentrationen bestimmt werden. Bei Raumtemperatur enthielt die Probe nach 30 Minuten 0,24 µmol/L Cytidin, nach 60 Minuten 0,51 µmol/L und nach 240 Minuten 0,35 µmol/L. Bei der Messung nach 120 Minuten lag der Wert unterhalb der Nachweisgrenze.

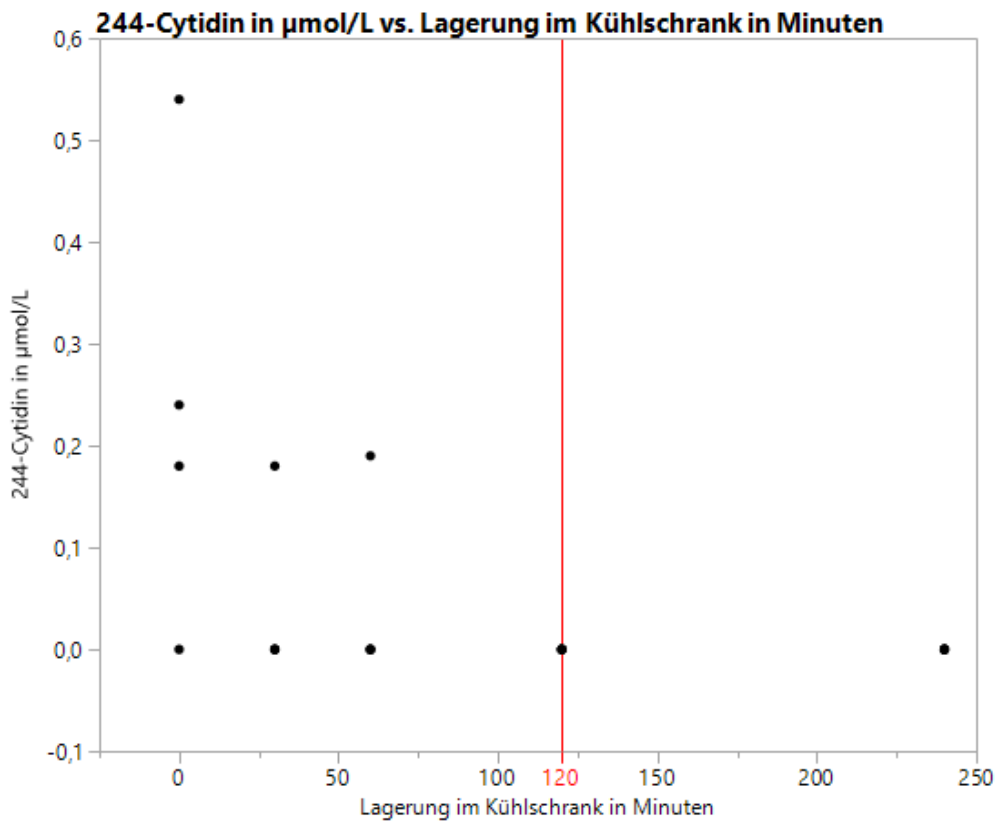


Abbildung 27: Cytidinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten



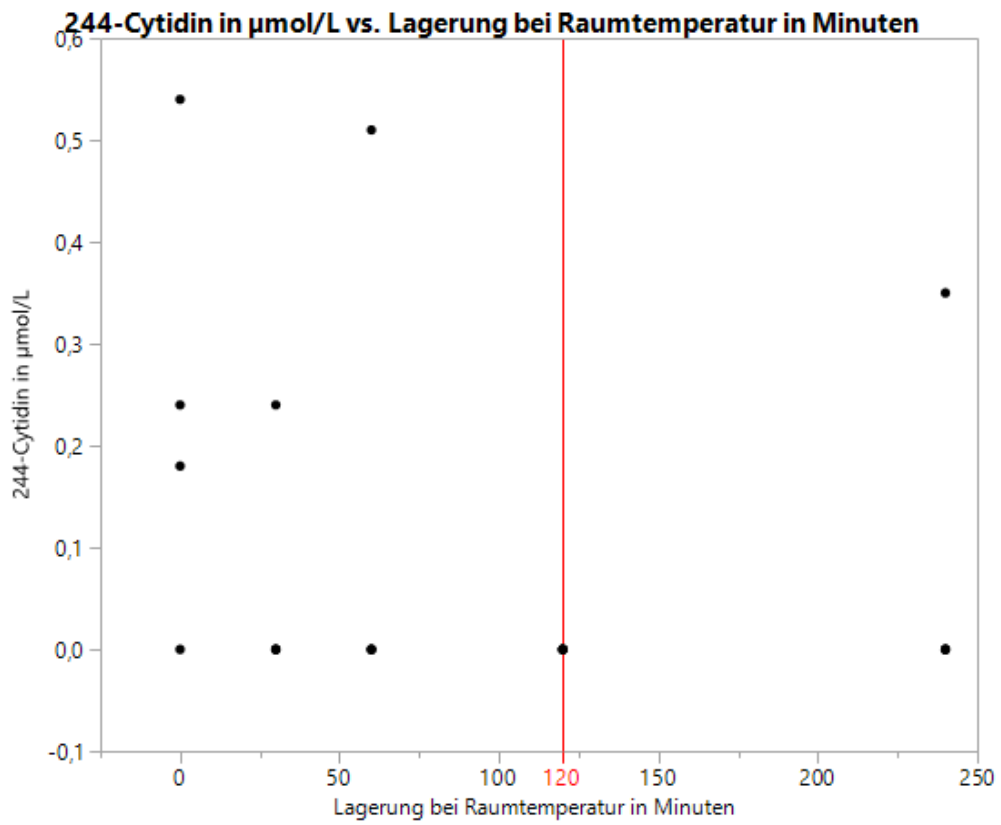


Abbildung 28: Cytidinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.10 Uridin

Die Uridinkonzentration lag bei allen Proben oberhalb der laborchemischen Nachweisgrenze. Bei Lagerung im Kühlschrank wurde ein Median von 3,28 (2,68-3,79)  $\mu\text{mol/L}$  berechnet. Das Minimum befand sich bei 2,14  $\mu\text{mol/L}$  und das Maximum bei 4,9  $\mu\text{mol/L}$ .

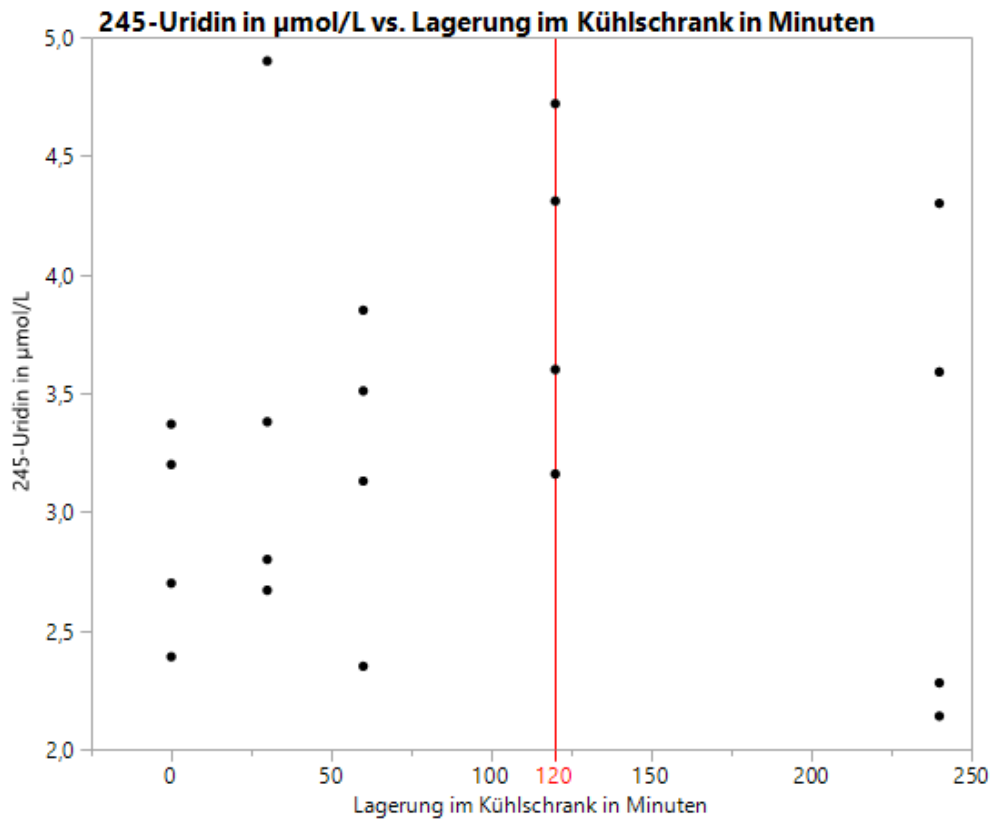


Abbildung 29: Uridinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

Die Daten der Konzentrationen von Uridin bei Lagerung bei Raumtemperatur ergaben einen Median von 3,82 (3,21-4,18)  $\mu\text{mol/L}$ . Das Minimum betrug 2,09  $\mu\text{mol/L}$  und das Maximum 7,64  $\mu\text{mol/L}$ .

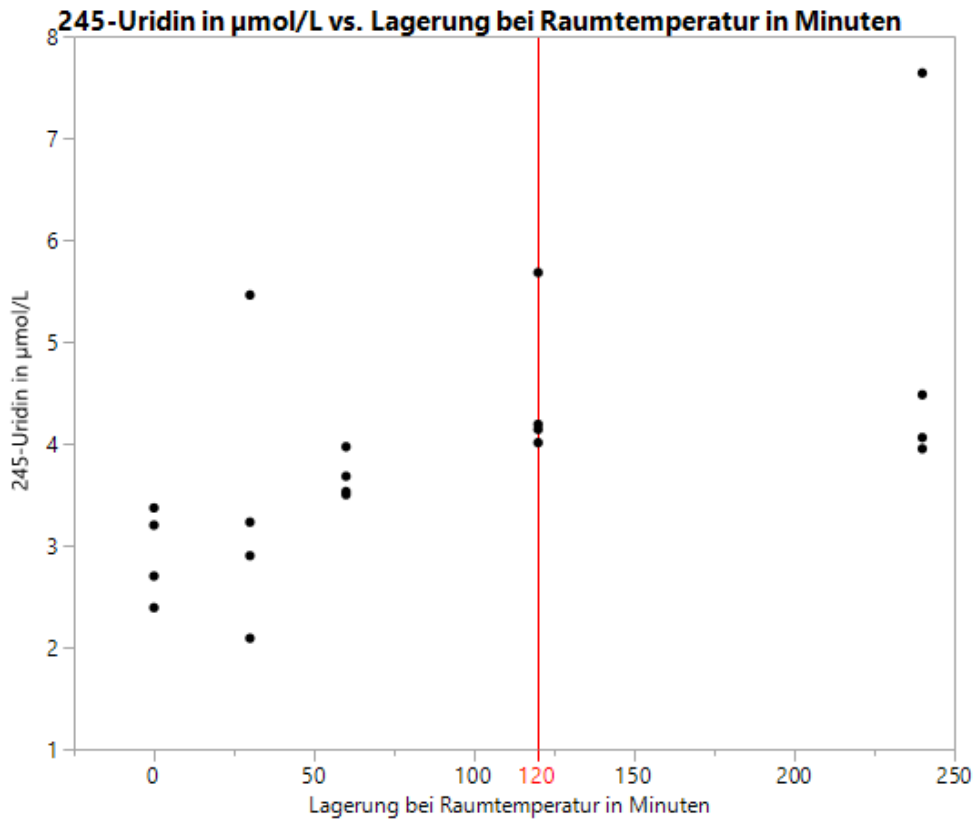


Abbildung 30: Uridinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.11 Adenosin

Die postnatale Konzentration des Probanden mit der ID 4 lag bei 0,06 µmol/L und stieg bei gekühlter Lagerung nach 30 Minuten auf 0,38 µmol/L. Bei 60 und 240 Minuten konnten keine Konzentrationen nachgewiesen werden. Nach 120 Minuten fand sich ein Ergebnis von 0,25 µmol/L. Bei Raumtemperatur konnte nach 120 Minuten eine Adenosinkonzentration von 0,01 µmol/L festgestellt werden. Die Konzentrationen in den Proben der weiteren Lagerungszeitpunkte fielen unter die laborchemische Nachweisgrenze.

ID 5 zeigte eine postnatale Konzentration von 0,30 µmol/L. Die gekühlten Proben wiesen im Verlauf Werte unterhalb der Nachweisgrenze auf. Nach 30 Minuten Lagerung bei Raumtemperatur konnte ein Wert von 1,16 µmol/L detektiert werden, im weiteren Verlauf konnten keine Werte oberhalb der Nachweisgrenze gemessen werden.

Die postnatale Adenosinkonzentration von ID 6 betrug 1,16 µmol/L. Im weiteren Verlauf sank die Konzentration unter die Nachweisgrenze. Die Konzentrationen der Proben von ID 8 lagen postnatal und im zeitlichen Verlauf unterhalb der Nachweisgrenze.

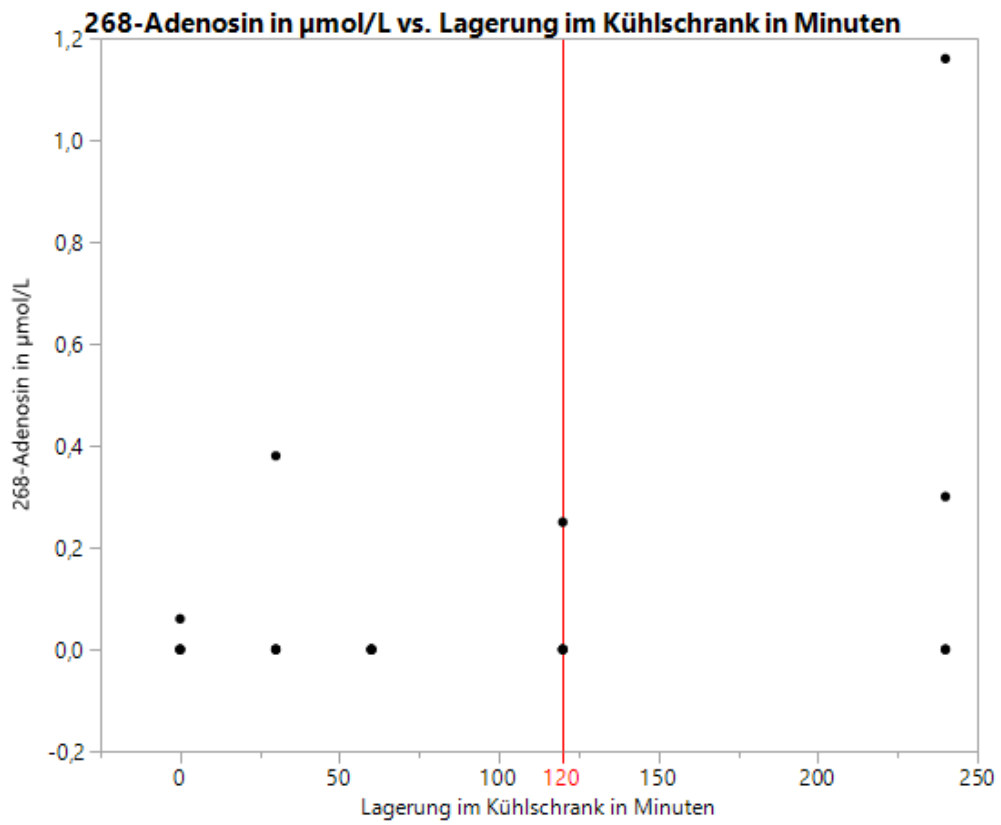


Abbildung 31: Adenosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

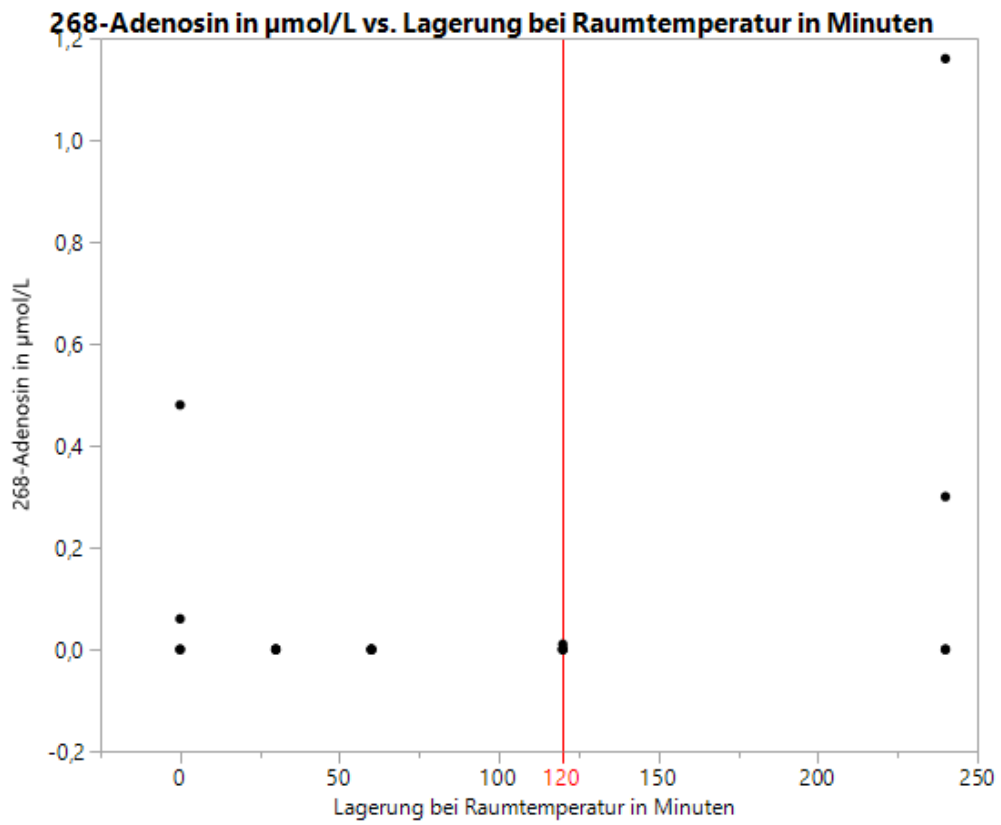


Abbildung 32: Adenosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.12 Inosin

Bei Lagerung im Kühlschrank konnte eine steigende Tendenz der Inosinkonzentrationen im Plasma bei allen Probanden beobachtet werden. Der postnatale Median erreichte eine Konzentration von 0,2 (0,0-0,9)  $\mu\text{mol/L}$ . Nach 30 Minuten Lagerung fielen alle Werte unter die Nachweisgrenze. Der Median nach 60 Minuten lag bei 0,18 (0-0,41)  $\mu\text{mol/L}$  und stieg nach 120 Minuten auf 1,99 (0,56-3,64)  $\mu\text{mol/L}$ . Nach 240 Minuten Lagerung konnte eine deutliche Steigerung der Werte auf 8,69 (1,89-18,03)  $\mu\text{mol/L}$  detektiert werden.

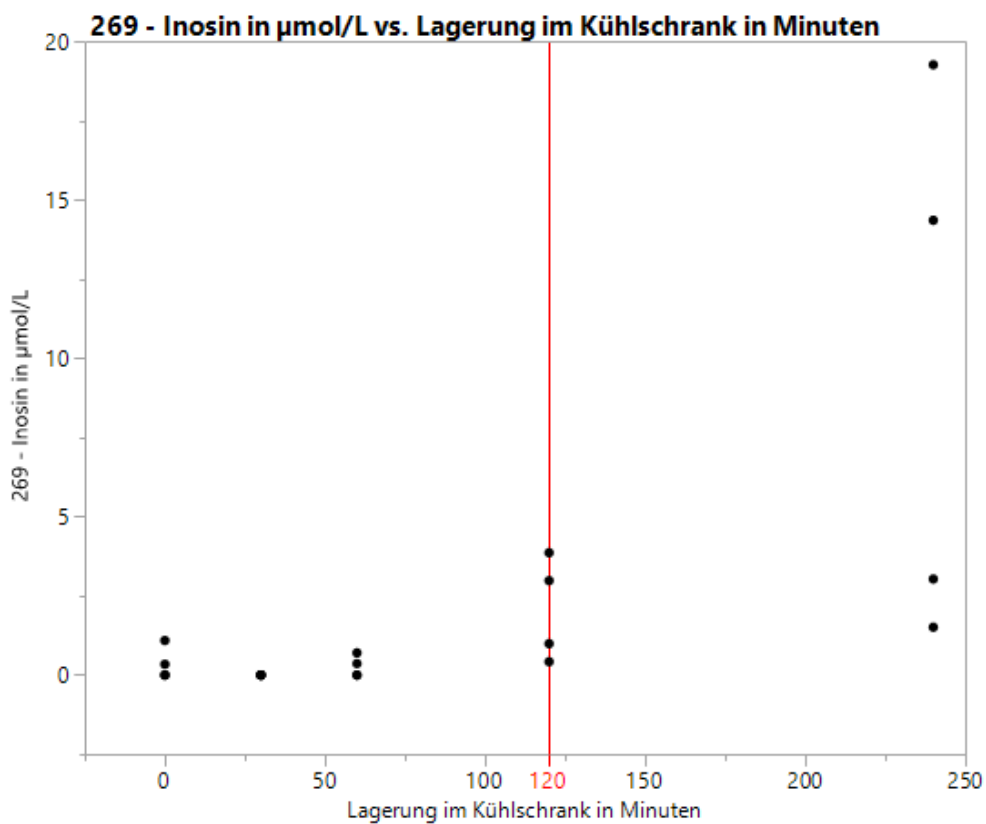


Abbildung 33: Inosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

Die Inosinkonzentrationen waren bei Lagerung bei Raumtemperatur im zeitlichen Verlauf stabil. Der postnatale Median lag bei 0,17 (0,00-0,90)  $\mu\text{mol/L}$ . Nach 30 Minuten waren laborchemisch keine Konzentrationen nachweisbar. Nach 60 Minuten ergab sich ein Median von 0,24 (0,00-0,90)  $\mu\text{mol/L}$ , nach 120 Minuten ein Wert von 2,95 (0,61-12,94)  $\mu\text{mol/L}$  und nach 240 Minuten konnten 1,95 (0,15-3,63)  $\mu\text{mol/L}$  als Median errechnet werden. Der Wert nach 120 Minuten wird dabei durch die Konzentration der Probe von ID 5 mit 16,11  $\mu\text{mol/L}$  geprägt.

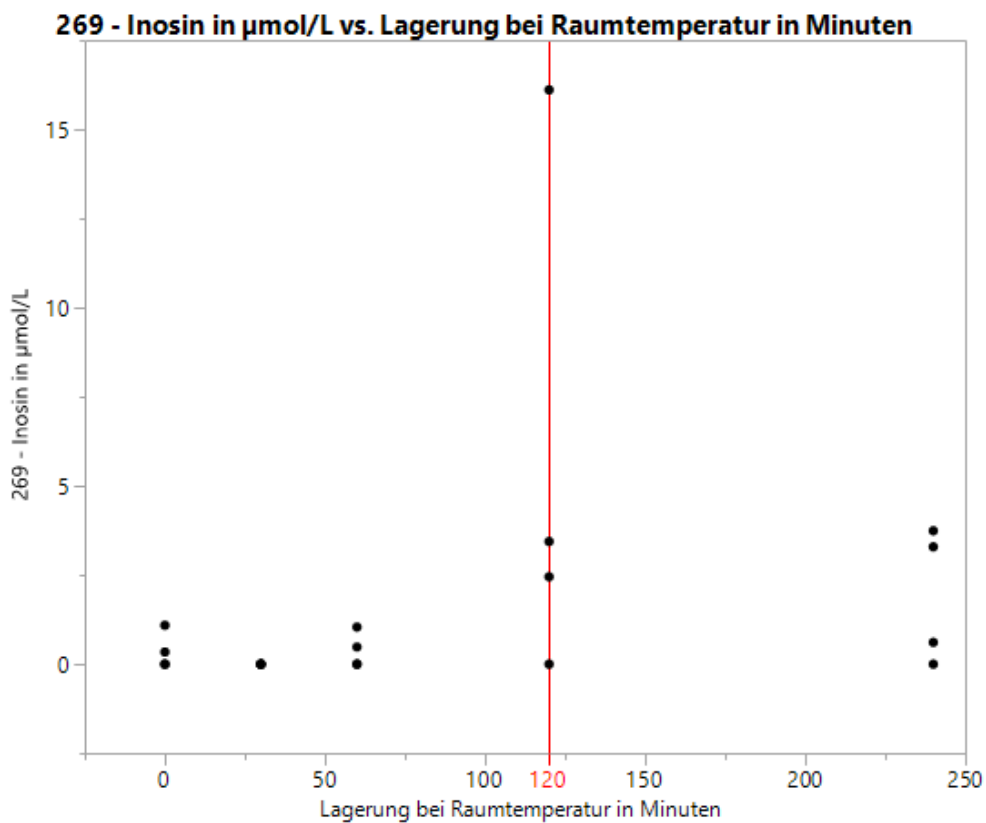


Abbildung 34: Inosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten



### 3.1.13 Guanosin

Die postnatale Guanosinkonzentration von 0,31  $\mu\text{mol/L}$  fiel bei ID 4 nach 30 Minuten Lagerung bei 4°C auf 0,21  $\mu\text{mol/L}$  und fiel bei längerer Lagerung unter die Nachweisgrenze. Die postnatale Konzentration bei ID5 von 0,17  $\mu\text{mol/L}$  stieg nach 30 Minuten Lagerung bei 20°C auf 0,24  $\mu\text{mol/L}$  und fiel anschließend unter die Nachweisgrenze. Bei den Proben von ID 6 konnte eine postnatale Konzentration von 0,44  $\mu\text{mol/L}$  gemessen werden. Die weiteren Proben fielen unter die Nachweisgrenze. Die Guanosinkonzentrationen in den Proben von ID 8 lagen postnatal und im zeitlichen Verlauf unter der Nachweisgrenze.

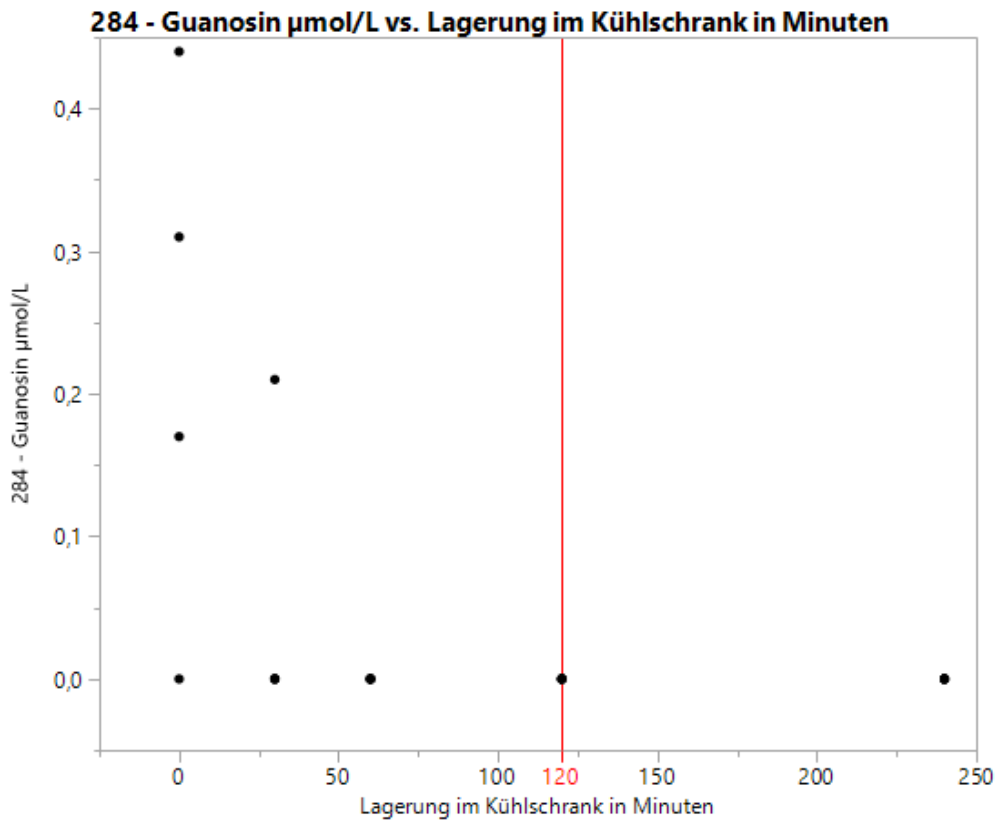


Abbildung 35: Guanosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

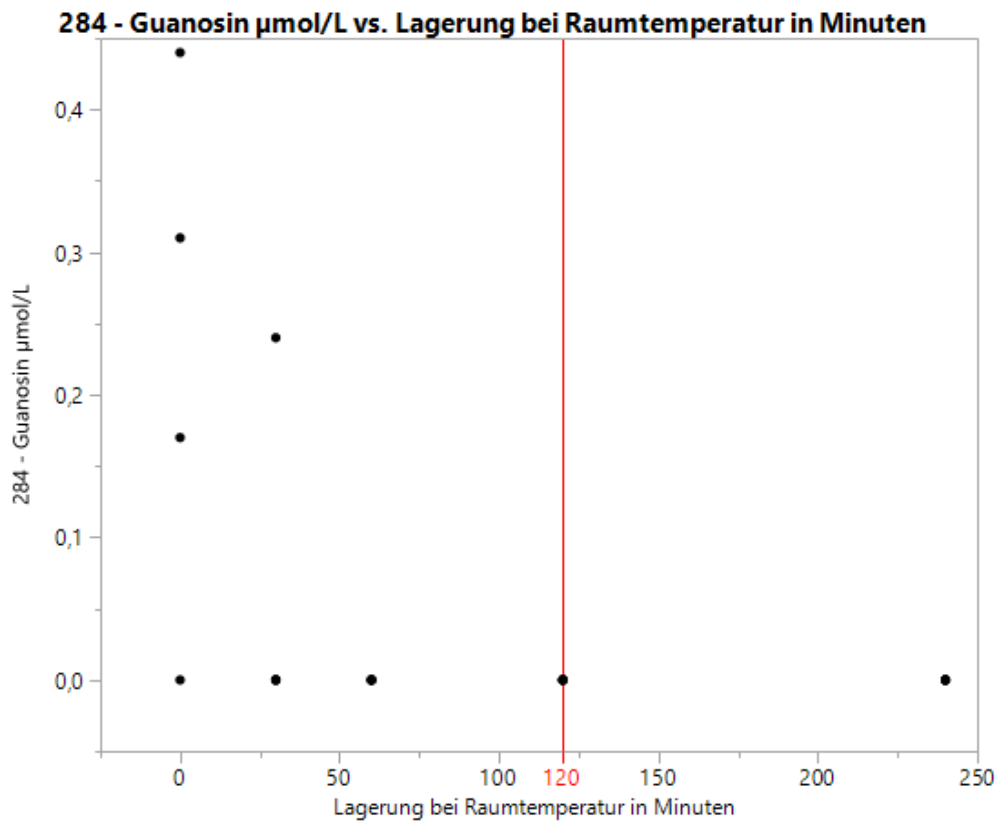


Abbildung 36: Guanosinkonzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.14 CMP

ID4 zeigte bei gekühlter Lagerung einen Median von 0,29 (0,13-0,37)  $\mu\text{mol/L}$ . Bei Lagerung bei Raumtemperatur lagen die Werte, bis auf die Konzentration von 0,33  $\mu\text{mol/L}$  nach 120 Minuten, unterhalb der Nachweisgrenze. Nach 240 Minuten gekühlter Lagerung konnte bei ID 5 eine Konzentration von 0,24  $\mu\text{mol/L}$  detektiert werden. Die weiteren Werte lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Bei ungekühlter Lagerung konnte bei ID 5 nach 30 Minuten ein Wert von 0,39  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet werden. Die weiteren Werte lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Die postnatale CMP-Konzentration von ID 6 lag bei 0,09  $\mu\text{mol/L}$ . Im zeitlichen Verlauf konnten für beide Lagerungsmethoden keine Werte oberhalb der Nachweisgrenze detektiert werden. Bei ID 8 lagen bis auf die Konzentration von 0,03  $\mu\text{mol/L}$  bei 30 Minuten Lagerung bei 20 °C alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze.

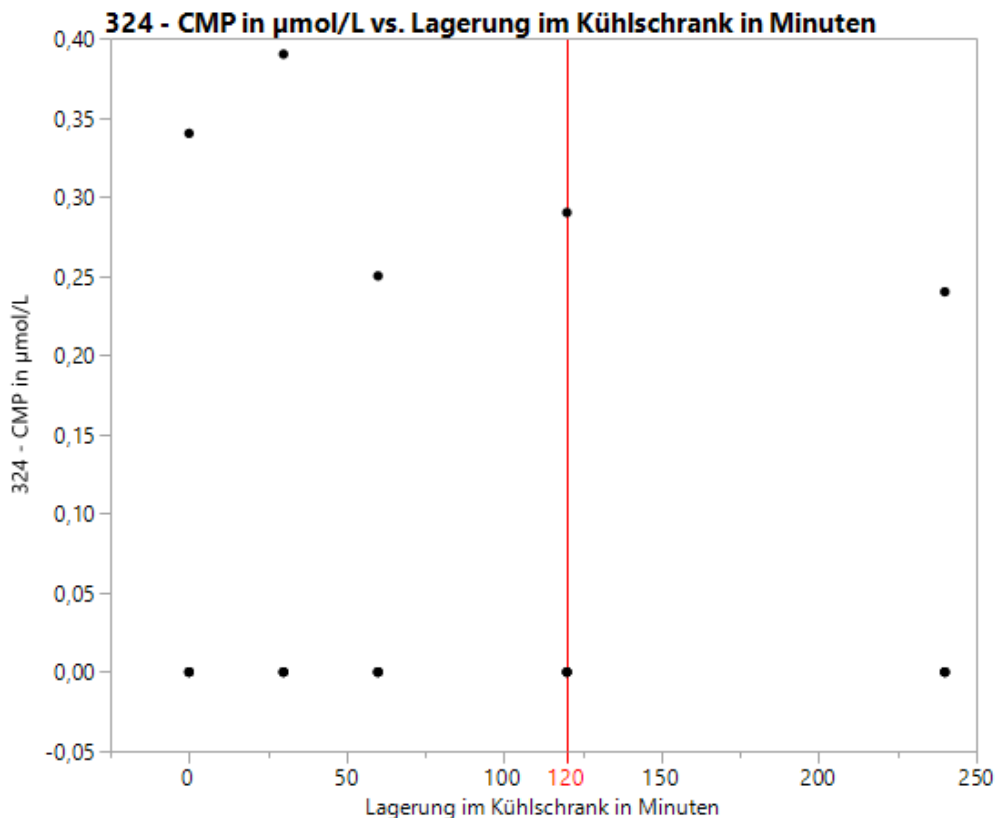


Abbildung 37: CMP-Konzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4°C in Minuten

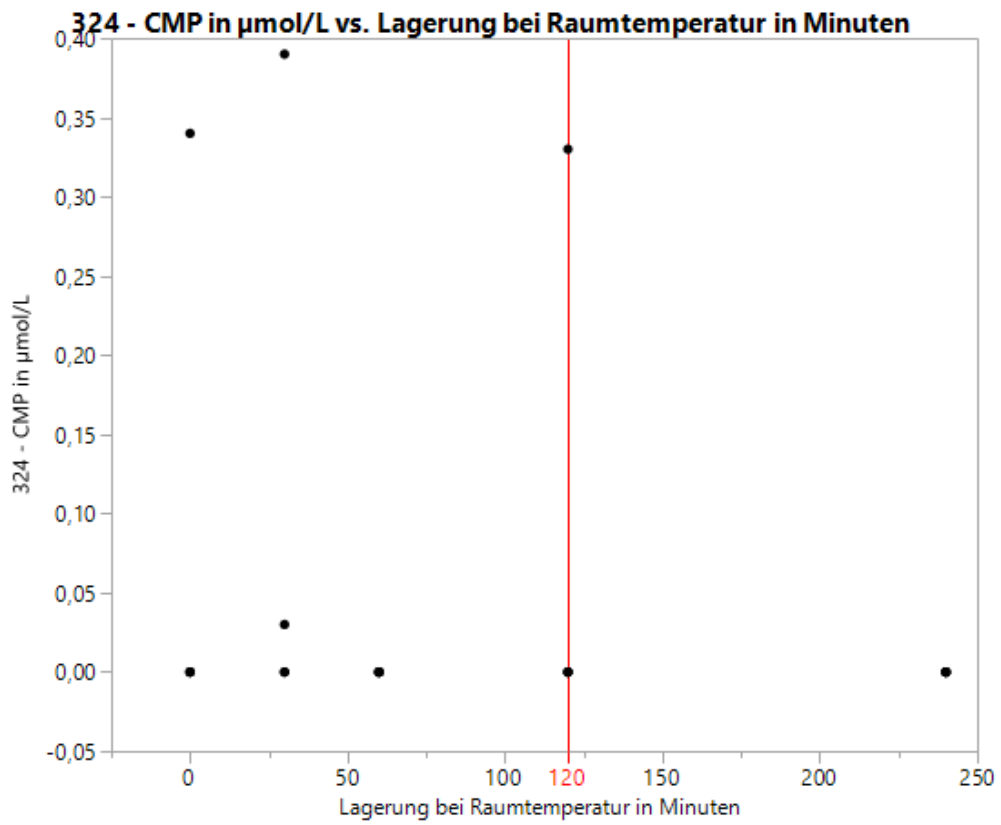


Abbildung 38: CMP-Konzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.15 UMP

Die Konzentration von UMP lag bei Lagerung im Kühlschrank und bei Raumtemperatur sowohl postnatal als auch im zeitlichen Verlauf bei allen Probanden unterhalb Nachweisgrenze.

### 3.1.16 AMP

Die bei 4°C gelagerten Proben zeigten einen Median von 0,49 (0,29-0,89) µmol/L mit einem Interquartilsabstand von 0,59 µmol/L. Das Minimum betrug 0,25 µmol/L und das Maximum 1,70 µmol/L. Im zeitlichen Verlauf zeigten die Werte keinen signifikanten An- oder Abstieg.

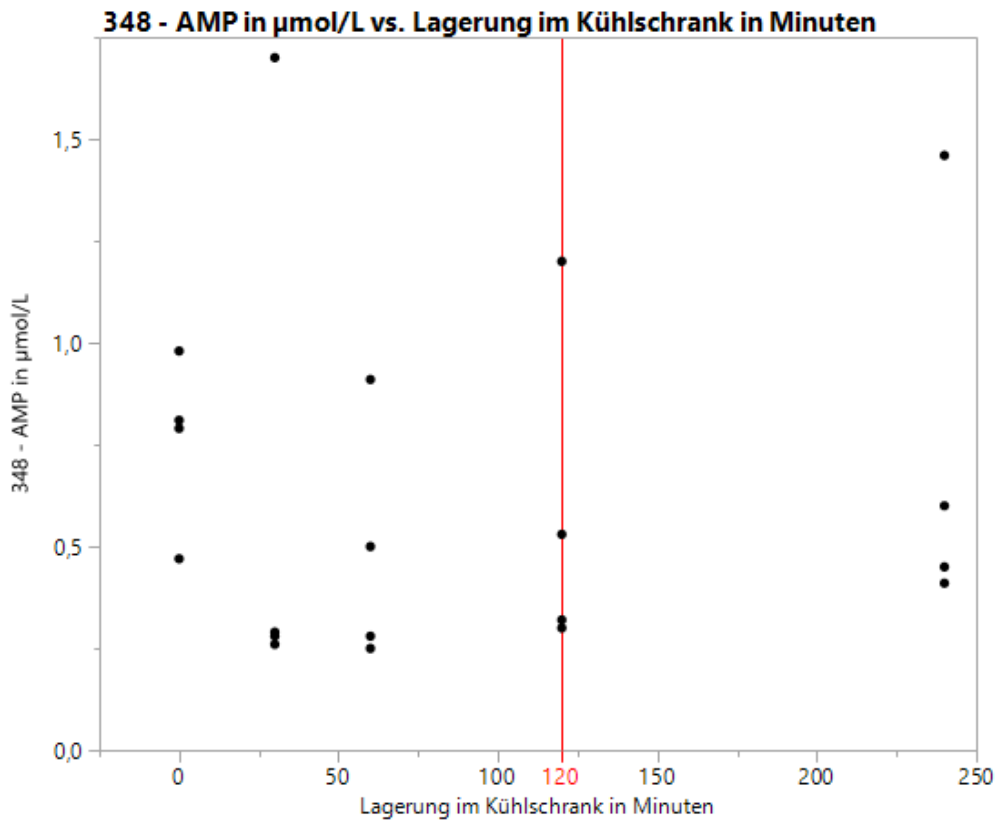


Abbildung 39: AMP-Konzentration in µmol/l bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

Der Median der bei Raumtemperatur gelagerten Proben lag bei 0,60 (0,38-0,89)  $\mu\text{mol/L}$ . Das Minimum wurde mit 0,24  $\mu\text{mol/L}$  registriert und das Maximum wurde bei 1,70  $\mu\text{mol/L}$  gemessen. Im zeitlichen Verlauf zeigte sich kein signifikanter An- oder Abstieg der Konzentrationen.

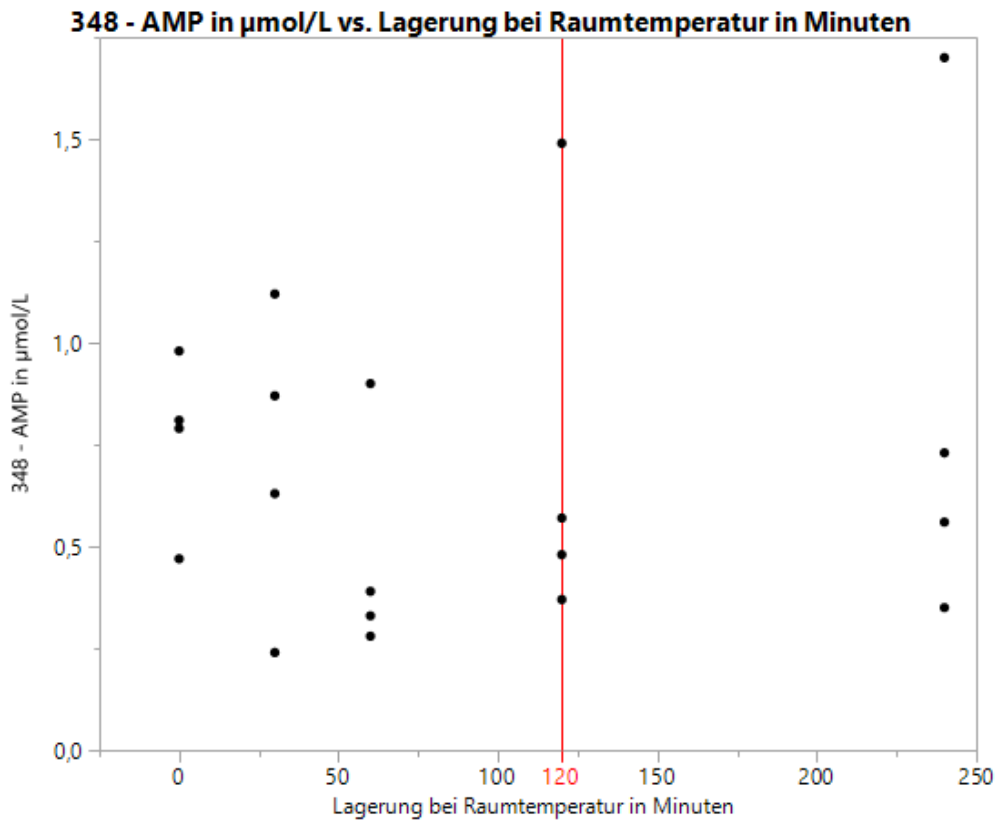


Abbildung 40: AMP-Konzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten

### 3.1.17 GMP

Bei den Proben von ID 4 war ein Median von 0,33 (0,00-0,44)  $\mu\text{mol/L}$  zu beobachten. ID 5 wies einen Median von 0,00 (0,00-0,33)  $\mu\text{mol/L}$  auf. Die höchste Konzentration lag bei beiden Probanden bei 0,49  $\mu\text{mol/L}$ .

Die GMP-Konzentrationen bei ID 6 und ID 8 zeigten postnatal und im zeitlichen Verlauf Werte unterhalb der Nachweisgrenze.

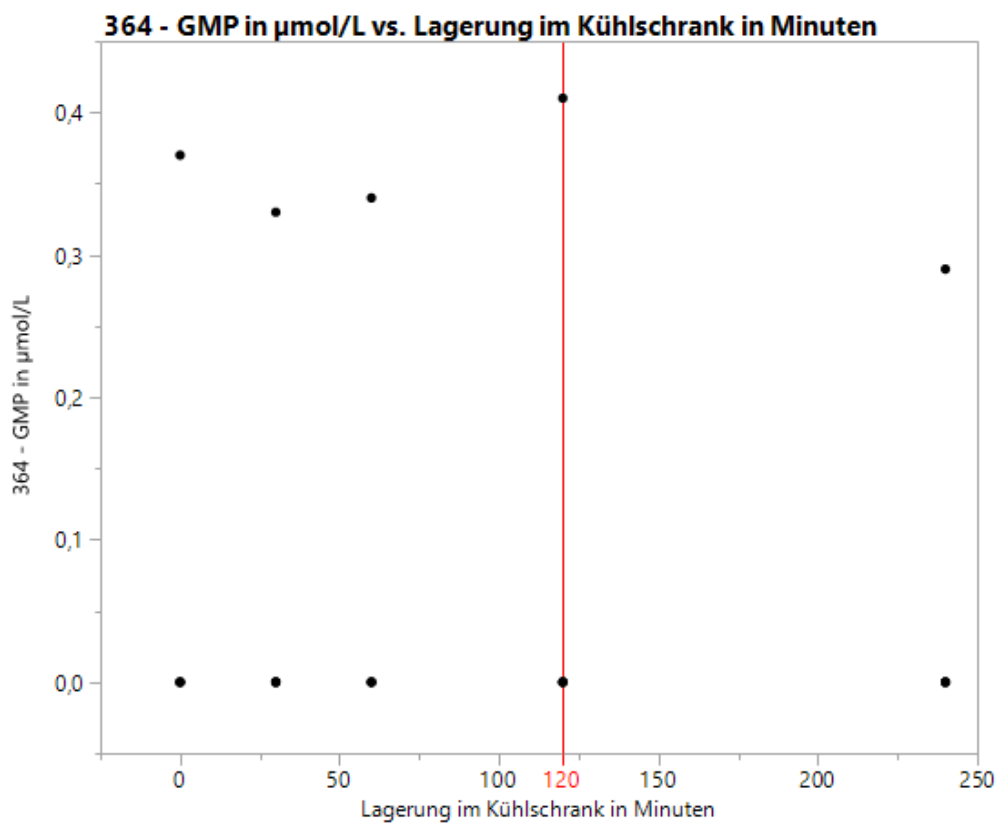


Abbildung 41: GMP-Konzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 4 °C in Minuten

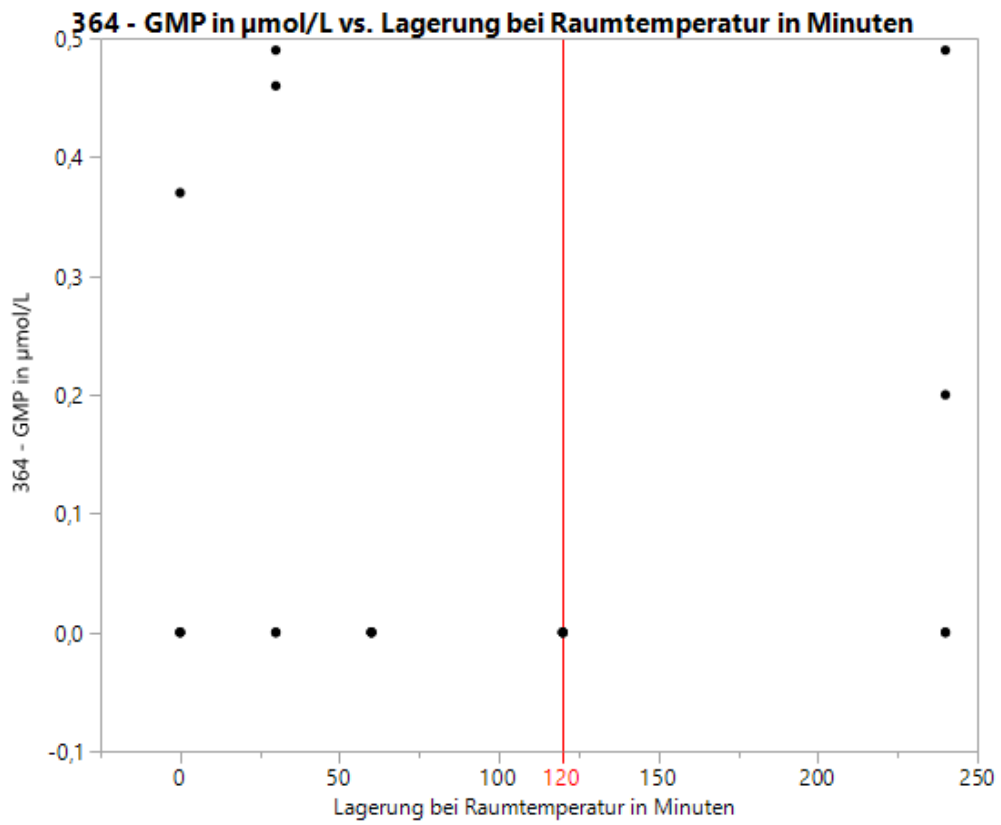


Abbildung 42: GMP-Konzentration in  $\mu\text{mol/l}$  bei Lagerung bei 20 °C in Minuten



### 3.1.18 IMP

Die Konzentration von IMP lag bei Lagerung im Kühlschrank und bei Raumtemperatur sowohl postnatal als auch im zeitlichen Verlauf bei allen Probanden unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.1.19 TMP

Die Konzentration von TMP lag bei Lagerung im Kühlschrank und bei Raumtemperatur sowohl postnatal als auch im zeitlichen Verlauf bei allen Probanden unterhalb der Nachweisgrenze.

### 3.1.20 Zusammenfassung

Zusammenfassend konnten bei den Mikronährstoffen Thymin, Thymidin, UMP, IMP und TMP ausschließlich unter der Nachweisgrenze liegende Konzentrationen ermittelt werden. Im zeitlichen Verlauf konnten kein Anstieg und keine Werte oberhalb der Nachweisgrenze nachgewiesen werden.

Die Konzentrationen von Cytosin, Uracil, Adenin, Guanin, Xanthin, Cytidin, Adenosin, Guanosin, CMP und GMP zeigten im Verlauf überwiegend Werte unterhalb der Nachweisgrenze. Die gemessenen Konzentrationen lagen maximal bei 4,02  $\mu\text{mol/L}$ . Bei Cytidin, Adenosin, Guanosin, CMP und GMP lagen alle messbaren Werte unterhalb einer Konzentration von 1,16  $\mu\text{mol/L}$ .

Bei den Konzentrationen von Hypoxanthin und Inosin konnte im zeitlichen Verlauf ein Anstieg, insbesondere nach 240 Minuten Lagerung, erfasst werden.

Die Uridinkonzentration zeigte sich bei allen Probanden im gesamten zeitlichen Verlauf stabil mit einem Mittelwert von 3,61  $\mu\text{mol/L}$  und einer Standardabweichung von 1,08  $\mu\text{mol/L}$ .

Im zeitlichen Verlauf konnten keine signifikanten Anstiege oder Abfälle der Konzentrationen von AMP weder bei Lagerung bei 4 °C noch bei 20 °C beobachtet werden. Aufgrund der Ergebnisse des Lagerungstests wurden die maximale Bearbeitungszeit der Proben bis zum Einfrieren bei -40 °C für den Einschluss dieser Studie auf maximal 120 Minuten festgelegt. Diese Einschlussgrenze ist in den Graphiken mit einer senkrechten roten Linie gekennzeichnet.

## 3.2 Untersuchungen im Nabelschnurblut

### 3.2.1 Studienpopulation

Bei 173 Kindern gelang es Nabelschnurblut zu gewinnen. 11 Proben konnten aufgrund von mangelnder Einverständniserklärung der Eltern nicht in die Studie eingeschlossen werden und wurden verworfen. Die Hauptursache für die mangelnde Zustimmung der Eltern waren der Gesundheitszustand des Kindes oder bereits andere laufende Studien. Dies entspricht einer Ablehnungsrate von 5,2 %. Bei 9 Probanden konnte der Zeitraum von 120 Minuten bis zur Verarbeitung der Blutprobe sowie anschließender Asservierung bei -40 °C nicht eingehalten werden und führte daher zum Ausschluss aus der Studie.

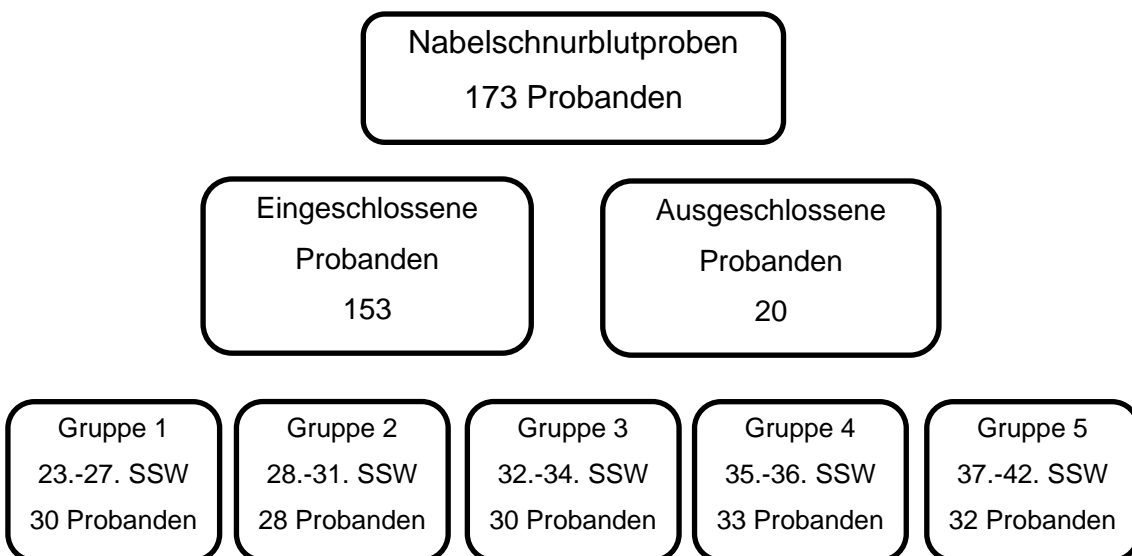


Abbildung 43: Aufteilung der Studiengruppe anhand der Schwangerschaftswochen

### Beschreibung der demographischen Variablen

Die Geschlechtsverteilung war in und unter den Gruppen gleichmäßig verteilt. Insgesamt konnten 78 männliche und 75 weibliche Probanden eingeschlossen werden. Tabelle 5 zeigt die Geschlechtsverteilung in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Geburt.

Tabelle 5: Geschlechtsverteilung in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Geburt

Geschlecht	Gestationsalter bei Geburt in Wochen									
	23-27		28-31		32-34		35-36		37-42	
	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N
männlich	53,33 %	16	53,57 %	15	53,33 %	15	45,45 %	15	50,00 %	16
weiblich	46,67 %	14	46,43 %	13	46,67 %	14	54,55 %	18	50,00 %	16

N=Absolute Anzahl

Die Gewichtsverteilung innerhalb der Gruppen war nach Ergebnissen des Shapiro-Wilk-Test normalverteilt. Die Gewichtsverteilung der Studiengruppen zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Gewichtsverteilung innerhalb der Studiengruppen

		Gestationsalter bei Geburt in Wochen				
		23-27	28-31	32-34	35-36	37-42
Gewicht in g	Minimum	345	810	960	1720	2250
	Maximum	1210	2060	3460	3000	4360
	Mittelwert	738	1317	1996	2429	3300
	Standardabweichung	198	309	584	318	472

Die jüngste Mutter in der Studie war 19 Jahre alt. Die älteste Mutter hatte ein Alter von 42 Jahren. Tabelle 7 zeigt die Altersverteilung der Mütter bei der Geburt.

Tabelle 7: Mütterliche Altersverteilung innerhalb der Studiengruppen

		<b>Gestationsalter bei Geburt in Wochen</b>				
		23-27	28-31	32-34	35-36	37-42
<b>Alter der Mütter in Jahren</b>	Median	32	33	33	31	29,5
	25. Quantile	28,25	29,5	29	28	27,25
	75. Quantile	34	35	36,25	35	35,5
	Minimum	19	22	23	21	22
	Maximum	37	41	39	42	41

Geburtsmodus:

In allen Studiengruppen konnte ein erhöhter Anteil an Entbindungen per Kaiserschnitt beobachtet werden. Die Rate an Sektionen stieg dabei mit sinkendem Schwangerschaftsalter an. Tabelle 8 zeigt die Verteilung des Geburtsmodus in Abhängigkeit des Gestationsalters bei Geburt.

Tabelle 8: Geburtsmodi innerhalb der Studiengruppen (N=Anzahl)

	<b>Gestationsalter bei Geburt in Wochen</b>									
	23-27		28-31		32-34		35-36		37-42	
<b>Geburtsmodus</b>	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N
Vaginale Entbindung	13,33 %	4	7,14 %	2	10,00 %	3	18,18 %	6	34,38 %	11
Sectio	86,67 %	26	92,86 %	26	90,00 %	27	81,82 %	27	65,63 %	21

N=Absolute Anzahl

Gründe für die vorzeitige Entbindung:

Bei den Gründen für eine vorzeitige Entbindung waren Mehrfachnennungen möglich. Die häufigsten Ursachen waren eine unhemmbare Wehentätigkeit, eine Wachstumsretardierung oder ein pathologisches CTG. Tabelle 9 zeigt die genannten Gründe in absteigender Häufigkeit.

Tabelle 9: Gründe für die vorzeitige Entbindung innerhalb der Studiengruppen mit quantitativen Vorkommen in absteigender Reihenfolge

	Gestationsalter bei Geburt in Wochen					
	23-27	28-31	32-34	35-36	37-42	∑
unhemmbare Wehentätigkeit	10	11	8	7	0	36
Wachstumsretardierung/ pathologischer Doppler	9	7	5	3	0	24
pathologisches CTG	5	9	4	1	2	21
Blasensprung > 5 Tage	7	5	2	0	0	14
Amnioninfektionssyndrom	7	4	1	0	0	12
Präeklampsie	2	1	2	1	0	6
Lage-/ Einstellungsanomalie	1	0	0	5	0	6
maternale Grunderkrankung	0	0	1	1	4	6
Erkrankung Geschwisterkind	3	1	0	1	0	5
HELLP	1	0	4	0	0	5
Plazentainsuffizienz	1	3	1	0	0	5
Zervixinsuffizienz	1	2	2	0	0	5
Placenta prävia	1	0	2	0	0	3
Plazentalösung	0	0	1	2	0	3
Zentralisierung	0	0	2	1	0	3
vaginale Blutung	0	0	2	0	0	2
Insertio velementosa	0	0	1	0	0	1
Fehlbildungen	0	1	0	0	0	1
Omphalozele	0	0	0	1	0	1
vollständige Muttermundseröffnung	1	0	0	0	0	1

Kortikoidtherapie:

Die Frühgeborenen von 23 - 31 SSW haben fast zu 100% eine Lungenreifeinduktion erhalten. Mit steigendem Gestationsalter nahmen die Durchführungen der Steroidtherapien ab. Tabelle 10 zeigt die durchgeführten Steroidtherapien in Abhängigkeit vom Gestationsalter.

Tabelle 10: Durchgeführte Kortikosteroidtherapie innerhalb der Studiengruppen

Pränatale Steroidtherapie	Gestationsalter bei Geburt in Wochen									
	23-27		28-31		32-34		35-36		37-42	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
ja	29	96,67%	26	96,30%	17	56,67%	6	18,18%	0	0,00%
nein	1	3,33%	1	3,70%	13	43,33%	27	81,82%	32	100,00%

N= Anzahl

### 3.2.2 Cytosin

Die Cytosinkonzentrationen in den Nabelschnurblutkonzentraten waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 53 % der Messwerte lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Der Median der Gruppe mit Frühgeborenen von 23.-27. SSW lag bei 0,34 (0,00-0,76)  $\mu\text{mol/L}$ . In der Gruppe mit Frühgeborenen zwischen der 28.-31. SSW befand sich der Median bei 0,50 (0,00-0,64)  $\mu\text{mol/L}$ . Die Mediane der weiteren Studiengruppen lagen im nichtnachweisbaren Konzentrationsbereich. Die Werte von ID90 mit 3,45  $\mu\text{mol/L}$ , von ID140 mit 3,13  $\mu\text{mol/L}$  und ID148 mit 1,37  $\mu\text{mol/L}$  liegen oberhalb der 97,5 % Quantile und wurden als Ausreißer betrachtet. Die Cytosinkonzentration im Nabelschnurblut korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,38$ , p-Wert  $<0,0001$ .

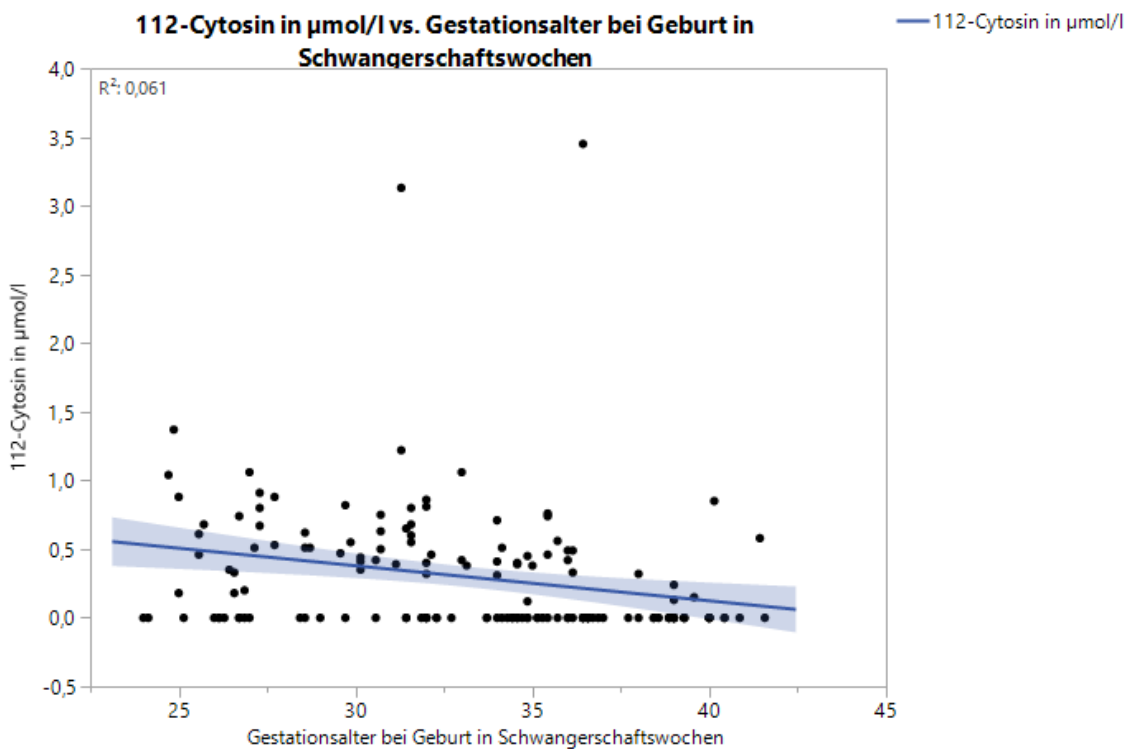


Abbildung 44: Cytosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters



### 3.2.3 Uracil

Die Uracilkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. Bis auf zehn messbare Konzentrationen befanden sich die Werte unterhalb der Nachweisgrenze. Der Median lag bei allen fünf Gestationsgruppen bei 0,00 (0,00-0,00)  $\mu\text{mol/L}$ . Der höchste Wert wurde bei ID153 mit 125,38  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 146 = 27,99  $\mu\text{mol/L}$ , ID 153 = 18,92  $\mu\text{mol/L}$ , ID 173 = 125,38  $\mu\text{mol/L}$ . Die Uracilkonzentration im Nabelschnurblut korrelierte rechnerisch signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,27$ , p-Wert  $<0,0007$ . Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl von Messwerten über der Nachweisgrenze begrenzt.

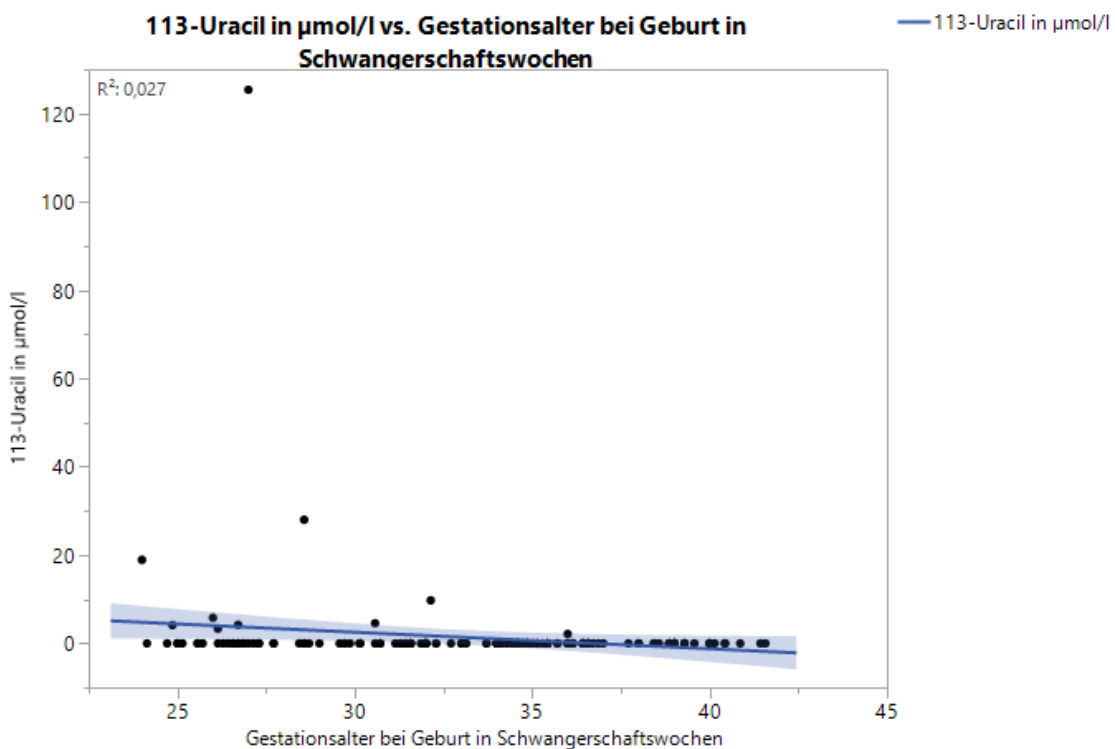


Abbildung 45:Uracilkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.4 Thymin

Die Thyminkonzentration lag bei allen Probanden und in allen Studiengruppen unterhalb der methodischen, laborchemischen Nachweisgrenze. Die Berechnung eines Rangkoeffizienten nach Spearman war nicht möglich.

### 3.2.5 Adenin

Die Adeninkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. Bis auf acht messbare Konzentrationen befanden sich die Werte unterhalb der Nachweisgrenze. Der Median lag bei allen fünf Gestationsgruppen bei 0,0 (0-0)  $\mu\text{mol/L}$ . Der höchste Wert wurde bei ID 77 mit 1,23  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 65 = 0,53  $\mu\text{mol/L}$ , ID 66 = 0,49  $\mu\text{mol/L}$ , ID 77 = 1,23  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Adeninkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,18$ , p-Wert 0,029. Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl von Messwerten über der Nachweisgrenze begrenzt.

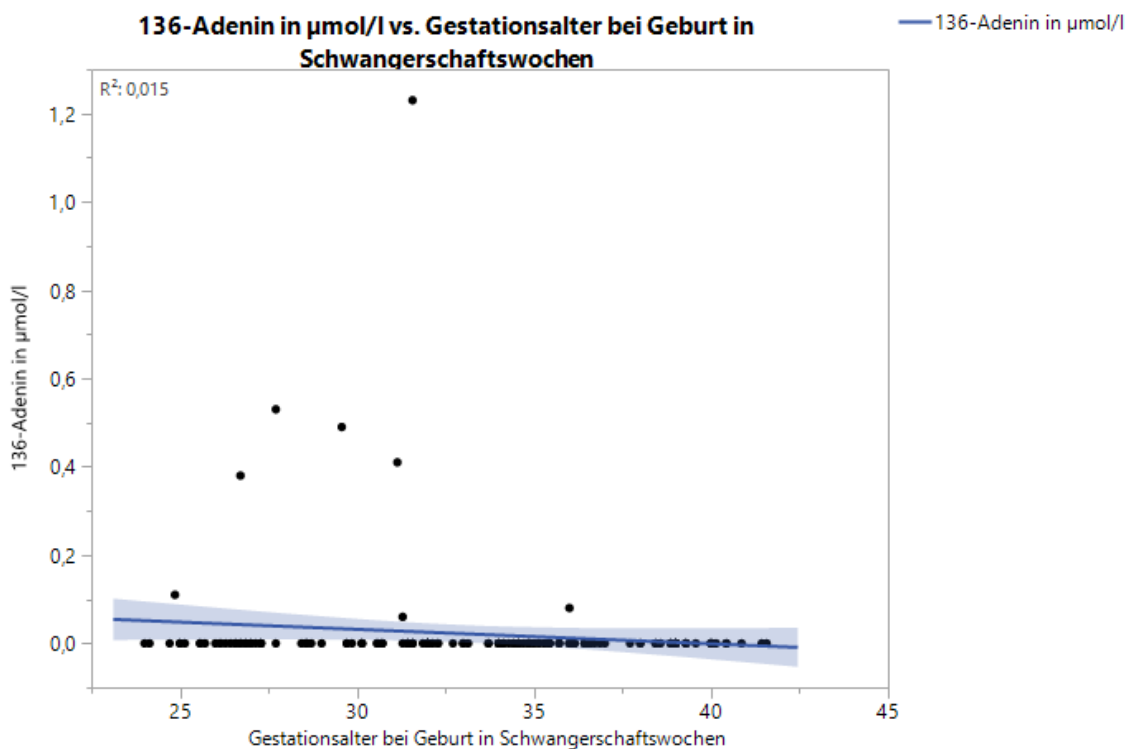


Abbildung 46: Adeninkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.6 Hypoxanthin

Die Hypoxanthinkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. Der Median der 1. Studiengruppe (23.-27.SSW) lag bei 13,92 (7,83-25,80)  $\mu\text{mol/L}$  und sank in der 2. Studiengruppe auf 10,70 (6,93-21,13)  $\mu\text{mol/L}$ , in der 3. Studiengruppe auf 9,39 (6,8-17,17)  $\mu\text{mol/L}$  und in der 4. Studiengruppe auf 8,62 (5,56-10,55)  $\mu\text{mol/L}$ . Der Median der Reifgeborenen lag bei 7,94 (4,56-13,98)  $\mu\text{mol/L}$ . Die geringste Konzentration konnte in der 2. Studiengruppe mit 2,25  $\mu\text{mol/L}$ , die maximale Konzentration mit 232,86  $\mu\text{mol/L}$  in der 1. Studiengruppe beobachtet werden. Als extreme Ausreißer wurden die ID 173 mit 232,86  $\mu\text{mol/L}$  und die ID 146 mit 88,02  $\mu\text{mol/L}$  betrachtet. Die postnatale Hypoxanthinkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,32$ , p-Wert  $<0,0001$ .

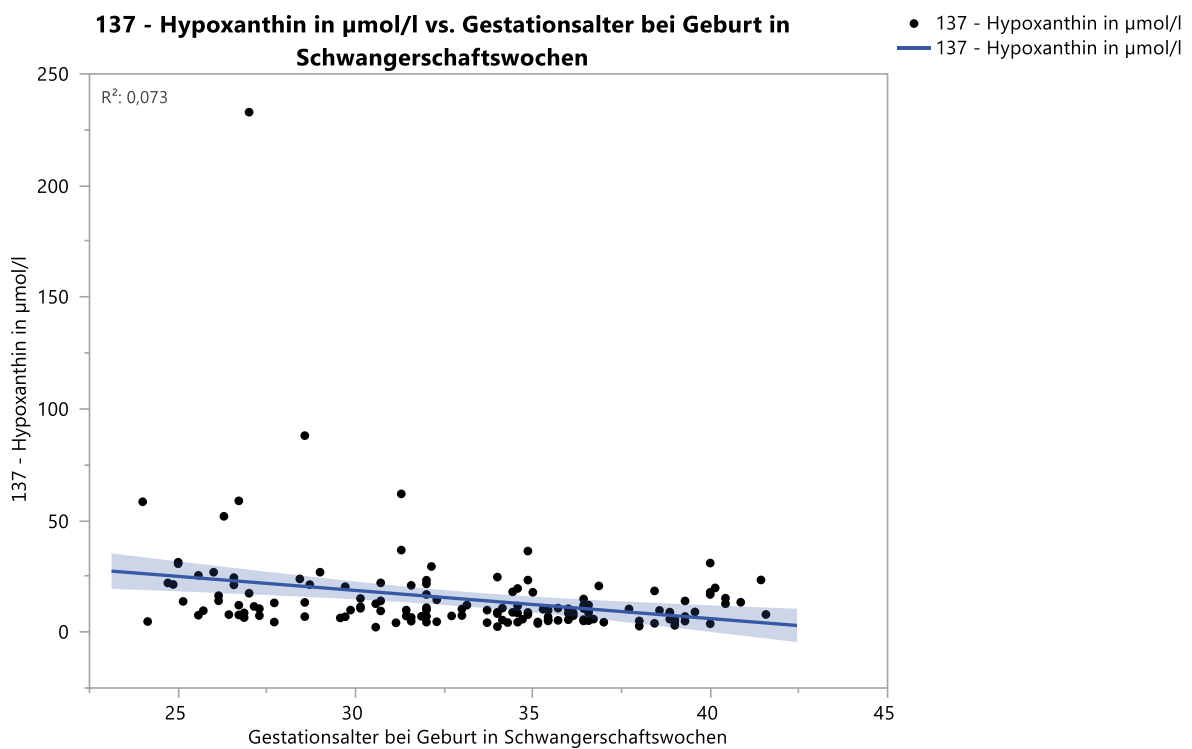


Abbildung 47: Hypoxanthinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.7 Guanin

Die Guaninkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 85 % der Messergebnisse lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Der Median der 1. Studiengruppe lag bei 0,0 (0,0-0,66)  $\mu\text{mol/L}$ . Bei den Studiengruppen 2 - 5 lagen die Mediane bei 0,0 (0,0-0,0)  $\mu\text{mol/L}$ . Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 146 = 2,73  $\mu\text{mol/L}$ , ID 1 = 12,17  $\mu\text{mol/L}$ , ID 101 = 15,06  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Guaninkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,31$ , p-Wert  $<0,0001$ .

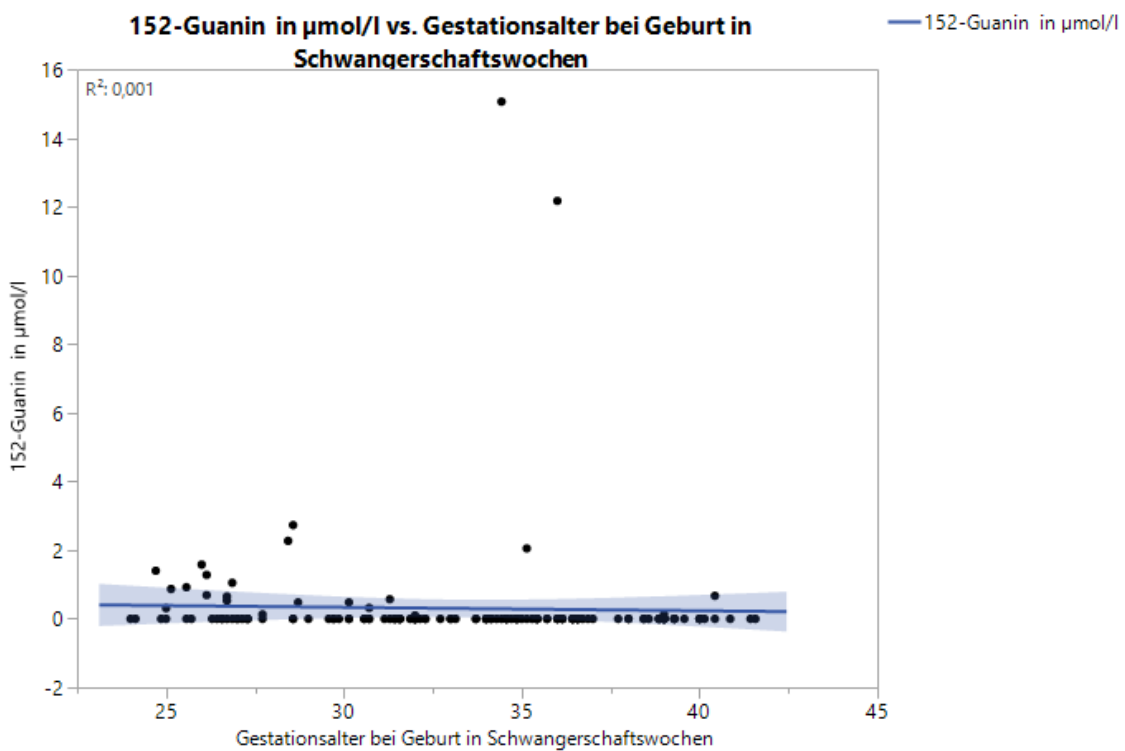


Abbildung 48: Guaninkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.8 Xanthin

Die Xanthinkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 54% der Messergebnisse lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Folgende Mediane zeigten sich in den Studiengruppen: Studiengruppe 1 = 0,49 (0,0-2,50  $\mu\text{mol/L}$ ), Studiengruppe 2 = 0,0 (0,0-1,95)  $\mu\text{mol/L}$ , Studiengruppe 3 = 0,0 (0,0-1,92)  $\mu\text{mol/L}$ , Studiengruppe 4 = 0,0 (0,0-1,5)  $\mu\text{mol/L}$ , Studiengruppe 5 = 0,48 (0,0-2,02)  $\mu\text{mol/L}$ . Das Minimum lag unterhalb der Nachweisgrenze. Das Maximum wurde mit 100,97  $\mu\text{mol/L}$  in der 1. Studiengruppe gemessen. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 153 = 14,85  $\mu\text{mol/L}$ , ID 146 = 22,03  $\mu\text{mol/L}$ , ID 173 = 100,97  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Xanthinkonzentration zeigte keine signifikante Korrelation mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,072$ , p-Wert 0,38.

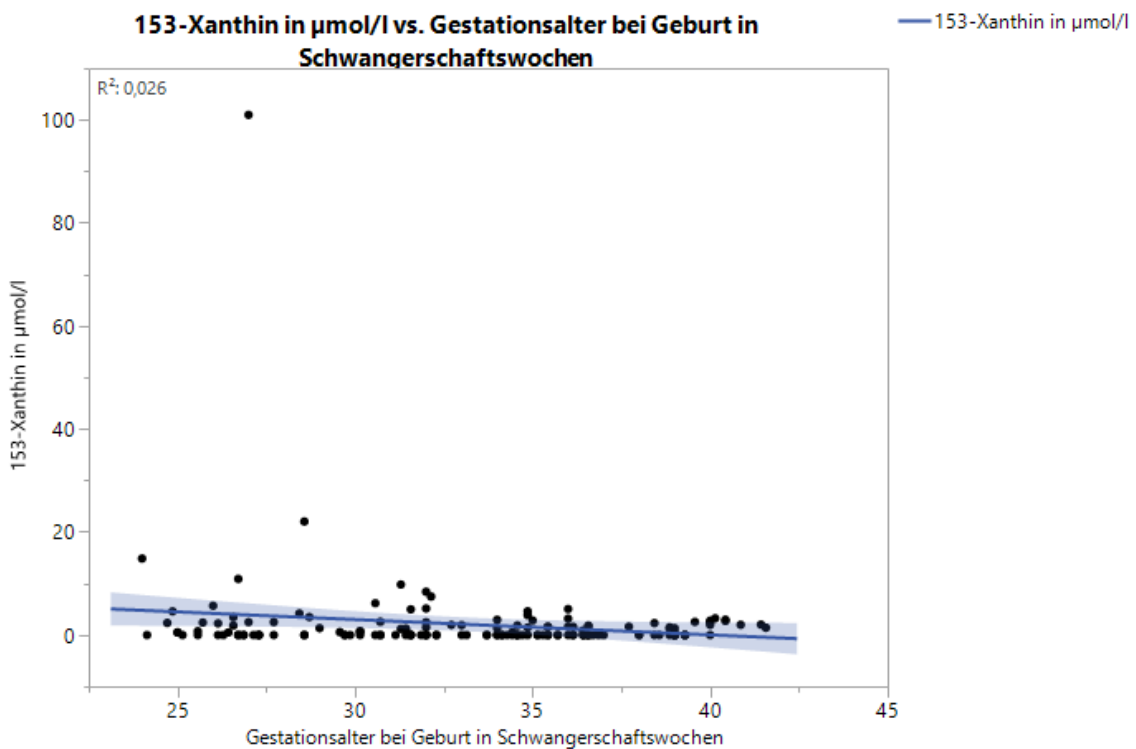


Abbildung 49: Xanthinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.9 Thymidin

Die Thymidinkonzentration lag bei allen Probanden bis auf ID 139 unterhalb der Nachweisgrenze. Die Konzentration von ID 139 wurde bei 4,8µmol/L gemessen. Die Berechnung eines Rangkoeffizienten nach Spearman wurde aufgrund fehlender Ergebnisse nicht durchgeführt.

### 3.2.10 Cytidin

Die Cytidinkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 28 % der Messergebnisse lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Der Median ergab in der 1. Studiengruppe 0,48 (0,15-1,00) µmol/L, sank in der 2. Studiengruppe auf 0,37 (0,26-0,73) µmol/L und in der 3. Studiengruppe auf 0,31 (0,06-0,45) µmol/L. In der 4. Studiengruppe wurde ein Median von 0,26 (0,015-0,36) µmol/L beobachtet. In der 5. Studiengruppe wurde ein Median von 0,0 (0,0-0,16) µmol/L berechnet. Das Minimum lag unter der Nachweisgrenze. Das Maximum fand sich mit 1,63 µmol/L in der Studiengruppe mit 23. - 27. SSW. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 65 = 1,41µmol/L, ID 140 = 3,01µmol/L und ID 148 = 1,63µmol/L. Die postnatale Cytidinkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,51$ , p-Wert  $<0,0001$ .

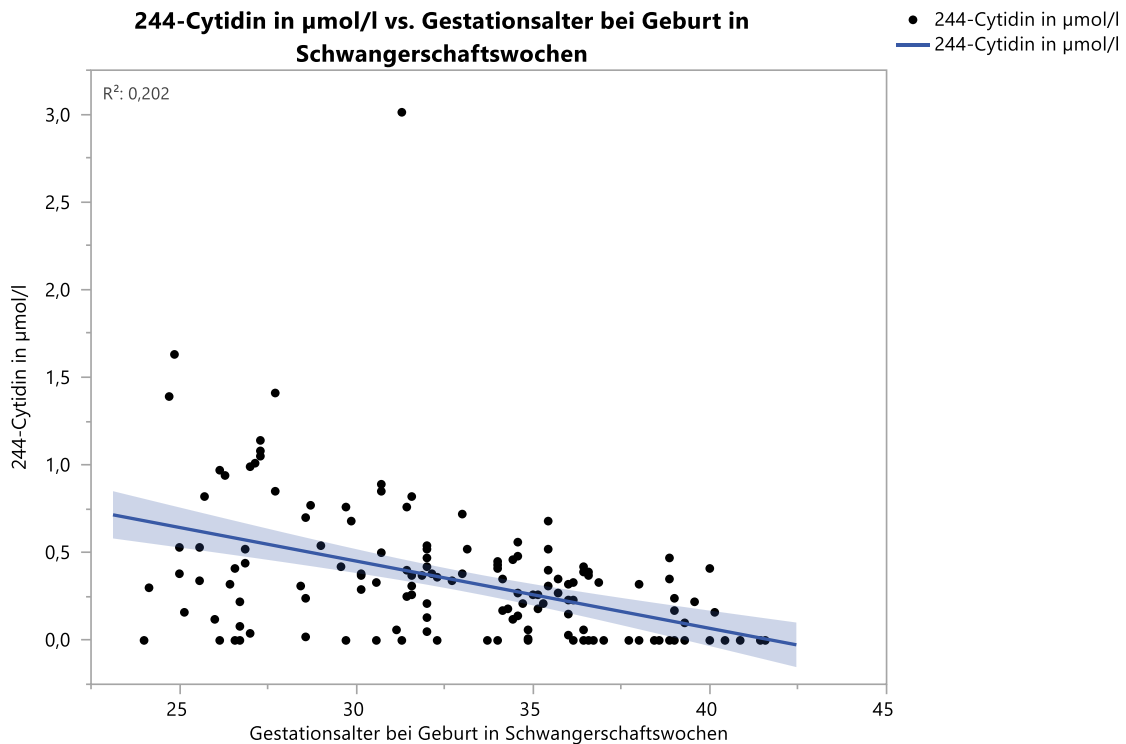


Abbildung 50: Cytidinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.11 Uridin

Die Uridinkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. Alle Messergebnisse lagen über der Nachweisgrenze. Folgende Mediane zeigten sich in den Studiengruppen: Studiengruppe 1 = 5,31 (3,99-8,55)  $\mu\text{mol/L}$ , Studiengruppe 2 = 3,73 (3,21-6,20)  $\mu\text{mol/L}$ , Studiengruppe 3 = 3,99 (2,88-5,65)  $\mu\text{mol/L}$ , Studiengruppe 4 = 4,01 (2,72-4,84)  $\mu\text{mol/L}$ , Studiengruppe 5 = 3,71 (2,90-4,57)  $\mu\text{mol/L}$ . Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 80 = 14,87  $\mu\text{mol/L}$ , ID 146 = 15,57  $\mu\text{mol/L}$  und ID 153 = 15,80  $\mu\text{mol/L}$ . Das Minimum und das Maximum wurden in der 1. Studiengruppe mit 1,14  $\mu\text{mol/L}$  und 15,8  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die postnatale Uridinkonzentration korrelierte signifikant mit steigendem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,31$ , p-Wert 0,0001.

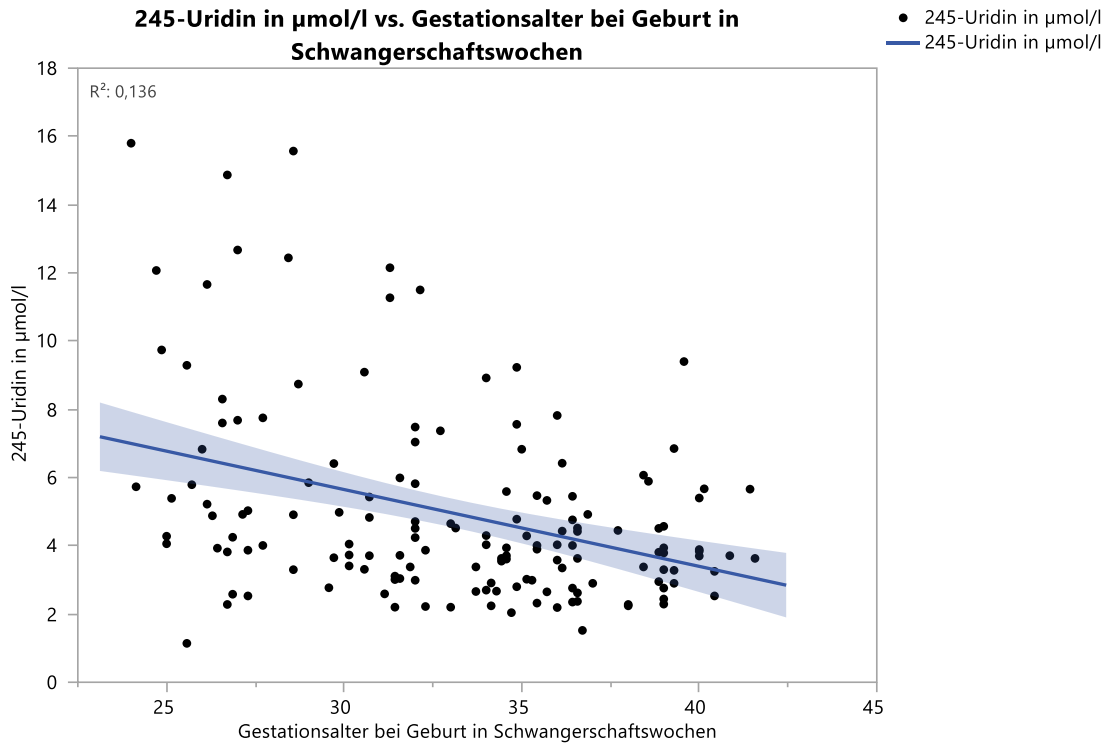


Abbildung 51: Uridinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters



### 3.2.12 Adenosin

Die Adenosinkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 75 % der Messergebnisse lagen unter der Nachweisgrenze. Der Median ergab in der 1. Studiengruppe 0,0 (0,0-0,13)  $\mu\text{mol/L}$  und in der 2. Studiengruppe 0,0 (0,0-0,03)  $\mu\text{mol/L}$ . In der 3. und 4. Studiengruppe wurde ein Median von 0,0 (0,0-0,0)  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die 5. Studiengruppe zeigte einen Median von 0,0 (0,0-0,14)  $\mu\text{mol/L}$ . Das Maximum wurde in der 1. Studiengruppe mit 0,63  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 148 = 0,63  $\mu\text{mol/L}$ , ID 28 = 0,50  $\mu\text{mol/L}$ , ID 14 = 0,48  $\mu\text{mol/L}$  und ID 5 = 1,20  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Adenosinkonzentration zeigte keine signifikante Korrelation mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,07$ , p-Wert 0,40. Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Messwerte begrenzt.

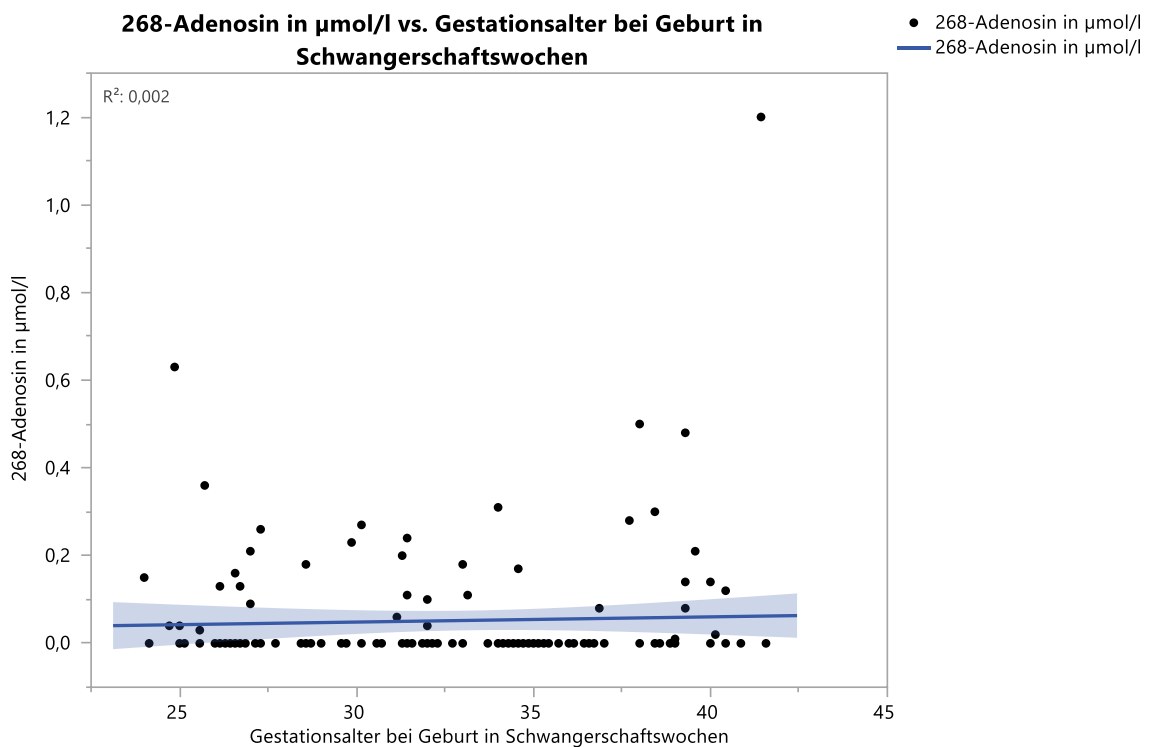


Abbildung 52: Adenosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.13 Inosin

Die Inosinkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 64 % der Messergebnisse lagen unter der Nachweisgrenze. Der Median ergab in der 1. Studiengruppe 0,46 (0,0-1,0)  $\mu\text{mol/L}$ , in der 2. Studiengruppe 0,11 (0-0,35)  $\mu\text{mol/L}$  und in der 3. Studiengruppe 0,0 (0,0-0,12)  $\mu\text{mol/L}$ . In der 4. und 5. Studiengruppe wurde ein Median von 0,0 (0,0-0,0)  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die Konzentrationen folgender ID wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 164 = 99,33  $\mu\text{mol/L}$ , ID 171 = 18,19  $\mu\text{mol/L}$  und ID 173 = 12,12  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Inosinkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,47$ , p-Wert  $<0,0001$ . Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl der Messwerte über der Nachweisgrenze begrenzt.

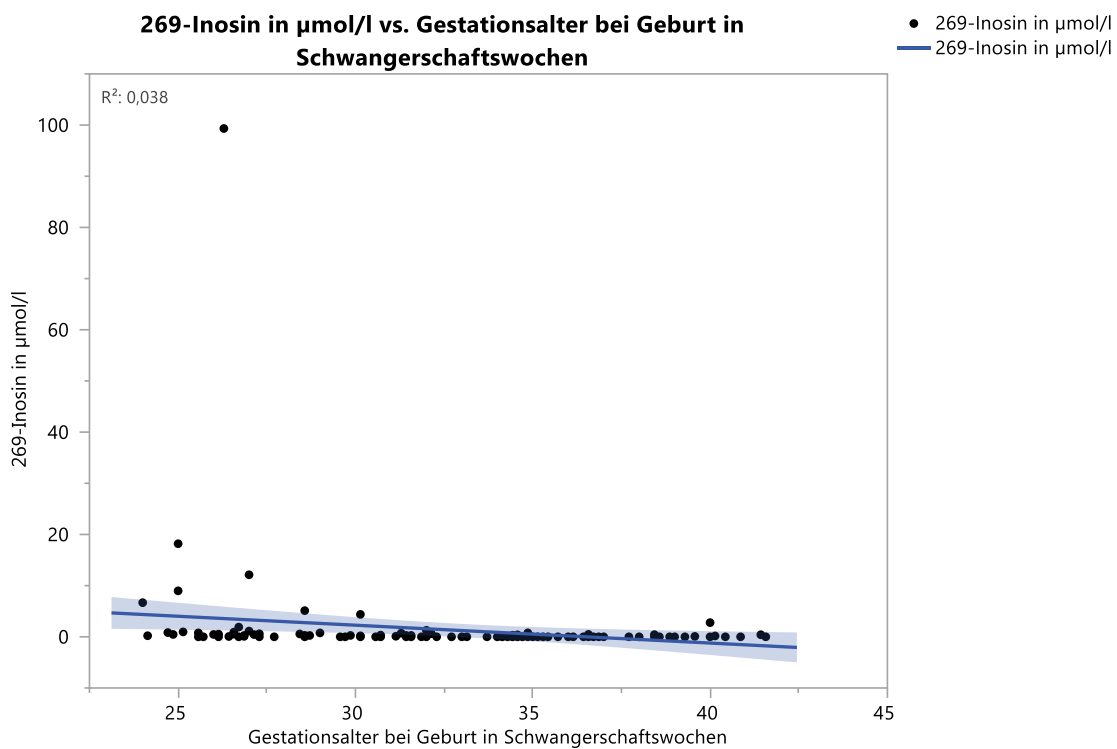


Abbildung 53: Inosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.14 Guanosin

Die Guanosinkonzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 79 % der Ergebnisse lagen unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze. Der Median war in allen Studiengruppen mit 0,0 (0,0-0,0)  $\mu\text{mol/L}$  zu beobachten. Das Maximum wurde in der 5. Studiengruppe mit 1,36  $\mu\text{mol/L}$  gemessen. Das Minimum lag unter der Nachweisgrenze. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 164 = 0,86  $\mu\text{mol/L}$ , ID 146 = 0,66  $\mu\text{mol/L}$  und ID 5 = 1,36  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Guanosinkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,24$ , p-Wert = 0,0032. Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl der Messwerte über der Nachweisgrenze begrenzt.

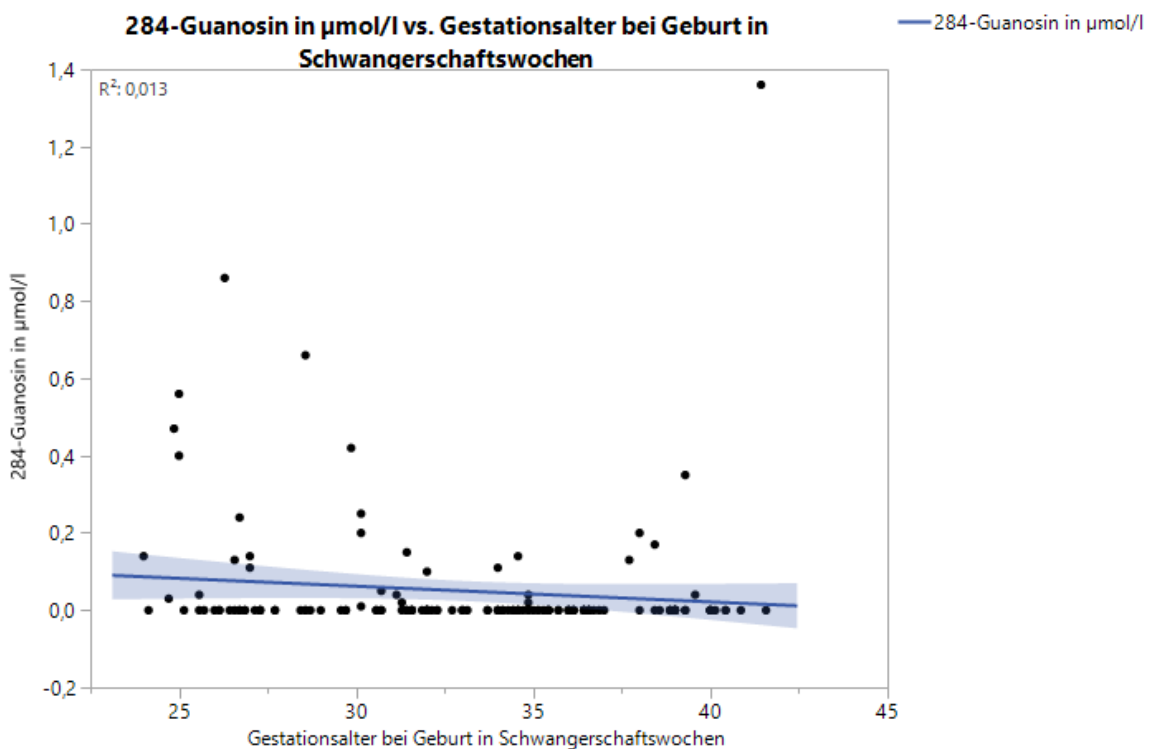


Abbildung 54: Guanosinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.15 CMP

Die CMP-Konzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 80 % der Messwerte lagen unter der Nachweisgrenze. Der Median lag in allen Studiengruppen bei 0,0  $\mu\text{mol/L}$ . Die 75. Quantile wurde in der 1. Studiengruppe bei 0,0  $\mu\text{mol/L}$ . Die 75. Quantile der 5. Studiengruppe wurde mit 0,21  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die 75. Quantile der 5. Studiengruppe wurde mit 0,06  $\mu\text{mol/L}$  berechnet. Die höchste Konzentration zeigte sich bei 2,67  $\mu\text{mol/L}$  bei ID 146. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 120 = 1,63  $\mu\text{mol/L}$ , ID 90 = 2,17  $\mu\text{mol/L}$  und ID 146 = 2,67  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale CMP-Konzentration zeigte keine signifikante Korrelation mit steigendem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,089$ , p-Wert 0,28. Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl der Messwerte über der Nachweisgrenze begrenzt.

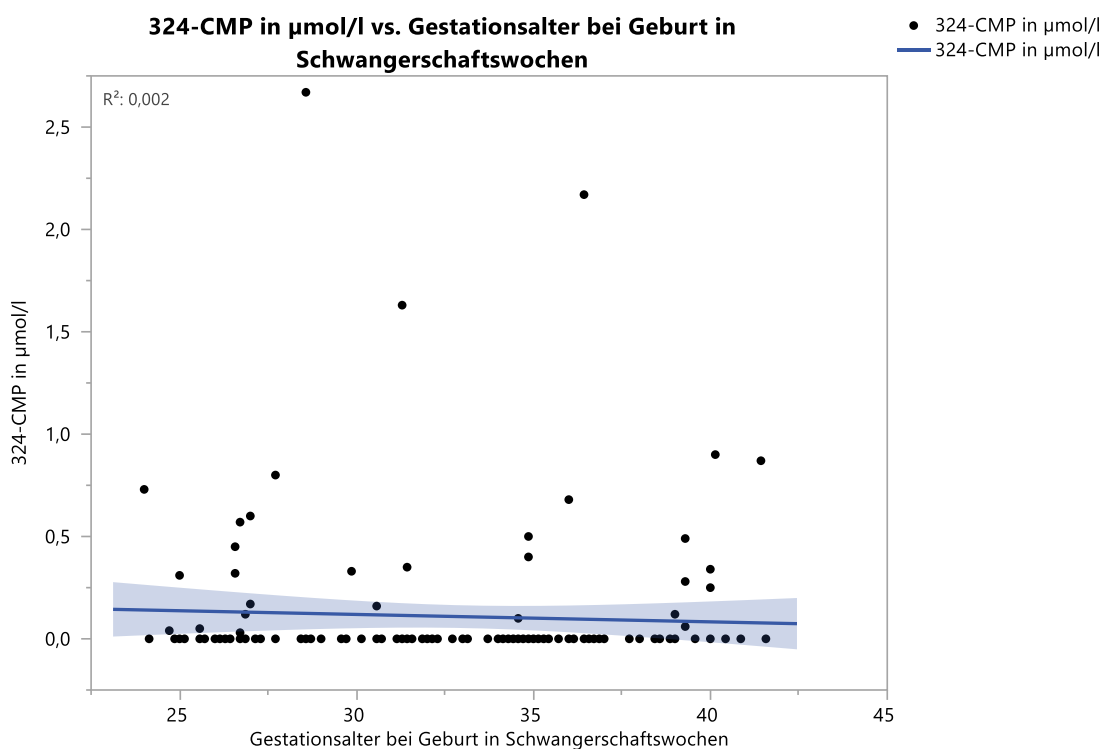


Abbildung 55: CMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.16 UMP

Die UMP-Konzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 96 % der Messwerte lagen unter der Nachweisgrenze. Der Median lag in allen Studiengruppen bei 0,0  $\mu\text{mol/L}$ . Die höchste Konzentration zeigte sich bei ID 146 mit 1,32  $\mu\text{mol/L}$ . Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 61 = 0,22  $\mu\text{mol/L}$ , ID 31 = 0,24  $\mu\text{mol/L}$ , ID 170 = 0,51 und ID 146 = 1,32  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale UMP-Konzentration zeigte keine signifikante Korrelation mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,00$ , p-Wert  $<0,999$ . Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl der Messwerte über der Nachweisgrenze begrenzt.

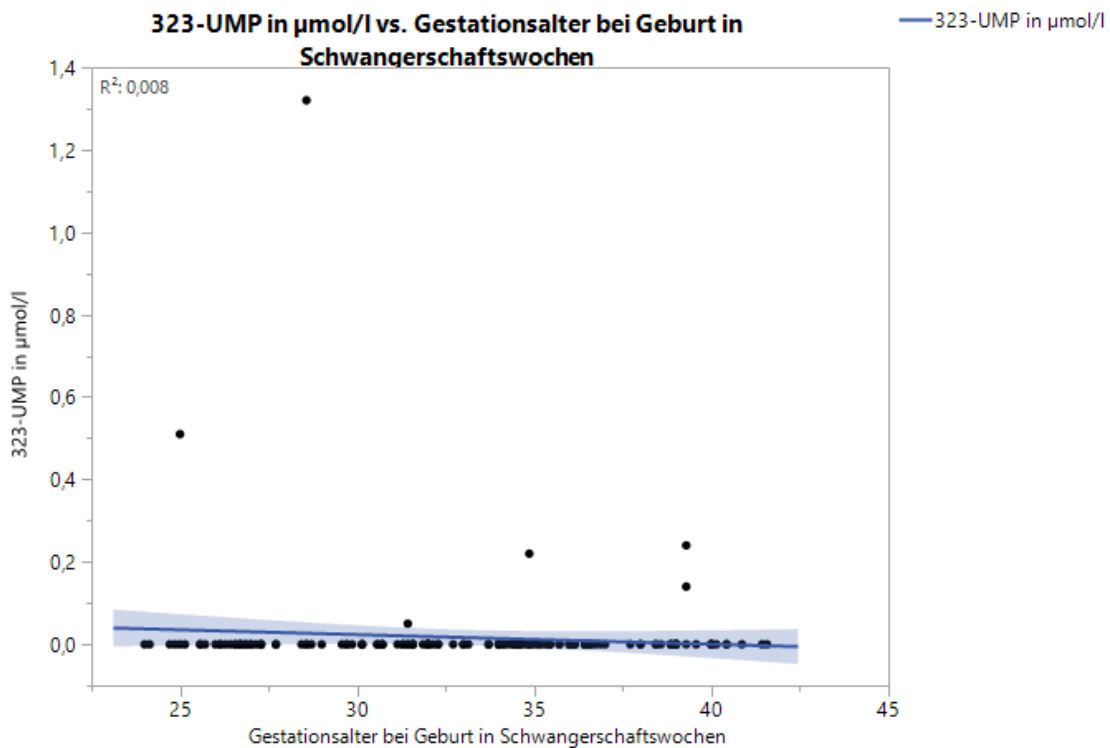


Abbildung 56: UMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.17 AMP

Die AMP-Konzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt.

13 % der Messwerte lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Der Median zeigt mit steigendem Gestationsalter eine sinkende Tendenz: 23. - 27.SSW = 0,65 (0,39-2,00)  $\mu\text{mol/L}$ , 28. - 31.SSW = 0,58 (0,27-0,84)  $\mu\text{mol/L}$ , 32. - 34.SSW = 0,28 (0,17-0,50)  $\mu\text{mol/L}$ , 35. - 36.SSW = 0,26 (0,09-0,39)  $\mu\text{mol/L}$ . In der 5. Studiengruppe zeigte sich eine Steigung auf 0,36 (0,20-0,73)  $\mu\text{mol/L}$ . Die höchste Konzentration fand sich bei ID 120 mit 25,72  $\mu\text{mol/L}$ . Die niedrigste Konzentration lag unterhalb der Nachweisgrenze. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 153 = 13,42  $\mu\text{mol/L}$ , ID 146 = 17,82  $\mu\text{mol/L}$  und ID 120 = 25,72  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale AMP-Konzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,24$ , p-Wert = 0,0026.

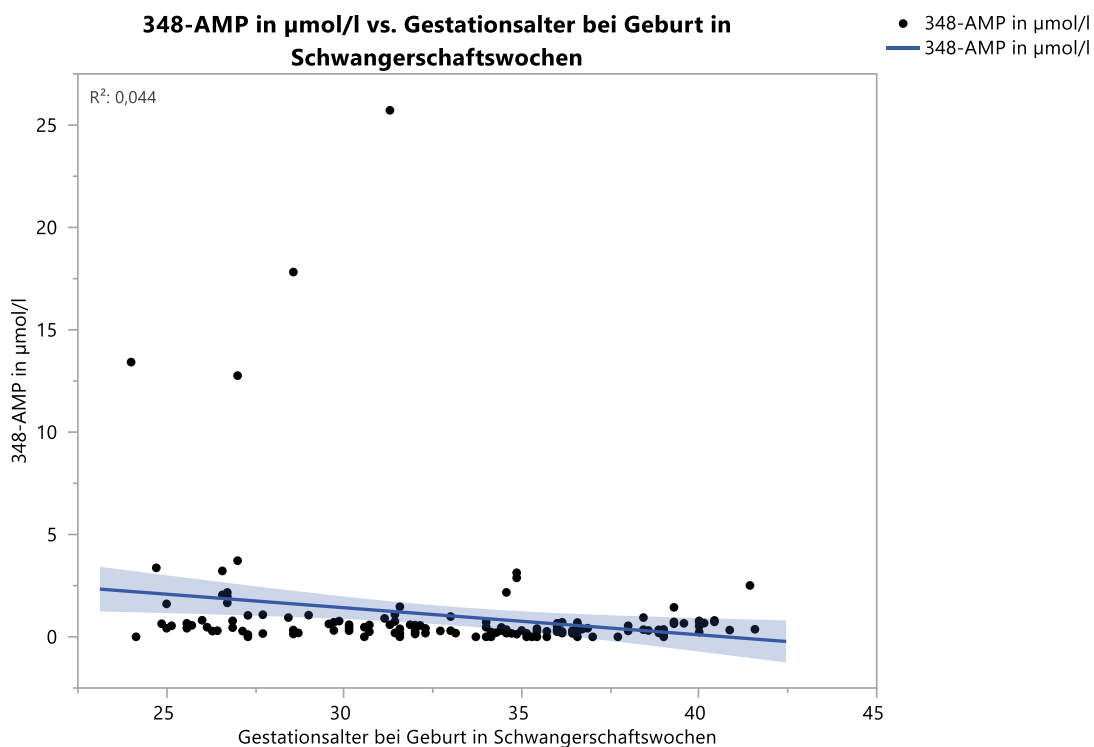


Abbildung 57: AMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.18 GMP

Die GMP-Konzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 84 % der Messwerte lagen unter der Nachweisgrenze. Der Median lag in der 1. Studiengruppe bei 0,03 (0,00-0,41)  $\mu\text{mol/L}$ . In den Gestationsgruppen 2 - 5 wurden Mediane von 0,0 (0,0-0,0)  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Die höchste Konzentration zeigte sich mit 3,49  $\mu\text{mol/L}$  bei ID 120. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 5 = 1,78  $\mu\text{mol/L}$ , ID 146 = 3,22  $\mu\text{mol/L}$  und ID 120 = 3,49  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale GMP-Konzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,34$ ,  $p$ -Wert  $<0,0001$ . Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl der Messwerte über der Nachweisgrenze begrenzt.

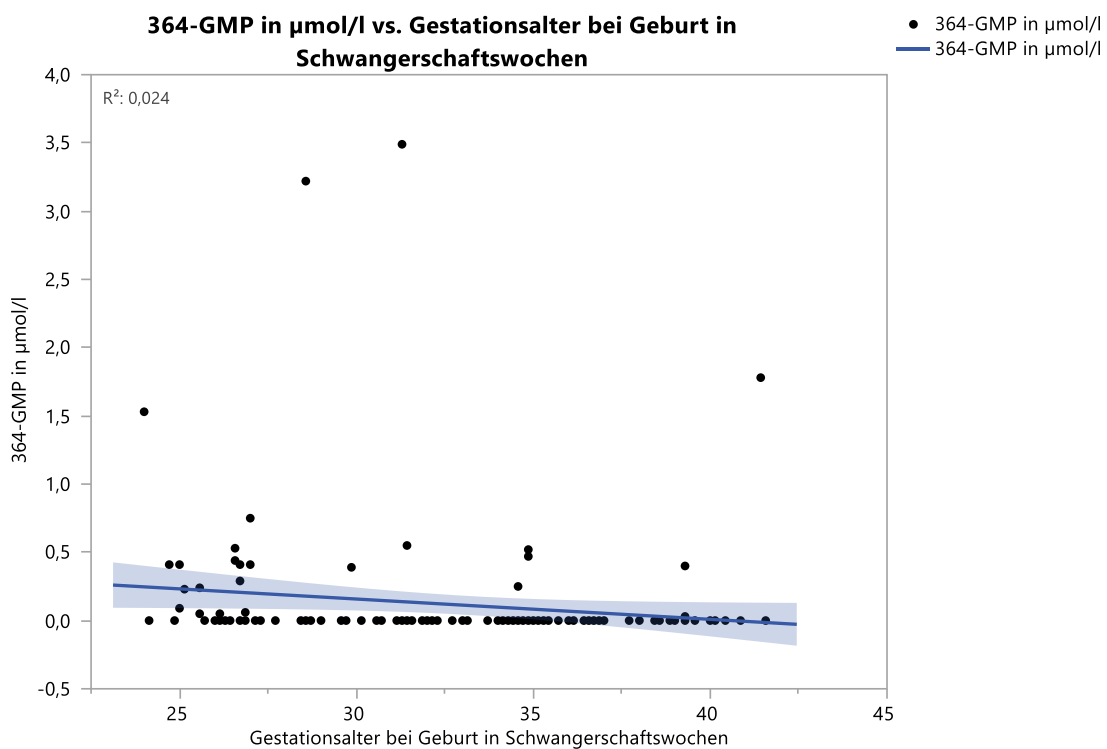


Abbildung 58: GMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.19 IMP

Die IMP-Konzentrationen waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. 95 % der Messwerte lagen unter der Nachweisgrenze. Der Median lag in allen Studiengruppen bei 0,0 (0,0-0,0)  $\mu\text{mol/L}$ . Die höchste Konzentration zeigte sich mit 8,9  $\mu\text{mol/L}$  bei ID120. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 120 = 8,90  $\mu\text{mol/L}$  und ID 156 = 6,83  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale IMP-Konzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,16$ , p-Wert = 0,048. Die Aussagekraft des Rangkoeffizienten nach Spearman ist aufgrund der geringen Zahl der Messwerte über der Nachweisgrenze begrenzt.

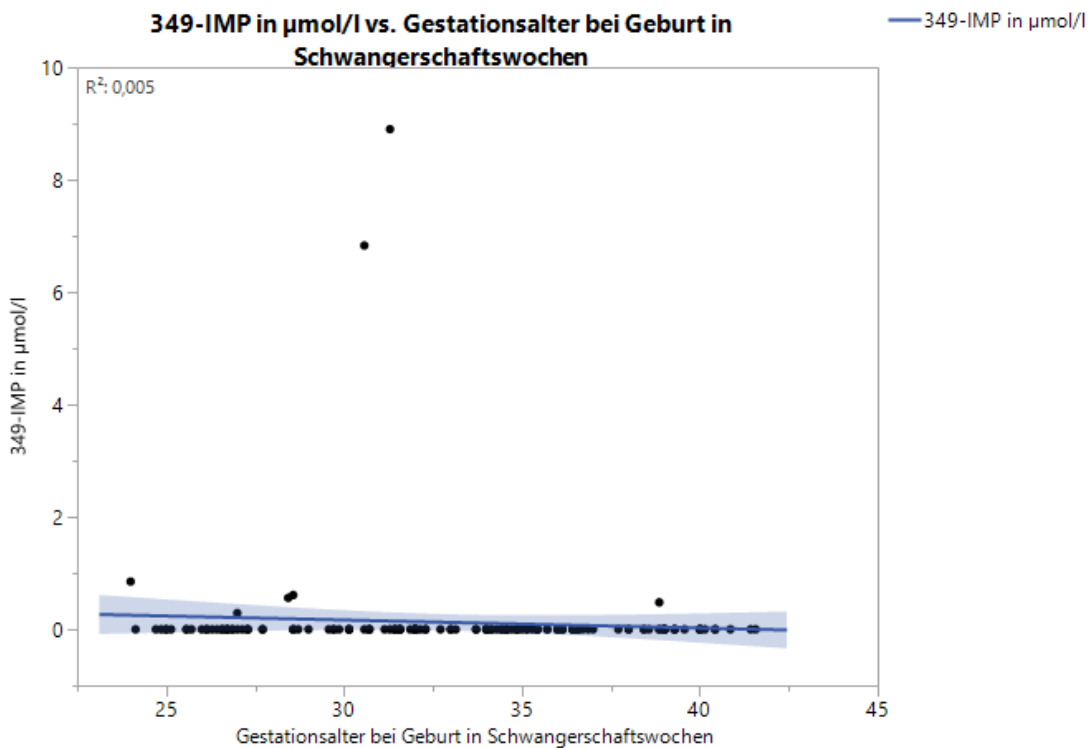


Abbildung 59: IMP-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters



### 3.2.20 TMP

Die TMP-Konzentrationen lagen bei allen Probanden und in allen Studiengruppen unterhalb der Nachweisgrenze. Die Berechnung eines Rangkoeffizienten nach Spearman war nicht möglich.

### 3.2.21 Gesamtkonzentration Purine

Die kumulativen Konzentrationen aller untersuchten Purine (einschließlich deren Nukleotide und Monophosphate) waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. Der Median zeigte mit steigendem Gestationsalter eine sinkende Tendenz. In der 1. Studiengruppe lag der Median bei 16,04 (8,38-30,47)  $\mu\text{mol/L}$ , sank in der 2. Studiengruppe auf 11,82 (7,27-25,44)  $\mu\text{mol/L}$ , in der 3. Studiengruppe auf 9,97 (7,67-21,00)  $\mu\text{mol/L}$ , in der 4. auf 9,07 (5,74-11,72)  $\mu\text{mol/L}$  und in der 5. Studiengruppe auf 8,99 (24,56-16,24)  $\mu\text{mol/L}$ . Das Maximum wurde in der 1. Studiengruppe mit 346,15  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Das Minimum lag mit 2,25  $\mu\text{mol/L}$  in der 2. Studiengruppe. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 146 = 118,73  $\mu\text{mol/L}$ , ID 164 = 152,07  $\mu\text{mol/L}$  und ID 173 = 346,15  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Purinkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,305$ , p-Wert = 0,0001.

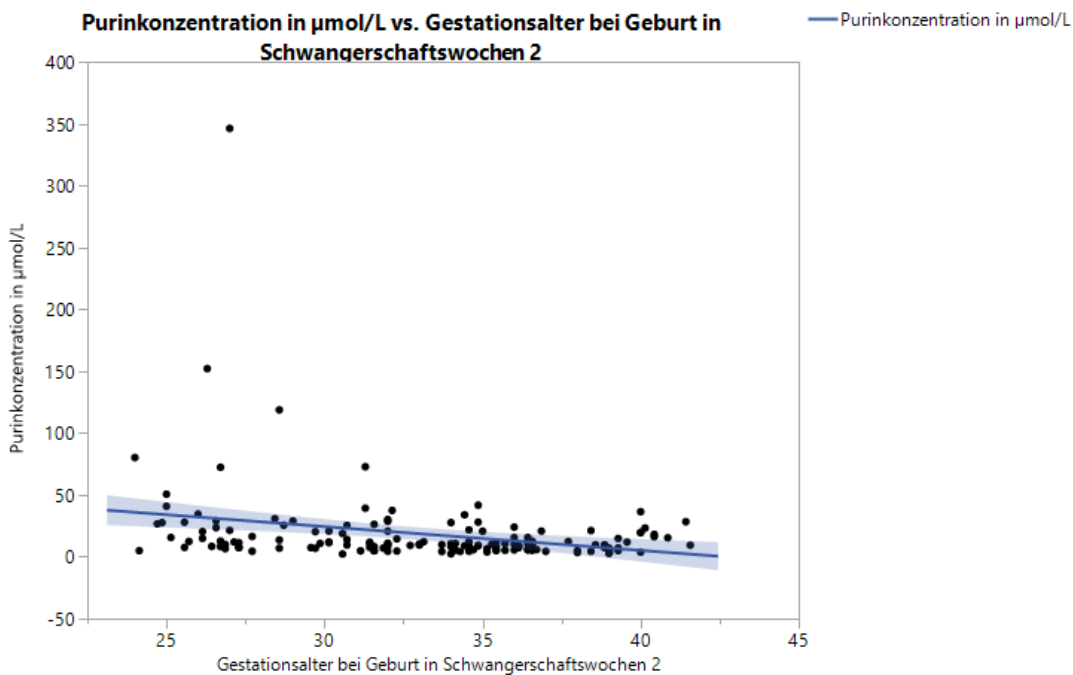


Abbildung 60: Purinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.22 Gesamtkonzentration Pyrimidine

Die kumulativen Konzentrationen aller untersuchten Pyrimidine (einschließlich deren Nukleotide und Monophosphate) waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. Der Median zeigte mit steigendem Gestationsalter eine sinkende Tendenz. In der 1. Studiengruppe lag der Median bei 6,24 (4,67-10,90)  $\mu\text{mol/L}$ , sank in der 2. Studiengruppe auf 5,06 (3,81-7,45)  $\mu\text{mol/L}$ , in der 3. Studiengruppe auf 4,56 (3,31-6,33)  $\mu\text{mol/L}$ , in der 4. auf 4,42 (3,10-5,47)  $\mu\text{mol/L}$  und in der 5. Studiengruppe auf 3,78 (2,93-4,86)  $\mu\text{mol/L}$ . Das Maximum wurde in der 1. Studiengruppe mit 138,09  $\mu\text{mol/L}$  beobachtet. Das Minimum lag mit 1,52  $\mu\text{mol/L}$  in der 4. Studiengruppe. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 146 = 44,09  $\mu\text{mol/L}$ , ID 153 = 34,72  $\mu\text{mol/L}$  und ID 173 = 138,09  $\mu\text{mol/L}$ . Die postnatale Pyrimidinkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,41$ , p-Wert  $<0,0001$ .

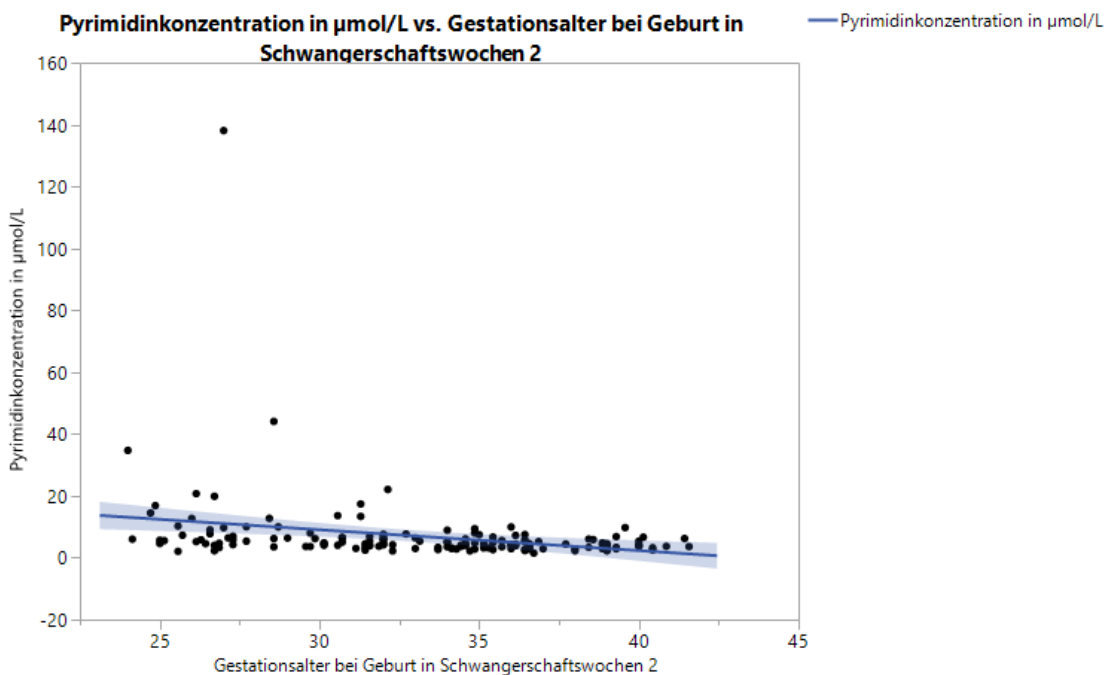


Abbildung 61: Pyrimidinkonzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.23 Gesamtkonzentration Monophosphate

Die kumulativen Konzentrationen aller Monophosphate waren nach Shapiro-Wilk Test nicht normalverteilt. Der Median der Studiengruppen lag bei der 1. bei 0,79 (0,41-2,69)  $\mu\text{mol/L}$ , und sank bei der 2. auf 0,59 (0,27-1,27)  $\mu\text{mol/L}$ , bei der 3. auf 0,28 (0,17-0,50)  $\mu\text{mol/L}$  und bei der 4. auf 0,27 (0,09-0,41)  $\mu\text{mol/L}$ . In der 5. Studiengruppe stieg der Median auf 0,37 (0,23-0,94)  $\mu\text{mol/L}$ . Das Maximum fand sich mit 39,74  $\mu\text{mol/L}$  in der Studiengruppe 2 (28. - 31. SSW). Das Minimum lag unterhalb der laborchemischen Nachweisgrenze. Die Konzentrationen folgender IDs wurden als Ausreißer eingeordnet: ID 120 = 39,74  $\mu\text{mol/L}$ , ID 146 = 25,64  $\mu\text{mol/L}$  und ID 153 = 16,53  $\mu\text{mol/L}$ .

Die postnatale Monophosphatkonzentration korrelierte signifikant mit dem Gestationsalter, Spearmankoeffizient  $\rho = -0,22$ , p-Wert = 0,0074.

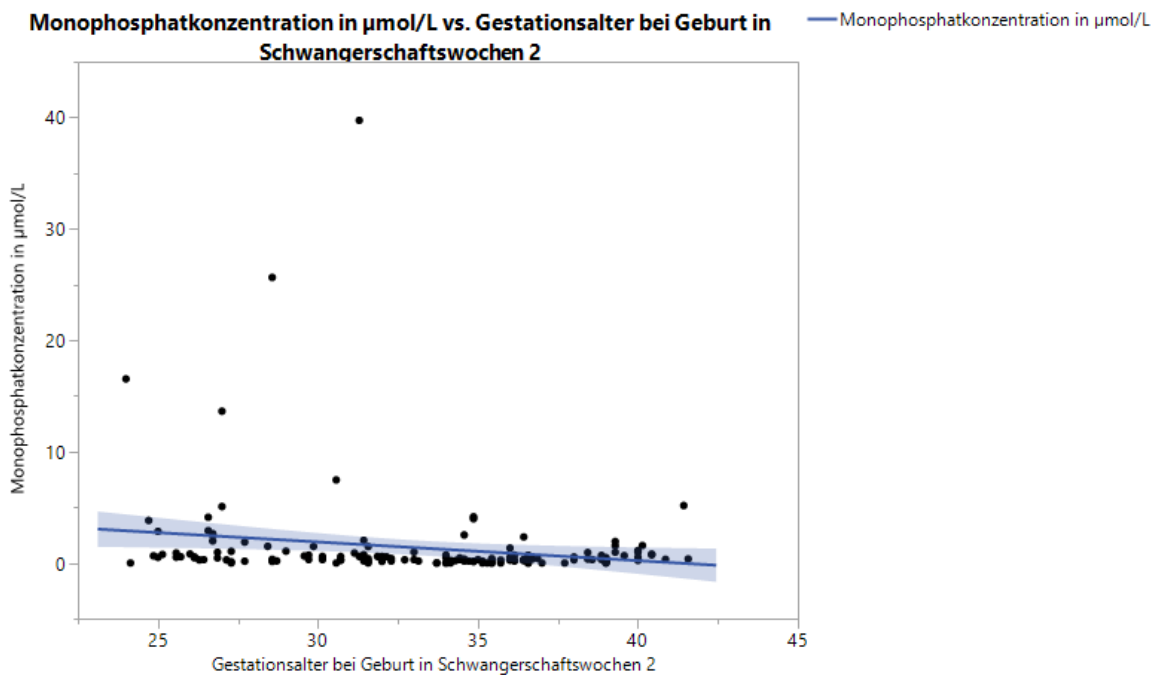


Abbildung 62: Monophosphat-Konzentration in Abhängigkeit des Gestationsalters

### 3.2.24 Zusammenfassung der Korrelate der Nabelschnurblutkonzentrationen mit dem Gestationsalter bei Geburt

Tabelle 11 zeigt einen Überblick über die errechneten Rangsummen-Koeffizienz- und Signifikanzwerte für die Korrelation der Purine und Pyrimidine dem Gestationsalters bei Geburt.

Tabelle 11: Übersicht der Koeffizienz- und Signifikanzwerte der gemessenen Mikronährstoffe in Abhängigkeit des Gestationsalters

<b>Mikronährstoff</b>	<b>Spearmanrangsummenkoeffizient <math>\rho</math></b>	<b>p-Wert</b>
Cytosin	-0,38	<0,0001
Uracil	-0,27	<0,0007
Adenin	-0,18	0,029
Hypoxanthin	-0,32	<0,0001
Guanin	-0,31	<0,0001
Cytidin	-0,51	<0,0001
Uridin	-0,31	0,0001
Inosin	-0,47	<0,0001
Guanosin	-0,24	0,0032
AMP	-0,24	0,0026
GMP	-0,34	<0,0001
IMP	-0,16	0,048
Purine	-0,30	0,0001
Pyrimidine	-0,41	<0,0001
Monophosphate	-0,22	0,0074
Xanthin	-0,07	0,38
Adenosin	-0,07	0,4039
CMP	-0,09	0,2768
UMP	0,00	0,99
Thymin	Messergebnisse für Berechnung nicht ausreichend	
Thymidin	Messergebnisse für Berechnung nicht ausreichend	
TMP	Messergebnisse für Berechnung nicht ausreichend	

### 3.2.25 Korrelation ausgewählter Mikronährstoffe mit dem pH-Wert im arteriellen Blut

In der Literatur wurde eine Korrelation zwischen folgenden Mikronährstoffen und dem pH-Wert beschrieben. Aufgrund dieser Ergebnisse fand eine Berechnung der Korrelationen für diese ausgewählten Mikronährstoffe statt.

Eine signifikante Korrelation  $\rho$  nach Spearman der folgenden Mikronährstoffe mit dem pH-Wert konnten nicht ermittelt werden.

Tabelle 12: Korrelation ausgewählter Mikronährstoffe mit dem pH-Wert

<b>Mikronährstoff</b>	<b>Spearmanrangsummenkoeffizient <math>\rho</math></b>	<b>p-Wert</b>
Hypoxanthin	-0,146	0,072
Adenosin	-0,088	0,028
AMP	-0,089	0,277
Purine	0,004	0,958
Pyrimidine	0,029	0,722

## 4 Diskussion

### 4.1 Aktualität der Fragestellung

In dieser Studie wurden die Konzentrationen der Purine und Pyrimidine, eingeschlossen derer Derivate und Monophosphate, im Nabelschnurblut Früh- und Reifgeborener ermittelt und auf eine Korrelation mit dem Gestationsalter der Früh- und Reifgeborenen hin untersucht. Die Ergebnisse dieser Nabelschnurblutuntersuchungen sollen einen Beitrag dazu leisten die intrauterine Versorgung mit den Purinen und Pyrimidinen zu quantifizieren. Es ist anzunehmen, dass die Konzentrationen der Mikronährstoffe in der Muttermilch ideal für ein reifes Neugeborenes und seine physiologische Entwicklung sind. Unklar ist, ob die Zusammensetzung der Muttermilch beziehungsweise der Formulanahrung den Nährstoffbedarf Frühgeborener deckt. Die aktuelle Studienlage bezüglich des Bedarfs an Purinen und Pyrimidinen, insbesondere der letzten 10 Jahre, ist unzureichend. Angesichts der weltweit steigenden Frühgeborenenprävalenz und dem damit verbundenen Bedarf an ernährungsphysiologischen Erkenntnissen wird dieses Thema in den nächsten Jahren nicht an Aktualität verlieren.

### 4.2 Präanalytik

Aufgrund der geringen Datenlage fehlten Publikationen zu etablierten Messmethoden zur Quantifizierung der Konzentration der Purine und Pyrimidine und deren Derivate. Ebenso gab es keine lagerungszeitabhängigen Konzentrationsverläufe im Blut von Menschen oder Tieren als Vergleichsgrundlage. Um das maximal zulässige Zeitintervall für die Zwischenlagerung und Bearbeitung der Proben bis zum Einfrieren bei  $-40^{\circ}\text{C}$  zu bestimmen, ohne dass es zu relevanten Konzentrationsänderungen in der Probe kommt, wurde im Vorfeld ein Lagerungstest durchgeführt. Schon bei diesem Lagerungstest fiel auf, dass für viele Zielsubstanzen kein Nachweis möglich war und dass im Bereich der Nachweisgrenze zum Teil Schwankungen der Messwerte zu beobachten waren. Für einige Messwerte (z.B. Hypoxanthin siehe Kapitel 3.1.5) ergab sich ein Anstieg der Konzentration mit zunehmender

Lagerungszeit für andere eine Abnahme (z.B. Guanosin siehe Kapitel 3.1.13). Der Lagerungstest ergab orientierend, dass bis zum Zeitintervall von 120 Minuten keine offensichtlichen Konzentrationsunterschiede in den Proben zu beobachten waren und bestätigte das Vorgehen in dieser Studie, aus Praktikabilitätsgründen den Bearbeitungszeitraum der Nabelschnurblutproben auf maximal 120 Minuten festzulegen.

#### 4.3 Diskussion der Studienergebnisse

In dieser Dissertation wurden die Konzentrationen der Purine und Pyrimidine sowie deren Derivate und Monophosphate im Nabelschnurblut Früh- und Neugeborener untersucht. Die minimal detektierbaren Konzentrationen lagen zwischen 3,0  $\mu\text{mol/L}$  und 0,01  $\mu\text{mol/L}$  (siehe Tabelle 4, Seite 52). Die Konzentrationen von Cytosin, Hypoxanthin, Cytidin, Uridin, Inosin und AMP zeigten eine signifikante negative Korrelation mit dem Gestationsalter. Die Konzentrationen von Xanthin, Adenosin und UMP zeigten keine Korrelation mit dem Gestationsalter. Uracil, Adenin, Guanin, Guanosin, CMP, UMP, GMP und IMP zeigten zwar rechnerisch eine Korrelation mit dem Gestationsalter, die Interpretation des Spearmankoeffizient bzw. die Relevanz dieser Korrelationen war aufgrund der geringen Anzahl der Messwerte über der Nachweisgrenze eingeschränkt. Die Konzentrationen von Thymin, Thymidin und TMP lagen bis auf eine Ausnahme unterhalb der Nachweisgrenze. Die kumulierten Konzentrationen der Purine, Pyrimidine und Monophosphate zeigten signifikante negative Korrelationen mit dem Gestationsalter. Bei den Gesamtkonzentrationen der Pyrimidine und Monophosphate ist die Relevanz aufgrund der geringen Anzahl der Messwerte über der Nachweisgrenze unklar.

#### Nabelarterien-pH

Ein Nabelarterien pH < 7,0 ist ein diagnostisches Kriterium einer Asphyxie beziehungsweise einer Sauerstoffunterversorgung unter der Geburt (Flemmer, 2013, Graham et al., 2008). Purine und Pyrimidine werden in Studien wie von Flemmer und Graham als korrelierende Parameter einer pathologischen fetalen Azidose herangeführt. Die Prävalenz eines Nabelarterien pH unter 7,0 liegt bei



3,7 von 1000 Neugeborenen. Lag ein Nabelarterien pH < 7,0 vor, zeigte sich bei den Neugeborenen ein schlechteres klinisches Therapieergebnis und eine Morbidität und Mortalität von 23,1 %. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine postnatale Enzephalopathie auf eine perinatale Hypoxämie zurückzuführen war, stieg (Graham et al., 2008, Gilstrap et al., 1989). Bei Vorliegen eines Nabelarterien pH > 7,0 konnte eine normale Entwicklung ohne Komplikationen, wie Krampfanfälle, persistierende Hypotonie und renalen oder kardialen Funktionsstörungen, beobachtet werden (Winkler et al., 1991). Eine Korrelation der Purine und Pyrimidine mit dem pH-Wert konnte in der hier vorliegenden Studie nicht bewiesen werden. Hypoxanthin, Adenosin und AMP korrelierten negativ mit dem pH-Wert, jedoch ohne Signifikanz. Die kumulierten Werte der Purine und Pyrimidine korrelierten positiv mit dem pH-Wert, zeigten aber ebenfalls keine Signifikanz.

#### Hypoxanthin

In der hier zugrunde liegenden Studie zeigte sich eine signifikante Korrelation der Hypoxanthinkonzentrationen mit dem Gestationsalter ( $p = 0,0001$ ). Die Frühgeborenen in der 1. Studiengruppe mit 23 - 27 SSW zeigten die höchsten Werte an Hypoxanthin. Die Uridinkonzentrationen wiesen ebenfalls eine Korrelation mit dem Gestationsalter auf ( $p$ -Wert = 0,0001). Die Xanthinkonzentrationen zeigten keine signifikante Korrelation.

Hypoxanthinkonzentrationen wurden in anderen Studien als Parameter für die Bestimmung von Azidose und Hypoxämie herangezogen. Lipp-Zwahlen et al. bestimmten einen Mittelwert der Hypoxanthinkonzentration von  $16,1 \pm 5,7 \mu\text{mol/L}$  im arteriellen Nabelschnurblut der Referenzgruppe reifer Neugeborener ohne klinische Anzeichen eines Sauerstoffmangels, wie Nabelarterien- oder Kopfhautvenen-pH < 7,19 oder einem 1-Minuten-Apgar < 5 Punkten. Die Hypoxanthin-Konzentrationen im Nabelschnurblut der Neugeborenen mit klinischen Anzeichen eines Sauerstoffmangels unter der Geburt waren signifikant erhöht mit einem Mittelwert von  $19,8 \pm 3,5 \mu\text{mol/L}$ . Eine Korrelation zum Nabelarterien-pH konnte nicht beobachtet werden (Lipp-Zwahlen et al., 1983). Irestedt et al. konnten ähnliche Beobachtungen höherer

Hypoxanthinkonzentrationen im Nabelschnurblut von Neugeborenen feststellen, die signifikant mit dem Nabelarterien-pH korrelierten (Irestedt et al., 1989). Wie oben bereits angeführt fand sich in unserem Kollektiv, das zum Teil sehr unreife Frühgeborene einschloss, keine Beziehung zwischen der Hypoxanthinkonzentration und dem Nabelarterien-pH.

### Adenosin

Eine Korrelation der Adenosinkonzentrationen mit dem Nabelarterien-pH-Wert konnte in der Studie von Irestedt et al. nicht gefunden werden. Als mögliche Ursache wurde die schnelle Verstoffwechslung von Adenosin und die damit verbundene fehlende Messbarkeit angeführt. (Irestedt et al., 1989). O'Connor et al. konnten in einer weiteren Studie signifikant höhere Konzentrationen an Hypoxanthin, Xanthin und Uridin in Mekonium verunreinigter Amnionflüssigkeit feststellen. Als mögliche Ursache wurde die durch Sauerstoffmangel ausgelöste Ausscheidung von Purinen mit der Niere beschrieben (O'Connor et al., 1981). Harkness et al. untersuchten in ihrer Arbeit den Zusammenhang zwischen erhöhten Hypoxanthin-, Xanthin- und Uridinkonzentrationen bei erhöhter ATP-Ausschöpfung in menschlichen Blutproben.

75 % der Adenosinkonzentrationen waren in dieser Studie unterhalb der Nachweisgrenze. Eine Korrelation mit dem Gestationsalter konnte nicht nachgewiesen werden (Harkness, 1988). In der Literatur konnte gezeigt werden, dass Adenosin einen starken Vasodilatator darstellt und in Interaktion mit Katecholaminen einen positiven Effekt auf das Myokard zeigt (Schrader et al., 1977, Arch und Newsholme, 1978). Irestedt et al. konnten eine signifikante Korrelation zwischen der Adenosinkonzentration in Nabelschnurblut und dem perinatalen Stress, gemessen anhand des Sauerstoffmangels und der damit verbundenen Asphyxie, sowie durch die erhöhten Katecholaminkonzentrationen im Nabelschnurblut, nachweisen. Nach vaginaler Entbindung wurden Adenosinkonzentrationen von arteriell: 0,46 (0,13-2,06)  $\mu\text{mol/L}$  und venös 0,48 (0,09-1,62)  $\mu\text{mol/L}$  gemessen. Bei elektiven Kaiserschnitten zeigten sich Werte von arteriell: 0,16 (0,04-0,42)  $\mu\text{mol/L}$  und venös 0,17 (0,02-0,56)  $\mu\text{mol/L}$  (Irestedt et al., 1989). In der vorliegenden Studie liegt der Anteil der Kaiserschnitte bei

83 %, da aufgrund der Planbarkeit der Probenentnahme mehr Proben nach Sectiones gesammelt wurden. Die Adenosinkonzentrationen nach Kaiserschnitt und nach vaginaler Entbindung wurden daher in dieser Studie nicht verglichen, um keine fehlerhaften Rückschlüsse aufgrund der methodischen Selektion zu produzieren. AMP ist das Monophosphat von Adenosin und dient im Körper durch Phosphatanlagerungen dem Energietransport. In der vorliegenden Studie konnte eine signifikante Korrelation der AMP-Konzentration mit dem Gestationsalter beschrieben werden ( $p = 0,0026$ ). In der visuellen Analyse der Daten ist der Zusammenhang zwischen der AMP-Konzentration im Nabelschnurblut und dem Gestationsalter bei Geburt jedoch als unsicher zu bewerten. Eine Korrelation mit dem pH-Wert ergab sich in der hier zugrundeliegenden Studie nicht. Während die Studiengruppe der extrem Frühgeborenen eine AMP-Konzentration von 0,65 (0,39-2,00)  $\mu\text{mol/L}$  zeigte, lag die Konzentration der Reifgeborenen bei 0,36 (0,20-0,73)  $\mu\text{mol/L}$ . Bistoletti et al. untersuchten die cAMP-Konzentration im Nabelschnurblut in Anhängigkeit von fetalem Stress. Es zeigten sich niedrigere cAMP-Konzentrationen bei elektiven Kaiserschnitten als bei Neugeborenen mit Asphyxie unter Vakuumextraktion. Zudem konnte eine signifikante Korrelation von cAMP mit dem Nabelschnurblut-pH und der Katecholaminkonzentration beobachtet werden. Niedrige pH-Werte und hohe Katecholaminkonzentrationen korrelierten mit hohen cAMP-Spiegeln. Eine Untersuchung der cAMP-Konzentrationen fand in dieser Studie jedoch nicht statt.

#### Thymin, Thymidin, TMP

Die Konzentration von Thymin, Thymidin und TMP im Nabelschnurblut lagen in dieser Studie unter der Nachweisgrenze. Aufgrund dieser Ergebnisse ließ sich keine Aussage treffen, ob oder wie viel dieser Pyrimidinderivate im Nabelschnurblut vorhanden waren. In der Meta-Datenbank „Pubmed“ der „National Library of Medicine (Nationale Datenbank der Medizin)“ konnten keine Referenzen zu Thymin, Thymidin oder TMP im Blut recherchiert werden. Liao et al. konnten folgende Purine und Pyrimidine in der Muttermilch messen: CMP, CDP, UMP, AMP, GMP, IMP, Cytidin, Uridin, Adenosin, Guanosin und Inosin. Thymin und seine Derivate konnten nicht detektiert werden (Liao et al., 2011).

Ebenso fand Sugawara et al. in der Milch von Müttern kein Thymin, Thymidin oder TMP. Hier dominierten vor allem die Konzentrationen von CDP und CMP (Sugawara et al., 1995).

### Inosin

In dieser Studie wurden höhere Inosinkonzentrationen bei den extrem Frühgeborenen beobachtet. Es bestand eine Korrelation zwischen den Inosinkonzentrationen und dem Gestationsalter mit einer Signifikanz von  $p = <0,0001$ . In der visuellen Analyse war der errechnete Zusammenhang jedoch als unsicher zu bewerten. In Tierversuchen konnte Inosin einen protektiven Einfluss auf ischämisches Myokard von Mausfeten zeigen (Goldhaber et al., 1982). In der Meta-Datenbank „Pubmed“ der „National Library of Medicine (Nationale Datenbank der Medizin)“ konnten keine weiteren Referenzen zu Inosin im fetalen Blut recherchiert werden.

### Cytosin, Cytidin, CMP

Die Konzentrationen von Cytosin und Cytidin wiesen eine signifikante negative Korrelation mit dem Gestationsalter auf ( $p = <0,0001$ ), dieser Zusammenhang war auch in der visuellen Analyse gut nachvollziehbar. Die CMP-Konzentrationen lagen in 80,4 % der Messungen unter der Nachweisgrenze. Eine signifikante Korrelation mit dem Gestationsalter konnte nicht beobachtet werden ( $p = 0,28$ ). Die Literaturrecherche in der Meta-Datenbank „Pubmed“ der „National Library of Medicine (Nationale Datenbank der Medizin)“ ergab zur Cytosin-, Cytidin- und CMP-Konzentration im Nabelschnurblut keine Ergebnisse.

#### 4.3.1 Diskussion der Ausreißer

Die gemessenen Konzentrationen, die oberhalb der 97,5 % Quantile lagen, wurden in dieser Studie als Ausreißer bezeichnet. Das Gestationsalter der Probanden mit abweichenden Werten reichte von der 24. Bis zur 41. SSW. Die Probanden mit der ID 5, 120, 146, 148, 153, 173 zeigten bei mindestens drei der gemessenen Mikronährstoffe stark erhöhte Konzentrationen. Diese Probanden

zeigten neben den kardiopulmonalen und intestinalen üblichen Adaptationsstörungen keine besonderen Stoffwechselerkrankungen. Die Probenverarbeitung und die Verarbeitungsdauer entsprachen ebenfalls dem festgelegten Standard. Hypoxanthin und AMP wurden in einigen Studien als Azidose- und Hypoxämieparameter herangezogen. Es zeigten sich bei durch Sauerstoffunterversorgung gestressten Neugeborenen höhere Konzentrationen an Hypoxanthin im arteriellen Nabelschnurblut mit einem Mittelwert von  $19,8 \pm 3,5 \mu\text{mol/L}$  (Lipp-Zwahlen et al., 1983). Die gemessenen Ausreißer mit  $88,02 \mu\text{mol/L}$  und  $232,86 \mu\text{mol/L}$  könnten demnach durch eine Hypoxämie oder Azidose erklärt werden, da die Probanden postnatal erhöhte Laktatkonzentrationen im Blut aufwiesen (ID146: pH:7,1, Laktat: 5,7 mmol/L; ID173: pH:7,1, Laktat: 8,0 mmol/L). Auffällig erschien der Proband mit der ID146, bei dem in zehn Fällen nach oben abweichenden Konzentrationen zu beobachten waren. Dieser Proband war mit einem Gewicht von 980 g in der 28. SSW per Kaiserschnitt aufgrund eines pathologischen CTG bei Fetofetalem Transfusionssyndrom geboren worden und zeigte im klinischen Verlauf eine perinatale Azidose (Laktat: 5,7 mmol/L), ein Atemnotsyndrom und eine Anämie. Ein Erklärungsansatz könnte das Fetofetale Transfusionssyndrom darstellen. Als Donor zeigte der Proband 146 eine Hypovolämie, Oligurie und Anämie. Insbesondere die Anämie und Hypovolämie könnten in diesem Fall zu prä- und perinatalem Stress und dadurch Einfluss auf die Purin- und Pyrimidinkonzentrationen geführt haben.

#### 4.4 Methodendiskussion

Die Blutentnahme aus der Nabelschnur zeigte sich in dieser Studie als eine gute Methode der Probengewinnung, da keine zusätzliche Blutentnahme verbunden mit einem Nadelstich und einem Blutverlust für das Neugeborene notwendig war. Die Aufklärung der Eltern fand in den ersten Lebenstagen des Kindes statt, sodass die Eltern die Möglichkeit hatten, sich von der Geburt zu erholen, und sich unabhängig und fundiert für oder gegen die Studienteilnahme entscheiden konnten. Die hohe Einverständnisquote von 94,8 % sprach für diese

Vorgehensweise. Gründe für eine Ablehnung der Studienteilnahme lagen in der bereits geleisteten Zustimmung zur Teilnahme an anderen Studien der Abteilung, der Angst um das klinische Wohl des Kindes oder in mangelnden Sprachkenntnissen. Ein Grund für die erhöhten Kaiserschnittraten war insbesondere in der Gruppe der Reifgeborenen die Selektion durch das Studiendesign. Aufgrund der Planbarkeit der Probenentnahme wurden bei den reifgeborenen Neugeborenen mehr Proben bei geplanten Sectiones gesammelt als bei Spontangeburt. Die operative Entbindung der Frühgeborenen mit niedrigem Gestationsalter stellte zudem ein geringeres Geburtsrisiko dar und überlag daher prozentual deutlich in den Studiengruppen der Frühgeborenen. Die „Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. (DGGG)“ empfiehlt in ihrer Leitlinie 015069 / 2008 bei drohenden oder medizinisch indizierten Frühgeburten ab 24 0/7 bis 33 6/7 Schwangerschaftswochen eine antenatale Kortikosteroidtherapie zur Lungenreifeinduktion durchzuführen (Dudenhausen, 2008). Die hohe Anzahl an durchgeführten Kortikoidtherapien entspricht der leitlinienkonformen Behandlung bei drohender Frühgeburt.

Die größte Limitation der Interpretation dieser Studie zeigte sich in dem hohen Anteil an Messergebnissen unter der Nachweisgrenze. Um weitere Erkenntnisse zu erlangen muss die Messmethodik an sich verfeinert und die Substratauswahl reevaluiert werden.

Tabelle 13: Anteil der Messwerte über der Nachweisgrenze in Prozent abhängig vom Mikronährstoff

<b>Pyrimidine und Derivate</b>	<b>Messwerte über der Nachweisgrenze</b>	<b>Purine und Derivate</b>	<b>Messwerte über der Nachweisgrenze</b>
Cytosin	57,06 %	Adenosin	24,8%
Cytidin	72,55%	Adenin	5,23%
CMP	19,6%	AMP	86,93%
Uracil	6,54%	Hypoxanthin	100%
Uridin	100%	Xanthin	46,41%
UMP	3,6%	Inosin	36%
Thymin	0%	IMP	4,6%
Thymidin	0,65%	Guanosin	20,6%
TMP	0%	Guanin	5,03%
		GMP	16,3%

Für die Konzentrationsbestimmung von Purinen und Pyrimidinen bei menschlichen Feten lagen wenige Daten vor. Für einige Nucleoside/ Nucleotide, wie Hypoxanthin, AMP und Uridin wurden bereits Messungen in Nabelschnurblut durchgeführt (Lipp-Zwahlen et al., 1983, Porter et al., 1992). Kuo-Yu Liao et al. bestimmte in der Muttermilch von Taiwanerinnen die Konzentration von freien Nucleosiden mit einem Mittelwert von  $16,38 \pm 7,11 \mu\text{mol/L}$  und von freien Nucleotiden mit  $213,15 \pm 73,26 \mu\text{mol/L}$ . In der Muttermilch waren folgende Purine und Pyrimidine detektierbar: CMP, CDP, UMP, AMP, GMP, IMP, Cytidin, Uridin, Adenosin, Guanosin und Inosin (Liao et al., 2011). Purine werden im Körper zu Harnsäure metabolisiert und anschließend mit dem Urin ausgeschieden. Aufgrund dieser Metabolisierung könnte die Bestimmung der Harnsäure im Urin potenziell Hinweise auf die Versorgung mit Purinen liefern (Maiuolo et al., 2016). Ein weiteres denkbare Probenmedium stellt die Amnionflüssigkeit dar, die den Fetus während der Schwangerschaft umgibt. Die kindliche Haut, Lungen, Nieren und Nabelschnur produzieren einen Teil der Flüssigkeit und der ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte. O'Connor et al. führten die Bestimmung von Purinkonzentrationen (Hypoxanthin, Xanthin und Uridin) in perinatal

gewonnen Fruchtwasserproben durch (O'Connor et al., 1981). In den mit Mekonium verschmutzten Fruchtwasserproben fanden sich in dieser Studie hoch signifikant erhöhte Konzentrationen an Hypoxanthin, Xanthin und Uridin, die nicht durch die Purine im Mekonium selbst erklärbar waren. Begründet wurden diese erhöhten Konzentrationen mit einer Umverteilung der Purine in den Extrazellularraum und die nachfolgende Ausscheidung über den Urin, wenn die Zellen einem Sauerstoffmangel ausgesetzt waren.



## 5 Zusammenfassung

8,64 % aller Neugeborenen sind Frühgeborene, also Kinder, die vor der 37. SSW geboren wurden. Verschiedene Risiken, wie mütterliche Erkrankungen, intrauterine Infektionen, aber auch der vermehrte Einsatz der Reproduktionsmedizin werden als Ursache für steigende Raten von Frühgeburten genannt. Auch soziale Einflüsse und Stress sollen das Risiko beeinflussen. Je kleiner das Frühgeborene ist, desto höher sind die Belastungen für das Kind und deren Angehörige auf verschiedenen Ebenen. Mehrere Organsysteme müssen sich zu einem unphysiologisch frühen Entwicklungsstadium an die extrauterinen Umstände adaptieren. Um das Auftreten akuter und chronischer Krankheitsverläufe zu vermeiden, wird unter anderem eine ausreichende und individuelle Ernährung empfohlen. Muttermilch wird für Reifgeborene als optimale Nahrung in den ersten Lebensmonaten angesehen. Formula Nahrungen orientieren sich an deren Zusammensetzung. Ob nach heutigen Standards supplementierte Frauenmilch oder heutige Frühgeborenen Formulanahrung eine ausreichende Versorgung mit allen Nährstoffen sicherstellt, ist nicht vollständig geklärt. Purine und Pyrimidine gehören zu den Mikronährstoffen und sind an essenziellen biochemischen Prozessen und an der physiologischen Entwicklung des menschlichen Körpers beteiligt. In-vitro-Forschungen und Tierexperimente zeigten bei Supplementierung mit Nucleosiden und Nucleotiden insbesondere bei wachstumsretardierten Probanden Vorteile wie eine Steigerung der Leukozyten- und Granulozytenanzahl, eine ausgeprägtere Produktion der Enzyme und der Mikrovilli im Darmsystem und zudem ein Ausgleich des Wachstumsdefizits. In dieser Dissertation wurden die Konzentrationen der Purine und Pyrimidine sowie deren Derivate und Monophosphate im Nabelschnurblut Früh- und Neugeborener untersucht. Die minimal detektierbare Konzentrationen lagen zwischen 0,1  $\mu\text{mol/L}$  und 3,0  $\mu\text{mol/L}$ . Anhand eines Lagerungstests wurde die Bearbeitungshöchstdauer der Nabelschnurblutproben, die in die Studie einbezogen wurden, auf 120 Minuten festgelegt. In dieser Studie lagen ein Großteil der Konzentrationen der Purine und Pyrimidine unterhalb der Nachweisgrenze. Die Konzentrationen von Thymin, Thymidin und TMP lagen bis

auf eine Ausnahme unterhalb der Nachweisgrenze. Die Konzentrationen von Cytosin, Uracil, Adenin, Guanin, Xanthin, Adenosin, Inosin, Guanosin, Cmp, UMP, GMP und IMP waren nur bei wenigen Probanden nachweisbar (siehe Tabelle 12). Uridin, Hypoxanthin, AMP und Cytidin zeigten in über 70% Konzentrationen über der Nachweisgrenze.

Die Konzentrationen von Cytosin, Hypoxanthin, Cytidin, Uridin, Inosin und AMP zeigten eine signifikante negative Korrelation mit dem Gestationsalter wobei die Konzentrationen im Nabelschnurblut abnahmen. Die Konzentrationen von Xanthin, Adenosin und UMP zeigten keine Korrelation mit dem Gestationsalter. Uracil, Adenin, Guanin, Guanosin, CMP, UMP, GMP und IMP zeigten eine Korrelation mit dem Gestationsalter, die Interpretation des Spearmankoeffizient war aufgrund der geringen Anzahl von Messwerten über der Nachweisgrenze eingeschränkt. Die kumulativen Konzentrationen der Purine, Pyrimidine und Monophosphate zeigten signifikante negative Korrelationen mit dem Gestationsalter.

Eine Limitation stellte die verwendete Messmethode dar. Bei 15 der 19 gemessenen Mikronährstoffe waren mehr als 50 % der Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze. Nur die Konzentrationen von Hypoxanthin und Uridin konnten bei allen Probanden gemessen werden. Die aktuelle Studienlage befasste sich überwiegend mit der Korrelation der Purin- und Pyrimidinkonzentration in Abhängigkeit des perinatalen oxydativen Stresses und der damit verbundenen Azidose und Asphyxie. Um weitere klinische Rückschlüsse aus den Nabelschnurblutproben ziehen zu können, müsste die Messmethode verfeinert werden oder ein anderes Probenmaterial (beispielsweise Urin oder Fruchtwasser) für die Konzentrationsbestimmung verwendet werden. Diese Arbeit zeigt vor allem die Notwendigkeit für weitere Studien zum besseren Verständnis der Versorgung mit Purinen und Pyrimidinen in utero und postnatal.

## 6 Literaturverzeichnis

- ARCH, J. R. & NEWSHOLME, E. A. 1978. The control of the metabolism and the hormonal role of adenosine. *Essays Biochem*, 14, 82-123.
- ARSLANOGLU, S., MORO, G. E. & ZIEGLER, E. E. 2006. Adjustable fortification of human milk fed to preterm infants: does it make a difference? *J Perinatol*, 26, 614-621.
- BHAT, B. A. & GUPTA, B. 2003. Effects of human milk fortification on morbidity factors in very low birth weight infants. *Ann Saudi Med*, 23, 28-31.
- BIESALSKI, H. K. 2015. *Mikronährstoffe als Motor der Evolution*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- BIESALSKI, H. K. & GRIMM, P. 2015. *Taschenatlas Ernährung*, Georg Thieme Verlag KG.
- BLENCOWE, H., COUSENS, S., CHOU, D., OESTERGAARD, M., SAY, L., MOLLER, A. B., KINNEY, M. & LAWN, J. 2013. Born Too Soon: The global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod Health*, 10, S2.
- CACHO, N. T. & LAWRENCE, R. M. 2017. Innate Immunity and Breast Milk. *Front Immunol*, 8.
- CHE, L., HU, L., LIU, Y., YAN, C., PENG, X., XU, Q., WANG, R., CHENG, Y., CHEN, H., FANG, Z., LIN, Y., XU, S., FENG, B., CHEN, D. & WU, D. 2016. Dietary Nucleotides Supplementation Improves the Intestinal Development and Immune Function of Neonates with Intra-Uterine Growth Restriction in a Pig Model. *PLoS One*, 11, e0157314.
- DESTATIS, S. B. 2017. *Bevölkerung - Geburten. Durchschnittliches Alter der Mutter bei der Geburt ihrer lebend geborenen Kinder in Deutschland von 2011 bis 2015* [Online]. Destatis, Statistisches Bundesamt. Available: <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Bevoelkerung/Geburten/Tabellen/GeburtenMutteralter.html> [Accessed 18.9.2017].
- DUDENHAUSEN, G., HACKELÖER, SCHNEIDER, VETTER. 2008. *ANTENATALE KORTIKOSTEROIDE ZUR LUNGENREIFUNG (ACS) - 015069* [Online]. DGGG-Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. Available: [https://www.dggg.de/fileadmin/documents/leitlinien/archiviert/federfuehrend/015069\\_Antenatale\\_Kortikosteroide\\_zur\\_Lungenreifung\\_ACS/015069\\_2008.pdf](https://www.dggg.de/fileadmin/documents/leitlinien/archiviert/federfuehrend/015069_Antenatale_Kortikosteroide_zur_Lungenreifung_ACS/015069_2008.pdf) [Accessed].
- EICHENWALD, E. C. & STARK, A. R. 2008. Management and outcomes of very low birth weight. *N Engl J Med*, 358, 1700-11.
- FLEMMER, R. F. M., H. HUMMLER. 2013. *Leitlinien der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin Behandlung der neonatalen Asphyxie unter besonderer Berücksichtigung der therapeutischen Hypothermie* [Online]. AWMF online - Das Portal der wissenschaftlichen Medizin. Available: [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/024-023l\\_S2k\\_Behandlung\\_der\\_neonatalen\\_Aphyxie\\_unter\\_besonderer\\_Ber%C3%BCcksichtigung\\_der\\_therapeutischen\\_Hypothermie\\_2013-06-abgelaufen.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-023l_S2k_Behandlung_der_neonatalen_Aphyxie_unter_besonderer_Ber%C3%BCcksichtigung_der_therapeutischen_Hypothermie_2013-06-abgelaufen.pdf) [Accessed].

- GARTNER, L. M., MORTON, J., LAWRENCE, R. A., NAYLOR, A. J., O'HARE, D., SCHANLER, R. J. & EIDELMAN, A. I. 2005. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*, 115, 496-506.
- GEMEINSAMER-BUNDESAUSSCHUSS 2016. Bekanntmachung eines Beschlusses des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Richtlinien über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung („Mutterschafts-Richtlinien“): . *Bundesanzeiger AT*
- GILSTRAP, L. C., 3RD, LEVENO, K. J., BURRIS, J., WILLIAMS, M. L. & LITTLE, B. B. 1989. Diagnosis of birth asphyxia on the basis of fetal pH, Apgar score, and newborn cerebral dysfunction. *Am J Obstet Gynecol*, 161, 825-30.
- GOLDHABER, S. Z., POHOST, G. M., KLONER, R. A., ANDREWS, E., NEWELL, J. B. & INGWALL, J. S. 1982. Inosine: a protective agent in an organ culture model of myocardial ischemia. *Circ Res*, 51, 181-8.
- GRAHAM, E. M., RUIS, K. A., HARTMAN, A. L., NORTHINGTON, F. J. & FOX, H. E. 2008. A systematic review of the role of intrapartum hypoxia-ischemia in the causation of neonatal encephalopathy. *Am J Obstet Gynecol*, 199, 587-95.
- GRAVES, B. W. & HALEY, M. M. 2013. Newborn transition. *J Midwifery Womens Health*, 58, 662-70.
- GRIFFITHS, M., YAO, S. Y., ABIDI, F., PHILLIPS, S. E., CASS, C. E., YOUNG, J. D. & BALDWIN, S. A. 1997. Molecular cloning and characterization of a nitrobenzylthioinosine-insensitive (ei) equilibrative nucleoside transporter from human placenta. *Biochem J*, 328 ( Pt 3), 739-43.
- HALAWA, S., MCDERMOTT, L., DONATI, M. & DENBOW, M. 2014. TORCH screening in pregnancy. Where are we now? An audit of use in a tertiary level centre. *J Obstet Gynaecol*, 34, 309-12.
- HARKNESS, R. A. 1988. Hypoxanthine, xanthine and uridine in body fluids, indicators of ATP depletion. *J Chromatogr*, 429, 255-78.
- HÄRTEL, C. & HERTING, E. 2010. Nachsorge von Frühgeborenen. *Pädiatrische Praxis*, 75, 3-20.
- HAWKES, J. S., GIBSON, R. A., ROBERTON, D. & MAKRIDES, M. 2006. Effect of dietary nucleotide supplementation on growth and immune function in term infants: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*, 60, 254-64.
- HAY, W. W., JR. 2008. Strategies for feeding the preterm infant. *Neonatology*, 94, 245-54.
- HAY, W. W. & THUREEN, P. 2010. Protein for preterm infants: how much is needed? How much is enough? How much is too much? *Pediatr Neonatol*, 51, 198-207.
- HEINRICH, P. C., MÜLLER, M. & GRAEVE, L. 2014. *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- HICK, C. & HICK, A. 2013. *mediskript: Kurzlehrbuch Physiologie*, Elsevier Health Science.
- HILLMAN, N., KALLAPUR, S. G. & JOBE, A. 2012. Physiology of Transition from intrauterine to Extrauterine Life. *Clin Perinatol*, 39, 769-83.

- HÜBLER, A. & JORCH, G. 2010. *Neonatologie: Die Medizin des Früh- und Reifgeborenen*, Georg Thieme Verlag KG.
- HYLANDER, M. A., STROBINO, D. M. & DHANIREDDY, R. 1998. Human milk feedings and infection among very low birth weight infants. *Pediatrics*, 102, E38.
- IQTIG. 2017. *Bundesauwertung zum Erfassungsjahr 2016 Geburtshilfe* [Online]. [https://iqtig.org/downloads/auswertung/2016/16n1gebh/QSKH\\_16n1-GEBH\\_2016\\_BUAW\\_V02\\_2017-07-12.pdf](https://iqtig.org/downloads/auswertung/2016/16n1gebh/QSKH_16n1-GEBH_2016_BUAW_V02_2017-07-12.pdf): Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen Berlin [Accessed 07.08.2019].
- IRESTEDT, L., DAHLIN, I., HERTZBERG, T., SOLLEVI, A. & LAGERCRANTZ, H. 1989. Adenosine concentration in umbilical cord blood of newborn infants after vaginal delivery and cesarean section. *Pediatr Res*, 26, 106-8.
- ISAACS, E. B., FISCHL, B. R., QUINN, B. T., CHONG, W. K., GADIAN, D. G. & LUCAS, A. 2010. Impact of breast milk on IQ, brain size and white matter development. *Pediatr Res*, 67, 357-62.
- JANAS, L. M. & PICCIANO, M. F. 1982. The nucleotide profile of human milk. *Pediatr Res*, 16, 659-62.
- LERNER, A. & SHAMIR, R. 2000. Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. *Isr Med Assoc J*, 2, 772-4.
- LIAO, K. Y., WU, T. C., HUANG, C. F., LIN, C. C., HUANG, I. F. & WU, L. 2011. Profile of nucleotides and nucleosides in Taiwanese human milk. *Pediatr Neonatol*, 52, 93-7.
- LIPP-ZWAHLEN, A. E., TUCHSCHMID, P., SILBERSCHMIDT, M. & DUC, G. 1983. Arterial cord blood hypoxanthine: a measure of intrauterine hypoxia? *Biol Neonate*, 44, 193-202.
- NESTLÉ BABYSERVICE FRANKFURT; PERSÖNLICHE MAIL VON DZIARSKI, R. 2019. Nestlé BEBA OPTIPRO Pre. [babyservice@nestle.de](mailto:babyservice@nestle.de): Nestlé Babyservice - Frankfurt.
- O'CONNOR, M. C., HARKNESS, R. A., SIMMONDS, R. J. & HYTTEN, F. E. 1981. Raised hypoxanthine, xanthine and uridine concentrations in meconium stained amniotic fluid and during labour. *Br J Obstet Gynaecol*, 88, 375-80.
- PAULS, J., BAUER, K. & VERSMOLD, H. 1998. Postnatal body weight curves for infants below 1000 g birth weight receiving early enteral and parenteral nutrition. *Eur J Pediatr*, 157, 416-21.
- PICAUD, J. C. 2003. Formula-fed preterm neonates. *Minerva Pediatr*, 55, 217-29.
- QUINN, J. A., MUNOZ, F. M., GONIK, B., FRAU, L., CUTLAND, C., MALLETT-MOORE, T., KISSOU, A., WITTKE, F., DAS, M., NUNES, T., PYE, S., WATSON, W., RAMOS, A. M. A., CORDERO, J. F., HUANG, W. T., KOCHHAR, S. & BUTTERY, J. 2016. Preterm birth: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunisation safety data. *Vaccine*, 34, 6047-56.
- RASSOW, J., HAUSER, K., NETZKER, R. & DEUTZMANN, R. 2008. *Duale Reihe Biochemie*, Georg Thieme Verlag KG.

- RIGO, J., DE CURTIS, M. & PIELTAIN, C. 2001. Nutritional assessment in preterm infants with special reference to body composition. *Semin Neonatol*, 6, 383-91.
- SCHRADER, J., BAUMANN, G. & GERLACH, E. 1977. Adenosine as inhibitor of myocardial effects of catecholamines. *Pflugers Arch*, 372, 29-35.
- SHAH, P. S., SHAH, V., QIU, Z., OHLSSON, A. & LEE, S. K. 2005. Improved outcomes of outborn preterm infants if admitted to perinatal centers versus freestanding pediatric hospitals. *J Pediatr*, 146, 626-31.
- STEGMANN, B. J. & CAREY, J. C. 2002. TORCH Infections. Toxoplasmosis, Other (syphilis, varicella-zoster, parvovirus B19), Rubella, Cytomegalovirus (CMV), and Herpes infections. *Curr Womens Health Rep*, 2, 253-8.
- SUGAWARA, M., SATO, N., NAKANO, T., IDOTA, T. & NAKAJIMA, I. 1995. Profile of nucleotides and nucleosides of human milk. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 41, 409-18.
- TCHAMO, M. E., PRISTA, A. & LEANDRO, C. G. 2016. Low birth weight, very low birth weight and extremely low birth weight in African children aged between 0 and 5 years old: a systematic review. *J Dev Orig Health Dis*, 7, 408-15.
- VALENTINE, C. J., HURST, N. M. & SCHANLER, R. J. 1994. Hindmilk improves weight gain in low-birth-weight infants fed human milk. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 18, 474-7.
- VOHR, B. R., WRIGHT, L. L., DUSICK, A. M., PERRITT, R., POOLE, W. K., TYSON, J. E., STEICHEN, J. J., BAUER, C. R., WILSON-COSTELLO, D. E. & MAYES, L. C. 2004. Center differences and outcomes of extremely low birth weight infants. *Pediatrics*, 113, 781-9.
- VOIGT, M., SCHNEIDER, K. T. & JAHRIG, K. 1996. [Analysis of a 1992 birth sample in Germany. 1: New percentile values of the body weight of newborn infants]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 56, 550-8.
- WINKLER, C. L., HAUTH, J. C., TUCKER, J. M., OWEN, J. & BRUMFIELD, C. G. 1991. Neonatal complications at term as related to the degree of umbilical artery acidemia. *Am J Obstet Gynecol*, 164, 637-41.
- WOOD, N. S., MARLOW, N., COSTELOE, K., GIBSON, A. T. & WILKINSON, A. R. 2000. Neurologic and developmental disability after extremely preterm birth. EPICure Study Group. *N Engl J Med*, 343, 378-84.
- WRIGHT, A. L., HOLBERG, C. J., MARTINEZ, F. D., MORGAN, W. J. & TAUSSIG, L. M. 1989. Breast feeding and lower respiratory tract illness in the first year of life. Group Health Medical Associates. *Bmj*, 299, 946-9.
- YU, V. Y. 2002. Scientific rationale and benefits of nucleotide supplementation of infant formula. *J Paediatr Child Health*, 38, 543-9.

## 7 Anhang

### 7.1 Aufklärungsbogen

**Ansprechpartner**

Dr. med. Katrin Böckmann  
Abt. Kinderheilkunde IV Neonatologie  
Calwerstr. 7  
72076 Tübingen  
Tel.: 29-82621 (Pforte UFK)  
Fax: 29-3969 (Sekretariat Neonatologie)  
[katrin.boeckmann@med.uni-tuebingen.de](mailto:katrin.boeckmann@med.uni-tuebingen.de)  
Prof. Dr. med. Axel Franz  
Leitung CPCS und Ressort II – Planung  
Calwerstraße 7/1  
72076 Tübingen  
Telefon 07071/29 83 791  
Fax: 07071/29 59 23  
[axel.franz@med.uni-tuebingen.de](mailto:axel.franz@med.uni-tuebingen.de)

## Beobachtungsstudie zur Versorgung Reif- und Frühgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen

### Information für die Sorgeberechtigten

(Version 2.0 - 15.02.2017)

Liebe Eltern und Sorgeberechtigte,

wir möchten Sie bitten, Ihr Neugeborenes an einer Beobachtungsstudie teilnehmen zu lassen. Die folgenden Seiten sollen Sie eingehend über die geplante Studie informieren und Ihnen helfen, die Entscheidung über die Teilnahme Ihres Kindes zu treffen.

Die Abteilung Neonatologie der Universitäts-Kinderklinik Tübingen führt eine Untersuchung zur Versorgung von Neugeborenen und insbesondere Frühgeborenen mit bestimmten Nährstoffen durch, die für die normale Entwicklung notwendig sind und bisher bei der Ernährung Frühgeborener unzureichend beachtet wurden.

Die Untersuchung soll helfen, eine unzureichende Versorgung von Neu- und insbesondere Frühgeborenen zu erkennen und ggf. durch Anreicherung der Nahrung zukünftig zu vermeiden. Dies ist wichtig, da eine Mangelversorgung zu Entwicklungsstörungen der Kinder beitragen könnte.

Im Mittelpunkt der Untersuchung stehen zunächst die Mikronährstoffe Pyrimidine und Purine, welche im Nabelschnurblut, im Blut der Kinder und Mütter sowie in Muttermilch bestimmt werden sollen.

Pyrimidine und Purine sind Grundbausteine des Erbgutes und sind außerdem an der Aktivierung von Stoffwechselprozessen beteiligt. Sie scheinen das Wachstum, die Darmflora und das Immunsystem positiv zu beeinflussen. Nukleotide sind in Muttermilch und in geringerem Maße schon heute in Neu- und Frühgeborenen Ersatznahrung enthalten.



Ziele dieser Untersuchung sind:

- 1) die Konzentrationen dieser Stoffe im Nabelschnurblut zu bestimmen, um so etwas über die vorgeburtliche Versorgung über die Mutter zu erfahren, die als Vorbild für die nachgeburtliche Versorgung gelten mag.
- 2) die Konzentrationen dieser Stoffe in Restblutmengen von klinisch notwendigen Blutentnahmen bei Früh- und Neugeborenen (die sonst im Labor verworfen werden) zu bestimmen.  
Der Vergleich dieser Konzentrationen soll uns zeigen, ob die gegenwärtige Ernährung Frühgeborener ebenso gut ist, wie die im Mutterleib.
- 3) Durch die Messung der Nährstoffkonzentration in der Muttermilch Informationen zu der tatsächlichen Versorgung der Früh- und Neugeborenen mit diesen Nährstoffen zu erheben.
- 4) Durch die Messung der Nährstoffkonzentrationen im Blut der Mutter zusätzliche Informationen zur vorgeburtlichen Versorgung zu erlangen.

### **Wer kann teilnehmen?**

Mütter (und deren Kinder), die an der Universitätsfrauenklinik entbinden, werden gebeten an dieser Studie teilzunehmen.

### **Was passiert in der Studie?**

Beim Kind werden **keine** studienbedingten Blutentnahmen durchgeführt, sondern nur Restblutmengen verwendet, die sonst weggeworfen werden würden: Dies sind:

- 1.) Nabelschnurblutreste, die sonst nach der Geburt mit der Plazenta weggeworfen worden wären und
- 2.) Blutreste von ggf. behandlungsbedingt notwendigen Blutentnahmen (diese werden sonst vom Labor verworfen).

Wir bitten Sie außerdem, solange ihr Kind in der Klinik ist, an einem Tag pro Woche 1 ml Muttermilch pro Mahlzeit des Kindes für bis zu 8 Wochen nach der Geburt Ihres Kindes abzugeben.

Zusätzlich bitten wir Sie darum Restblutmengen von Ihnen (die 24 vor oder nach der Geburt abgenommen wurden) verwenden zu dürfen oder falls dies nicht vorhanden ist einmalig bei Ihnen Blut abnehmen zu dürfen.

Die Teilnahme ist somit mit keinerlei Belastung oder Risiko für Ihr Kind verbunden. Bei Ihnen erfolgt falls keine Restblutmengen vorhanden sind und Sie gesondert zustimmen lediglich eine Blutentnahme (maximal 2,4 ml). Komplikationen sind hierbei extrem selten. Selten treten Blutergüsse und Infektionen im Bereich der Einstichstelle auf. Stärkere Blutungen infolge einer Verletzung von Blutgefäßen, die einer Behandlung bedürfen, sowie vorübergehende oder bleibende Nervenschäden (z.B. Missempfindungen, Berührungsempfindlichkeit, Taubheitsgefühl, Bewegungsstörungen, Schmerzen) sind selten. Infektionen, die zu einer lebensgefährlichen Blutvergiftung (Sepsis) führen, und chronische Schmerzen oder bleibende Lähmungen nach Nervenverletzung, Blutergüssen oder Entzündungen sind extrem selten.

In Nabelschnurblut, Restblutmengen, Blut der Mutter und Muttermilch sollen die Konzentrationen von Pyrimidinen und Purinen, sowie in Zukunft eventuell weiterer Mikronährstoffe, die für die Ernährung und die Entwicklung Früh- und Neugeborener

zukünftig wichtig erscheinen, untersucht werden. Es werden keine genetischen Untersuchungen durchgeführt.

Verbleibende Blut-/Plasma- und Muttermilchproben sollen maximal 10 Jahre im Labor der Neonatologie aufbewahrt werden.

Um die chemischen Untersuchungsergebnisse verstehen und einordnen zu können, müssen sie mit den klinischen Daten von Ihnen und Ihrem Kind verglichen werden. Diese Daten werden pseudonymisiert (also ohne Namen und ohne Adresse nur mit einer Studiennummer codiert) auf einem Passwort geschützten Laufwerk des Universitätsklinikums Tübingen (UKT) gespeichert.

Eine Liste, die eine nachträgliche Zuordnung der Daten ermöglicht, wird getrennt von den klinischen Daten, ebenfalls ausschließlich auf einem Passwort-geschützten Laufwerk eines UKT-Servers gespeichert. Nur an der Studie arbeitendes Personal des UKT, das der Schweigepflicht unterliegt, wird Zugang zu den Daten haben.

Die pseudonymisierten klinischen Daten und Untersuchungsergebnisse werden für mindestens 10 Jahre unter Verschluss aufbewahrt. Eine Weitergabe oder Veröffentlichung der Forschungsergebnisse erfolgt nur anonym, d. h. es sind dann keinerlei Rückschlüsse auf die Identität der Studienteilnehmer möglich.

#### ***Besteht ein Nutzen für die Studienteilnehmer?***

Nein, die Studienteilnehmer werden selbst nicht direkt von der Teilnahme an der Studie profitieren.

#### **Möglicher Nutzen für zukünftige Patienten**

Studie bietet die Chance, die Ernährung und damit möglicherweise die Entwicklung neugeborener und insbesondere frühgeborener Kinder zu verbessern.

#### **Die Studie wurde genau geprüft und bewilligt**

Die Ethikkommission hat das Studienprotokoll und diese Informationsmaterialien geprüft und die Prüfärzte berufsrechtlich beraten.

#### **Die Teilnahme an dieser Studie ist selbstverständlich freiwillig.**

Sie werden gebeten, eine Einwilligungserklärung zu unterzeichnen und damit auch zu bestätigen, dass Sie vollständig über die Studie informiert wurden und deren Zielsetzung verstehen. Sollten Sie die Teilnahme an der Studie ablehnen, so werden weder Sie noch Ihr Kind davon einen Nachteil haben. Auch würde diese Entscheidung keinen Einfluss auf Ihr Verhältnis zum Arzt Ihres Kindes oder dem Pflegepersonal haben. Ihr Kind wird weiterhin die bestmögliche Therapie erhalten.

#### **Sie können jederzeit die Studie verlassen**

Auch wenn Sie zugestimmt haben, dass Ihr Kind an dieser Studie teilnehmen darf, so können Sie trotzdem jederzeit Ihre Zustimmung ohne Angabe von Gründen zurückziehen. Diese Entscheidung würde keine Nachteile auf die Behandlung Ihres Kindes oder auf Ihre eigene Beziehung zum Pflegepersonal und den Ärzten haben. In diesem Fall würden die Daten gelöscht und die gesammelten Blutproben vernichtet. Sie werden über die Studienergebnisse informiert. Bei Änderungen bezüglich der Studie werden Sie erneut um Ihre Zustimmung gebeten.

### **Weitere Fragen**

Sollten Sie weitere Fragen bezüglich der Studie haben, so wenden Sie sich bitte jederzeit an uns, die Ihr Kind betreuenden lokalen Prüfärzte:

Dr. Katrin Böckmann

Prof. Dr. Axel Franz

Prof. Dr. Christian F. Poets

Universitäts-Kinderklinik Tübingen  
Abt. Neonatologie, Calwerstraße 7, 72076 Tübingen

## 7.2 Einverständniserklärung

# Einwilligungserklärung zur Studienteilnahme und Erklärung zum Datenschutz

an der klinischen Studie mit dem Titel

## Beobachtungsstudie zur Versorgung Reif- und Frühgeborener mit ausgewählten Mikronährstoffen

(Version 2.0 – 15.02.2017)

Ich, die Mutter von \_\_\_\_\_  
(Name des Patienten in Blockschrift)

erkläre:

1. dass ich die Elterninformation zur Durchführung der o.g. Studie gelesen haben und die Möglichkeit hatten Fragen zu besprechen,
2. dass ich über die Ziele, die Dauer und den Ablauf der Studie aufgeklärt wurden, und dass die Studie nicht mit zusätzlichen Risiken für mein Kind verbunden ist,
3. dass darüber informiert wurde, dass die Teilnahme an der Untersuchung vollkommen freiwillig ist und dass das Einverständnis jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile widerrufen werden kann,
4. dass ich über den Umgang mit den erhobenen Daten informiert wurde, insbesondere, dass die Daten in pseudonymisierter Form (ohne Namen, nur mit Studiencode) min. 10 Jahre in der Kinderklinik Tübingen gespeichert werden und dass Veröffentlichungen der Daten grundsätzlich nur in anonymisierter Form erfolgen (das heißt, dass keine Angaben auf die Identität der untersuchten Patienten hindeuten).
5. dass ich über den Umgang mit den Proben (Blut und Muttermilch) informiert wurde, insbesondere, dass die Restproben ausschließlich zum Zweck der Untersuchung weiterer Mikronährstoffe bis zu 10 Jahre in der Kinderklinik Tübingen aufbewahrt und ggf. verwendet werden.

**Ich bin mit der Teilnahme meines Kindes an der Untersuchung einverstanden**

_____	_____	_____
(Datum)	(Name der Mutter)	(Unterschrift der Mutter)
_____	_____	_____
(Datum)	(aufklärender Arzt/med. Doktorand)	(Unterschrift des Arztes/med. Doktoranden)

Ich bin außerdem damit einverstanden, dass einmalig bei mir Blut abgenommen wird und wurde über die bestehenden Risiken, sowie über die Verwendung und Aufbewahrung der Blutproben aufgeklärt

_____	_____	_____
(Datum)	(Name der Mutter)	(Unterschrift der Mutter)
_____	_____	_____
(Datum)	(aufklärender Arzt/med. Doktorand)	(Unterschrift des Arztes/med. Doktoranden)

### 7.3 Basisbogen - Mikronährstoff-Studie

Basisbogen - Mikronährstoff- Studie

ID \_\_\_\_\_ Datum \_\_\_\_\_

Allgemein:

Patienten ID: \_\_\_\_\_ Geburtsuhrzeit: \_\_\_\_\_

Geburt:

Modus :

APGAR: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- spontan
- Sectio
- vaginale Operation

Nabelarterien pH \_\_\_\_\_

Gestationsalter: \_\_\_\_\_

Geburtsgewicht: \_\_\_\_\_ Länge: \_\_\_\_\_ Kopfumfang: \_\_\_\_\_

Mehrlinge:

- nein
- Zwillinge
- Drillinge
- Monochorial
- Dichorial
- Trichorial
- Sonstige \_\_\_\_\_
- Fetofetales Transfusionssyndrom
  - Donor
  - Akzeptor

Ursachen der Frühgeburtlichkeit:

- HELLP
- path. CTG
- Präeklampsie/EPH-Gestose
- Unhemmbare Wehentätigkeit
- V.a. Amnioninfektionssyndrom
- Wachstumsretardierung/path. Doppler
- Sonstiges \_\_\_\_\_

**Pränatale Therapie:**

Pränatale Steroide:

- Nein
- Ja

Unterschrift:

Seite 1 von 3

Angaben zur Mutter

Alter: \_\_\_\_\_

Gestationsdiabetes:

- Nein
- Ja
  - Diät
  - Insulin
  - Anderes Medikament

Nikotin in Stillzeit:

- Nein
- Ja

Vorerkrankungen der Mutter: \_\_\_\_\_

Medikamente der Mutter: \_\_\_\_\_

Essgewohnheiten der Mutter:

- Keine Einschränkungen
- Fisch
  - Ja
  - Nein
- Vegetarisch
  - Ovo-Lacto-Vegetarier ( kein Fisch und Fleisch)
  - Ovo-Vegetarier (+keine Milchprodukte)
  - Lacto-Vegetarier (+ keine Eier)
  - Pesco-Vegetarier (kein Fleisch aber Fisch)
- vegan
- Sonstiges: \_\_\_\_\_

Ernährungssupplementierung in Schwangerschaft:

- Jodiertes Speisesalz
- Jod Tabletten
- Folsäure
- Fembion 1
- Fembion 2
- Andere: \_\_\_\_\_
- andere Fischölpräparate
- Cholin
- Lecithin
- Neovin
- Neovin + DHA

Unterschrift:

Seite 2 von 3

Die Supplementierung wurde während der gesamten Schwangerschaft eingenommen:

- ja
- nein falls nein, wie lange: \_\_\_\_\_

Ernährungssupplementierung in der Stillzeit

- Jodiertes Speisesalz
- Jod Tabletten
- Folsäure
- Fembion 1
- Fembion 2
- Andere: \_\_\_\_\_
- andere Fischölpräparate
- Cholin
- Lecithin
- Neovin
- Neovin + DHA

Die Supplementierung wurde während der gesamten Stillzeit eingenommen:

- ja
- nein falls nein, wie lange: \_\_\_\_\_

Angaben zum Kind

Stoffwechselscreening:

- Unauffällig
- Auffällig genau: \_\_\_\_\_

Anus praeter

- Nein
- Ja
  - Datum Anlage \_\_\_\_\_
  - Datum Rückverlagerung \_\_\_\_\_

Entlassmaße: Entlassdatum: \_\_\_\_\_

Gewicht: \_\_\_\_\_ Länge: \_\_\_\_\_ Kopfumfang: \_\_\_\_\_

Unterschrift:

## 7.4 Laborbogen - Mikronährstoff-Studie

Allgemein:

Patienten ID: \_\_\_\_\_

Nabelschnur:

Nabelschnurblut eingefroren:

Datum \_\_\_\_\_ Uhrzeit \_\_\_\_\_

Mütterliches Blut

- Restprobe 24h vor Geburt
- Restprobe 24h nach Geburt
- Abgenommen

Datum Blutentnahme \_\_\_\_\_ Uhrzeit Blutentnahme \_\_\_\_\_

Datum eingefroren \_\_\_\_\_ Uhrzeit eingefroren \_\_\_\_\_

Muttermilch

Probennummer	Datum der MM	Datum MM eingefroren
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

Unterschrift:

Seite 1 von 1



## 8 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in der Universitätskinderklinik Tübingen Abteilung Neonatologie unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Axel Franz durchgeführt.

Die Studie wurde durch Herrn Prof. Dr. med. Axel Franz und Frau Dr. Katrin Böckmann konzipiert.

Sämtliche Proben- und Datengewinnungen erfolgten nach Einarbeitung durch Frau Dr. Böckmann von mir in Zusammenarbeit mit Frau Antonia von Stumpff.

Die Weiterverarbeitung der Purin- und Pyrimidinderivate erfolgte im Labor von Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. Wolfgang Bernhard, Arbeitsgruppe Lipidstoffwechsel und Entwicklungsphysiologie, mittels massenspektrometrischer Untersuchung.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 1.06.2021

---

Birte Kristin Frische

## Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertationsschrift beigetragen haben.

Herrn **Prof. Dr. Axel Franz** möchte ich für das interessante Thema meiner Dissertation und die allzeit gute Unterstützung und Betreuung danken.

Bei meiner Betreuerin Frau **Dr. Katrin Böckmann** bedanke ich mich für die Unterstützung und liebevolle Hilfe. Ich hatte in ihr immer eine kompetente, motivierte und zuverlässige Ansprechpartnerin.

Ich danke ebenfalls **Antonia von Stumpff**, die mir geholfen hat die Proben zu asservieren und die Probanden zu rekrutieren.

Für die Auswertung meiner Nabelschnurproben gilt mein Dank dem Labor von Herrn **Prof. Dr. Dr. Wolfgang Bernhard** und seiner Medizinisch-Technischen-Assistentin **Anna Shunova**.

Außerdem möchte ich mich bei allen Pflegekräften und ärztlichen Kollegen der **Abteilung Neonatologie Tübingen** für die gute Zusammenarbeit bedanken, die diese klinische Studie so ermöglicht hat.

Ein besonderer Dank gilt den Eltern der Probanden für das Vertrauen und die Teilnahme an der Studie.

Vielen Dank möchte ich auch meiner Familie und meinem Freund für die tatkräftige Unterstützung, den Zuspruch und die Motivation sagen. Insbesondere meine Eltern, **Christiane und Günter Frische**, haben immer an mich geglaubt, mich unterstützt und mir das Medizinstudium ermöglicht.