

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
des Universitätsklinikums Halle (Saale)
(Direktor: Prof. Dr. Körholz)

**Messung von Hydroperoxiden im Blut
von Reif- und Frühgeborenen.
Darstellung möglicher Einflussfaktoren
und Auswirkung auf die Morbidität**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

Vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin- Luther- Universität Halle Wittenberg

von Julia Braulke

geboren am 21.04.1981 in Hamburg

Betreuer: Prof. Dr. Körholz

Gutachter: 1. Prof. Dr. Körholz (Universität Halle)
2. Prof. Dr. Jorch (Universität Magdeburg)
3. Prof. Dr. Rüdiger (Universität Dresden)

01.02.2011
30.09.2011

Für meinen Bruder

Referat

In der Neonatologie hat der oxidative Stress besonders bei Frühgeborenen durch die Unreife des antioxidativen Schutzsystems und zusätzlicher Sauerstofftherapie eine große Bedeutung. Die bronchopulmonale Dysplasie, Retinopathia praematurorum und periventriculäre Leukomalazie werden als Folge des oxidativen Stress angesehen und unter dem Begriff „oxygen free radical diseases of prematurity“ zusammengefasst, um auf eine gemeinsame Genese der Erkrankungen aufmerksam zu machen.

Wir untersuchten Hydroperoxide (als Marker des oxidativen Stress) in der Perinatalperiode mit dem „Free oxygen radical monitor“ (FORM). Es nahmen 137 Reifgeborene und 84 Frühgeborene an der Untersuchung teil. 80% der gesunden Reifgeborenen zeigten am dritten Lebenstag eine Hydroperoxidbelastung von 56-184 FORT (10.-90.Perzentile). Geburtsgewicht und -größe, APGAR- Score und Geburtsmodus zeigten keinen Einfluß auf die Hydroperoxidbelastung.

Des Weiteren wurde die Wirkung von Sauerstoff auf die Hydroperoxidbelastung untersucht. Hierbei wurden unterschiedliche Gruppen von Neugeborenen in Art der Sauerstoffzufuhr (spontan, Atemhilfe, mechanische Beatmung), Höhe der Sauerstoffzufuhr ($F_iO_2 \geq 30\%$ vs. $F_iO_2 > 30\%$) und Sauerstoffkonzentration des Blutes ($pO_2 \leq 6kPa$ vs. $pO_2 > 6kPa$; $SaO_2 80-85\%$ vs. $SaO_2 85-93\%$ vs. $SaO_2 > 93\%$) verglichen. Hier konnten keine signifikanten Unterschiede in der Hydroperoxidbelastung verzeichnet werden.

In einem weiteren Schritt wurde der Einfluß der Hydroperoxidkonzentration bei Frühgeborenen in der ersten Lebenswoche auf die spätere Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie, Retinopathia praematurorum oder periventriculären Leukomalazie untersucht. Auch hier konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen oxidativen Stress und den genannten Erkrankungen gefunden werden.

In wie fern Bestimmungen von reaktiven Sauerstoffspezies in der Perinatalperiode eine sinnvolle Erweiterung in der Präventivdiagnostik von Risikokindern darstellen, muss in weiteren Studien untersucht werden.

Julia Braulke: Messung von Hydroperoxiden im Blut von Reif- und Frühgeborenen. Darstellung möglicher Einflussfaktoren und Auswirkung auf die Morbidität Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 54 Seiten, 2011

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1. Oxidativer Stress	1
1.2. Freie Radikale und antioxidative Mechanismen	1
1.3. Zelluläre Schädigung durch reaktive Sauerstoffspezies	4
1.3.1. Lipidperoxidation	
1.4. Oxidativer Stress bei Neugeborenen	5
1.4.1. Bronchopulmonale Dysplasie	
1.4.2. Retinopathia praematurorum	
1.4.3. Periventrikuläre Leukomalazie	

2. Zentrale Fragestellungen 12

3. Material und Methoden

3.1. Art, Ort, Zeitraum der Untersuchung	13
3.2. Ein- und Ausschlusskriterien	13
3.3. Patienten	13
3.3.1. Gestationsalter	
3.3.2. Zeitpunkt der Blutentnahme	
3.4. Arbeitsvorgang und Messverfahren	14
3.4.1. Messgerät und Reagenzien	
3.4.2. Testprinzip	
3.4.3. Arbeitsvorgang	
3.5. Untersuchte Parameter bei Reifgeborenen:	16
Geburtsmodus, Geburtsgewicht/-größe, APGAR- Score	
3.6. Untersuchte Parameter bei Früh- und Reifgeborenen	17
3.6.1. Art der Sauerstoffzufuhr	
3.7. Untersuchte Parameter bei Frühgeborenen	17
3.7.1. Sauerstoffkonzentration des Blutes	
3.7.2. Höhe der Sauerstoffzufuhr	
3.7.3. untersuchte Erkrankungen	
3.8. Erläuterung statistisch angewendeter Methoden	18

4. Ergebnisse

4.1. Beschreibung des Patientenkollektivs	20
4.1.1. Gestationsalter von Früh- und Reifgeborenen	
4.1.2. Geschlecht von Früh- und Reifgeborenen	
4.1.3. Reifgeborene: Geburtsmodus, Geburtsgewicht/-größe, APGAR- Score	
4.1.4. Frühgeborene: FiO ₂ , Oxygenierung, untersuchte Erkrankungen	
4.1.5. Reif- und Frühgeborene: Art der Sauerstoffzufuhr	
4.2. Gemessene Hydroperoxidwerte bei gesunden Reifgeborenen	24
4.3. Parameter bei Reifgeborenen: Geburtsgewicht/-größe, APGAR- Score, Geburtsmodus	25
4.4. Art der Sauerstoffzufuhr bei Früh- und Reifgeborenen	28
4.5. Parameter bei Frühgeborenen: 4.5.1. Höhe des FiO ₂ 4.5.2. Oxygenierung (SaO ₂ , pO ₂)	29
4.6. Untersuchte Erkrankungen: 4.6.1. Bronchopulmonale Dysplasie 4.6.2. Retinopathia praematurorum 4.6.3. Periventrikuläre Leukomalazie	31
4.7. Hydroperoxide: Vergleich Früh- und Reifgeborene	34

5. Diskussion

5.1. Gemessene Hydroperoxidwerte bei Reifgeborenen	36
5.2. Hydroperoxide bei Reifgeborenen	37
5.3. Hydroperoxide bei Frühgeborenen- Auswirkungen auf die Morbidität	38
5.3.1. Hydroperoxide als Risikofaktor in der Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie	
5.3.2. Hydroperoxide als Risikofaktor in der Entwicklung einer Retinopathia praematurorum	
5.3.3. Hydroperoxide als Risikofaktor in der Entwicklung einer perivenrikulären Leukomalazie	
5.4. Vergleich Hydroperoxide bei Reif- und Frühgeborenen	43

6. Schlussfolgerungen	45
7. Zusammenfassung	46
8. Literaturverzeichnis	48
9. Thesen	54

Verzeichnis der Abkürzungen

BAL: Bronchoalveoläre Lavage

BPD: Bronchopulmonale Dysplasie

DNA: Desoxyribonukleinsäure

ELBW: *extremely low birth weight*

FG: Frühgeborene

g: Gramm

GSH: Glutathion

GSSG: Glutathiondisulfid

IGF 1: Insulin like growth factor 1

IMV: intermittierend mandatorische Ventilation

IPPV: *intermittent positiv pressure ventilation*

KITS: Kinderintensivstation

kPa: Kilopascal

MDA: Malondialdehyd

NADP: Nicotinamid- Adenin- Dinukleotid- Phosphat

NG: Neugeborene

PDA: Persistierender Ductus arteriosus

PVL: Periventrikuläre Leukomalazie

RG: Reifgeborene

ROP: *Retinopathia of prematurity*

RMP: Retinopathia praematurorum

ROS: *Reactive oxygen species*, reaktive Sauerstoffverbindungen

SIMV: *synchronized intermittent mandatory ventilation*

SIPPV: *synchronized intermittent positiv pressure ventilation*

SOD: Superoxiddismutase

VEGF: *vascular endothelial growth factor*

VLBW: *very low birth weight infant*

1. Einleitung

1.1 Oxidativer Stress

Eine Imbalance zwischen Oxidantien und Antioxidantien zu Gunsten der Oxidantien, die potentiell zu Schaden führen können, wird „oxidativer Stress“ genannt (Sies 1985). Mit der Entwicklung von photosynthetisierenden Organismen vor ca. 3,5 Milliarden Jahren, die durch Wasserspaltung Sauerstoff freisetzen konnten, entstand die Voraussetzung aeroben Lebens, welches im Vergleich zur anaeroben Energiegewinnung energetisch vorteilig ist. Während des Sauerstoffmetabolismus entstehen jedoch als Nebenprodukte auch reaktive, toxische Sauerstoffverbindungen (Oxidantien), gegen die der Körper zwar antioxidative Gegenmechanismen (Antioxidantien) entwickelt hat, die aber bei dem erwähnten Ungleichgewicht zu oxidativem Stress und damit zu Schäden führen können. Somit ist oxidativer Stress der Preis, den aerobe Organismen für eine effizientere Bioenergetik zahlen müssen (Skulachev 1996).

1.2 Freie Radikale und antioxidative Mechanismen

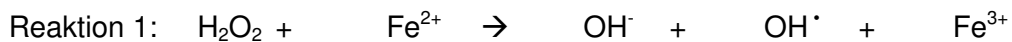
Freie Radikale werden definiert als Moleküle oder Atome, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen beinhalten und zur unabhängigen Existenz fähig sind (daher der Begriff „frei“) (Halliwell 1989). Ungepaarte Elektronen sind Elektronen, die ein molekulares oder atomisches Orbital alleine besetzen. Durch diese instabile Elektronenkonfiguration entsteht eine hohe Reaktivität.

Freie Radikale, die vom Sauerstoff abstammen, repräsentieren die wichtigsten radikalischen Verbindungen, die *in vivo* gebildet werden (Miller et al 1990). Diese radikalischen Sauerstoffderivate werden mit einigen nichtradikalischen Sauerstoffverbindungen unter dem Begriff „reaktive Sauerstoffspezies“ (*reactive oxygen species*, ROS) zusammengefasst. Die wichtigsten Beispiele werden in Tabelle 1 aufgeführt.

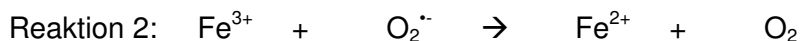
Tab.1 wichtige reaktive Sauerstoffspezies.

Reaktive Sauerstoffspezies	Chemische Formeln
Superoxidradikal	$O_2^{\cdot-}$
Hydroxylradikal	OH^{\cdot}
Perhydroxylradikal	HO_2^{\cdot}
Alkoxyradikal	RO^{\cdot}
Peroxyradikal	ROO^{\cdot}
Hydroperoxid	ROOH
Wasserstoffperoxid	H_2O_2
Singulett- Sauerstoff	1O_2

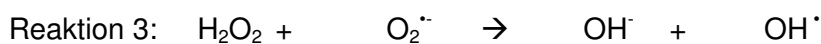
Das Hydroxylradikal ist einer der reaktivsten Moleküle, die in der Chemie bekannt sind. Aufgrund dessen Reaktivität besteht das OH^{\cdot} - Radikal nur circa 10^{-9} Sekunden (Pastor et al 2000) bevor es seine Nachbarmoleküle angreift. Es kann in Anwesenheit von Übergangsmetallen aus Wasserstoffperoxid entstehen. In der sogenannten Fentonreaktion wird Wasserstoffperoxid in das höchstreaktive Hydroxylradikal umgewandelt.



Im Gegenzug wird dreiwertiges Eisen durch ein Superoxidanion reduziert,



Die Summe dieser Reaktionen ist als Haber- Weiss- Reaktion bekannt und ist die Schlüsselreaktion für zahlreiche sauerstofftoxischer Prozesse in Anwesenheit von Übergangsmetallen (Halliwell und Gutteridge 2007)



Auch das Superoxidradikal und das Wasserstoffperoxid können in hoher Konzentration Zellen schädigen, sind aber bei weitem nicht so reaktiv wie das Hydroxylradikal.

Das Superoxidanion entsteht entweder durch Enzyme wie die Xanthinoxidase oder nichtenzymatisch (größtenteils im Rahmen der Atmungskette). Eine Überproduktion von $O_2^{\cdot-}$ führt zu Zellschäden. In manchen Fällen hat die Produktion von Superoxid auch natürliche Funktionen. So werden zum Beispiel im Zuge der Immunabwehr durch den respiratory burst Superoxidradikale durch die NADPH-Oxidase von aktivierten

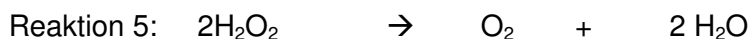
Phagozyten gebildet, um Bakterien abzutöten. Das gebildete $O_2^{\cdot-}$ reagiert zu Wasserstoffperoxid, welches unter katalytischem Einfluß der Myeloperoxidase Chlorid zu Hypochlorid (OCl^-) oxidiert. Hypochlorid wirkt bakterizid.

Das Superoxidradikal dismutiert bei neutralen pH in wässrigen Medien, wobei Wasserstoffperoxid entsteht (Reaktion 4).

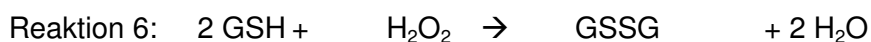


Diese Reaktion wird durch die Superoxiddismutase (SOD) katalysiert, die somit zu den antioxidativ wirksamen Enzymen gezählt wird. Die Funktion der SOD wurde 1969 von McCord und Fridovich entdeckt. Die verschiedenen Superoxiddismutasen unterscheiden sich durch die verschiedenen Ionen in ihrem aktiven Zentrum. So existiert neben der kupfer- und zinkhaltigen Superoxiddismutase (CuZnSOD), die hauptsächlich im Zytosol lokalisiert ist, eine manganhaltige Superoxiddismutase (MnSOD), die sich vornehmlich im Matrixraum von Mitochondrien befindet. Bei einigen Pflanzen und Bakterien findet man zudem eine eisenhaltige Superoxiddismutase (FeSOD) (Fridovich 1995). Die Notwendigkeit der SOD für aerobe Lebewesen wird in einer Studie von Lebovitz 1996 deutlich: Knockout Mäuse, die nicht fähig sind die MnSOD zu bilden, sind schwer beeinträchtigt und sterben innerhalb von 10 Tagen nach der Geburt.

Das Wasserstoffperoxid ist zwar kein Radikal, wird jedoch zu den ROS gezählt. Dadurch dass aus dieser Verbindung das höchstreaktive Hydroxylradikal entstehen kann (s. Reaktion 1-3), benötigt der Organismus antioxidative Verteidigungsmechanismen. Auf der einen Seite existieren Katalasen, die die Umwandlung von Wasserstoffperoxid in Sauerstoff und Wasser katalysieren (Reaktion 5).



Auf der anderen Seite gibt es die Glutathion- Peroxidase, welche das einzige menschliche Enzym ist, dessen Aktivität selenabhängig ist. Das Tripeptid Glutathion, besteht aus Cystein, Glycin und Glutamat und wird in praktisch jeder Zelle als Redoxmetabolit genutzt. Mit Hilfe des Enzyms wird Wasserstoffperoxid durch die Koppelung seiner Reduktion zu Wasser mit der Oxidation von Glutathion (GSH) zu Glutathiondisulfid (GSSG) entfernt (Reaktion 6).



Glutathiondisulfid wird durch die Glutathionreduktase wieder zu Glutathion reduziert. Den reaktiven Sauerstoffverbindungen steht aber nicht nur ein enzymatischer antioxidativer Schutz gegenüber, sondern auch eine Reihe von niedermolekularen Substanzen, die in vivo gebildet werden, wie z.B. Bilirubin, Harnsäure und Coenzym Q, oder von außen zugeführt werden müssen. Wichtigste Vertreter sind hierbei antioxidative Vitamine wie Vitamin C (Ascorbat), Vitamin E (Tocopherole) und sekundäre Pflanzenstoffe wie z.B. Carotinoide (Vorläufer des Vitamin A).

1.3 Zelluläre Schädigung durch ROS

Im gesunden Organismus ist die Bildung von ROS durch das antioxidative System weitestgehend ausgeglichen. Wenn das normale Oxidations-Antioxidationsgleichgewicht gestört wird, kann ein unkontrollierter Angriff auf nahezu alle Zellbestandteile einsetzen (Löffler und Petrides 1998). Proteine können durch Oxidation von Sulfhydrylgruppen, Kohlenhydrate durch Polysacchariddepolymerisation, Nucleinsäuren durch Basenhydroxylation, „nicking“, „cross-linkage“ sowie DNA Brüche (Frank et al 1985) und Lipide durch Peroxidation von ungesättigten Fettsäuren geschädigt werden. Auf die Lipidperoxidation, als Grundlage unserer Meßmethode von Hydroperoxiden soll im folgendem genauer eingegangen werden.

1.3.1 Lipidperoxidation

Der Begriff der Lipidperoxidation beschreibt den Vorgang, der durch den oxidativen Angriff einer ungesättigten Fettsäure oder einer Fettsäureseitenkette von Membranlipiden durch ein freies Radikal abläuft. Sie kann in drei Stufen eingeteilt werden: Initiation, Propagation und Termination.

Die Lipidperoxidation beginnt durch ein Molekül, welches reaktiv genug ist, ein Wasserstoffatom (H) einer Fettsäure abzuspalten. Moleküle, die das erste Wasserstoffatom entfernen können, sind das Hydroxylradikal (OH^\bullet), das Alkoxyradikal (RO^\bullet), das Peroxylradikal (ROO^\bullet) und das Perhydroxylradikal (HO_2^\bullet) (Gutteridge 1995). Hierbei werden vor allem ungesättigte Fettsäuren oxidiert. Durch die Abspaltung von Wasserstoff, welches ein Elektron besitzt, bleibt ein ungepaartes Elektron eines Kohlenwasserstoffatoms in der Fettsäure zurück. Somit entsteht ein Lipidradikal. Das entstandene Lipidradikal wird durch intramolekulares Rearrangement, der sogenannten Dien- Konjugation stabilisiert. Unter aeroben Bedingungen folgt nun meist die Reaktion mit Sauerstoff und es entsteht ein Peroxylradikal. Peroxylradikale können sowohl miteinander (Termination) als auch mit Membranproteinen reagieren, können aber auch ein Wasserstoffatom von einer anderen Seitenkette eines

Membranlipids abspalten und somit eine Kettenreaktion in Gang setzen (Propagation) und dabei selbst zu einem Lipidhydroperoxid werden. Eine einzige Initiation kann also die Umwandlung von hunderten Fettsäureseitenketten zur Folge haben (Gutteridge und Halliwell 1990). Die Länge der Propagation ist dabei abhängig von dem Lipid-Protein Verhältnis in einer Membran, der Fettsäurezusammensetzung, der Sauerstoffkonzentration sowie der Anwesenheit von zum Kettenabbruch führenden Antioxidantien (besonders α -Tocopherol als Bestandteil von Membranen) (Halliwell und Chiroco 1993). Die Eigenschaften der ursprünglichen Lipide werden durch die Kettenreaktionen so verändert, dass es zu Funktionsveränderungen und zum Verlust der Membranintegrität kommen kann.

1.4 Oxidativer Stress bei Neugeborenen

Neugeborene und vor allem Frühgeborene sind besonders anfällig für oxidativen Stress. Allein durch die Geburt muß sich ein Neugeborenes von der intrauterinen, hypoxischen Umgebung (Sauerstoffpartialdruck ca. 25 mmHg) auf die sauerstoffreiche extrauterine Umwelt umstellen.

Zusätzlich kann durch eine peri- und/oder postnatale Asphyxie beziehungsweise Hypoxie oder im Rahmen eines Atemnotsyndroms eine Beatmungs- und/oder Sauerstofftherapie mit hohen Sauerstoffkonzentrationen notwendig werden.

Dieser „hyperoxischen“ Herausforderung steht ein unzureichender Schutz des noch unreifen antioxidativen Enzymsystems und der nicht enzymatischen Antioxidantien gegenüber. Besonders betroffen sind die unreifen Frühgeborenen, da sich das antioxidative Schutzsystem erst in der späten Gestation entwickelt. In diesem Sinne hat das neonatale Plasma ein antioxidatives Profil mit niedrigen Konzentrationen von Glutathionperoxidase, Superoxid Dismutase, β - Carotin, Vitamin E, Selenium, Kupfer, Coeruloplasmin und anderen Plasmafaktoren (Haga et al 1978, Bracci et al 1988, Gophinathan et al 1994)

Des Weiteren ist das nicht an Transferrin gebundene, freie Eisen im Plasma bei Neugeborenen höher als bei Erwachsenen (Berger et al 1995), was über die Fenton-Reaktion zu der Produktion von Hydroxylradikalen führen kann. Bei Frühgeborenen kann der Eisenhaushalt zusätzlich durch Erythrozytentransfusionen überladen werden. Circa 80% der VLBW und 95% der ELBW erhalten im Krankenhaus Erythrozytenkonzentrate (Widness et al 1996). Der transfundierte Erythrozyt hat zudem eine kürzere Lebensspanne als bei Erwachsenen (Brad und Widness 1997). Es konnte gezeigt werden, dass nach Bluttransfusionen, dass nicht an Protein gebundene Eisen bei FG, nicht aber bei RG, erhöht ist (Hirano et al 2001).

Aufgrund des oben erläuterten Ungleichgewichts zwischen Überproduktion von Oxidantien und unreifen Antioxidantiensystem besteht bei Neugeborenen und besonders Frühgeborenen eine hohe Gefahr der oxidativen Schädigung verschiedenster Organe. In diesem Zusammenhang ist der Begriff der „oxygen free radical diseases of prematurity“ entstanden. Zu diesen Erkrankungen werden die Bronchopulmonale Dysplasie, die Retinopathia praematurorum und die periventrikuläre Leukomalazie gezählt.

1.4.1 Bronchopulmonale Dysplasie (BPD)

In der Bundesrepublik Deutschland erkranken pro Jahr etwa 1300 bis 1500 Neugeborene an einer BPD, wobei die Inzidenz bei 1 bis 1,8 Fällen auf 1000 Lebendgeburten (Muskala und Wauer 2002) liegt und somit eine der häufigsten chronischen Lungenerkrankungen im Kindesalter darstellt.

Die BPD hat eine multifaktorielle Genese, in deren Zentrum als Hauptrisikofaktor die unreife Lunge eines FG steht. Daneben bestehen weitere Faktoren wie die mit der Frühgeburtlichkeit verbundene postnatale Sauerstoff- und Beatmungstherapie, Inflammationsreaktionen und Infektionen, Lungenödeme infolge eines persistierenden Ductus arteriosus, genetische Polymorphismen in kodierenden Genen für Surfactantproteine (Weber et al 2000) und die Ernährung.

Extrem unreife Frühgeborene (< 27 Schwangerschaftswoche (SSW)) befinden sich in der fetalen Lungenentwicklung noch im canaliculären Stadium, in der die Vaskularisation des dichten Mesenchyms erst beginnt. Erst ab Ende des 6. Schwangerschaftsmonats wandelt sich das kubische Bronchialepithel in die flachen Pneumozyten Typ I um, die sich eng mit den Blutkapillaren verbinden und ab dem siebten Schwangerschaftsmonat einen Gasaustausch erst möglich machen. Die surfactantproduzierenden Pneumozyten Typ II sind zu diesem Zeitpunkt jedoch noch unreif, so dass diese Entwicklungsstufen nicht immer mit einem selbstständigen Atmen vereinbar sind. Somit wird bei Frühgeborenen oft eine Beatmungs-, zusätzliche Sauerstoff- und Surfactanttherapie notwendig. Der zusätzliche Sauerstoff stellt einen wesentlichen pathogenetischen Faktor einer BPD, auch chronische Lungenerkrankung des Kindes genannt, dar (Jobe und Bancalari 2001, Saugstad 2001).

Die Zufuhr von hohen Sauerstoffkonzentrationen führt zur Überproduktion von freien Radikalen wie Superoxid und Hydrogenperoxid gegen die frühgeborene Kinder durch ihr nicht ausgereiftes antioxidatives System nicht ausreichend geschützt sind (Frank 1991). Die freien Radikale bedingen eine direkte Schädigung und Apoptoseinduktion der respiratorischen Epithelzellen (Thompson et al 2008, Buccellato et al 2004). In diesem Zusammenhang konnte von Vento et al 2009 gezeigt werden, dass die spätere Entwicklung einer BPD bei 78 Frühgeborenen (\leq 28 SSW) durch den Einsatz einer inspiratorischen Sauerstofffraktion während der Notfallversorgung im Kreißsaal von 30% im Vergleich zu 90% halbiert werden konnte.

Zusätzlich wird die unreife Lunge im Rahmen einer maschinelle Beatmung mit positiven Beatmungsdrücken durch Baro- und Volutraumata geschädigt, was mit einem Austritt von Flüssigkeit in das Lungeninterstitium und einem Emphysem einhergehen kann.

Durch die oben beschriebenen postnatalen Noxen (u.a. freie Radikale, Baro- und Volumentraumata, Infektionen) wird ein Ungleichgewicht von pro- und antiinflammatorischen Faktoren stimuliert und somit eine unspezifische pulmonale Entzündung mit akuter Lungenschädigung hervorgerufen. In diesem Sinne sind die Neutrophilen und proinflammatorischen Interleukine IL1 β , IL 6, IL 8 und TNF α postnatal in trachealen Aspiraten von FG, die später eine BPD entwickeln, erhöht. Im Gegensatz dazu scheinen antiinflammatorische Zytokine wie IL-10 in Trachealsekreten bei FG, die später an einer BPD erkrankten, erniedrigt (Vento et al 2006).

Diese inflammatorische Aktivierung führt zu einer pathologischen Lungenentwicklung, die auf der einen Seite zu einer unzureichenden Alveolarisierung mit weniger und größeren Alveolen und auf der anderen Seite zu einer Rarefizierung des Lungengefäßbettes führt (Gortner und Meyer 2007).

1.4.2 Retinopathia praematurorum

Im Hinblick auf alle Neugeborenen liegt die Inzidenz einer Retinopathia praematurorum (ROP) in den USA bei 0,12% und ist somit eine seltene Erkrankung. Betrachtet man jedoch nur die Frühgeborenen erkranken je nach Statistik 7% an einer ROP. Bei den Frühgeborenen, die ein Gestationsalter unter der 30. SSW oder ein Geburtsgewicht unter 1300 g haben, erkranken sogar 21% an einer ROP (Lad et al 2008). In Deutschland entwickeln pro Jahr circa 400-600 Risikokinder eine behandlungsbedürftige ROP (Lorenz 2008).

Die Erkrankung wird in verschiedene Schweregrade (Stadium I-V) eingeteilt, an deren Maximalstufe eine komplette Netzhautablösung steht (Kellner et al 2008).

Die ROP ist eine in 2 Phasen ablaufende Erkrankung der Netzhaut, bei der die Unreife der Kinder und die Wirkung von Sauerstoff als Risikofaktoren im Vordergrund stehen.

In der ersten Phase der Entwicklung einer ROP (postnatal bis 30-32 SSW) kommt es zum Stillstand des retinalen Gefäßwachstums sowie zur Rückbildung und Obliteration schon vorhandener Gefäße. Physiologisch wachsen erst im 4. Gestationsmonat von der Papille ausgehend Gefäße in die periphere Retina. Hierbei wird die Angiogenese durch das relativ hypoxische Milieu und den damit verbundenen Konzentrationsanstieg von VEGF (vascular endothelial growth factor) stimuliert. Bei Kindern, die unreif geboren werden, ist die Vaskularisierung der Retina noch nicht abgeschlossen.

Das Neugeborene erlebt durch die Umstellung der intrauterinen auf die postnatale Umwelt eine relative Hyperoxie, die durch Sauerstofftherapie aggraviert werden kann. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass Hyperoxie die VEGF- Sekretion supprimiert (Pierce et al 1995).

Des Weiteren scheint IGF-1 (Insulin like growth factor 1) wichtig für die retinale Gefäßentwicklung und niedrige Konzentrationen an IGF-1 mit der ersten Phase der ROP assoziiert zu sein (Hellstrom et al 2003).

Auf den Gefäßverlust in der ersten Phase der ROP folgt eine Hypoxie. Aus dieser entwickelt sich die 2. Phase der ROP bei Frühgeborenen ab einem Gestationsalter von 32.-34. Wochen. Durch einen hypoxieinduzierten VEGF- Konzentrationsanstieg resultiert eine pathologische retinale Neovaskularisation. Aber auch IGF-1 scheint eine wichtige Rolle bei der 2. Phase der ROP zu spielen, welches ein Frühgeborenes ab einem Gestationsalter von ca. 34 Wochen in ausreichender Konzentration bildet. (Heckmann 2008).

Obwohl Vasokonstriktion und Neovaskularisation das Bild und die Schwere einer ROP bestimmen, werden durch die Hypoxie und Hyperoxie freie Radikale generiert, die zum retinalen Gefäßschaden beitragen (Weinberger et al 2001).

1.4.3 Periventrikuläre Leukomalazie

Frühgeborene repräsentieren 5% aller Geburten, aber 50% aller Kinder mit frühkindlicher Hirnschädigung (Berkowitz und Papiernik 1993).

Hierbei haben Frühgeborene ein hohes Risiko eine intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH), einen parenchymalen ischämischen Infarkt (PVHI), eine periventrikuläre Leukomalazie oder eine diffuse Schädigung der Gehirnzellen zu entwickeln. Dabei dominieren die zwei zuletzt genannten (Maalouf et al 2001).

Eine periventrikuläre Leukomalazie ist eine perinatale Hirnschädigung, die als Endstadium einer schweren Perfusionsstörung durch Schädigung der weißen Substanz (u.a. Pyramidenbahnen) mit zystischen Läsionen einhergehen kann (Michaelis und Niemann 2004).

Es gibt zwei sich überlappende Formen der PVL: (1) die zystische PVL, bei der fokale Nekrosen makroskopisch sichtbar sind und sich zu multiplen Zysten entwickeln und (2) die nicht zystische PVL, bei der die fokalen Nekrosen nur mikroskopisch sichtbar sind und sich hauptsächlich gliöse Narben entwickeln. Die zystische Form ist selten; die nicht zystische PVL zählt heutzutage zu den am meisten beobachteten Schädigungen der weißen Substanz bei Frühgeborenen (Khwaja und Volpe 2008).

Pathogenetischer Ausgangspunkt der periventrikulären Leukomalazie ist die cerebrale Ischämie. Aber auch maternale (intrauterine) oder neonatale Infektionen/Inflammationen sind mit dem Auftreten einer PVL assoziiert (Leviton et al 2005).

Die periventrikulären Areale sind verletzbare Endzonengebiete der arteriellen Versorgung im unreifen Gehirn, die erst in den letzten 16 Wochen der Gestation eine weitere Vaskularisierung zeigen (Takashima et al 1978, Ballabh et al 2004). Zudem scheint die cerebrovasculäre Autoregulation bei Frühgeborenen auf Blutdruckschwankungen noch eingeschränkt und somit kann die cerebrale Zirkulation druckpassiv werden, was gerade bei Hypotension zur Ischämie in den Endzonengebieten führen kann (Soul et al 2007).

Die beiden einleitenden Mechanismen Ischämie und Infektionen führen dann über exzitatorische Transmitter (Glutamat) und den Angriff von freien Radikalen zu Zellschäden und -tod der sich entwickelnden Oligodendrozyten. Hier soll nur auf letzteres eingegangen werden.

Durch die akute Ischämie kommt es auf der einen Seite zum Aufbrauchen von Adenosintriphosphat (ATP) zu Adenosindiphosphat (ADP). Dies wird über Zwischenprodukte weiter zu Hypoxanthin verstoffwechselt. Durch den Rückgang der oxidativen Phosphorylierung bei Ischämie, können Membranpotentiale nicht mehr

aufrechterhalten werden und es kommt zu einem Einstrom von Calcium in die Zelle. Der Calciuminflux hat viele Konsequenzen wie z.B. die Aktivierung der Phospholipase A2. Diese Reaktion führt zur Phospholipid- Hydrolyse und Störung von Membranen der Zellen und Organellen (Buonocore et al 2001). Auch das mitochondrale Membranpotential wird durch den Calciuminflux gestört und kann über eine Freisetzung von Cytochrom c direkt die Apoptose induzieren (Halliwell und Gutteridge 2007).

Bei Reperfusion des ischämischen Gewebes kommt es zu massiver Freisetzung von ROS. Erstens wird in Anwesenheit der Xanthinoxidase das akkumulierte Hypoxanthin zu Xanthin und Harnsäure metabolisiert. Bei dieser Reaktion entsteht das Superoxidradikal und durch die nachfolgende Reaktion der SOD Wasserstoffperoxid (Kelly 1993). Zweitens wird durch die erhöhte intrazelluläre Calciumkonzentration durch die NO- Synthetase Stickstoffmonoxid gebildet. Drittens werden durch die Anwesenheit von Eisen in sich entwickelnden Oligodendrozyten (Connor und Menzies 1996) oder auch durch parenchymale Blutungen über die Fenton- Reaktion Hydroxylradikale generiert (Volpe 2001). Somit kommt es zur oxidativen Schädigung der weißen Substanz, die zum nekrotischen und apoptotischen Zelltod führt (Saikumar et al 1998)

Das klinische Bild der Überlebenden einer PVL ist stark abhängig von dem Ausmaß der periventrikulären Läsionen. Die Kinder zeigen in 5-10% cerebrale Lähmungen und in 50% Aufmerksamkeits- und Verhaltensstörungen neben kognitiven Defiziten (Hack et al 2005, Wilson-Costello et al 2007).

2 Zentrale Fragestellungen

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Hydroperoxidbelastung als Marker für oxidativen Stress bei Reif- und Frühgeborenen.

In einem ersten Schritt soll ein Richtwert für Hydroperoxide bei gesunden Reifgeborenen am 3. Lebenstag erarbeitet werden. Des Weiteren wird der Einfluß der Parameter Geburtsgröße, Geburtsgewicht, Geburtsmodus und Geschlecht auf die Hydroperoxidbelastung bei Reifgeborenen untersucht.

In einem weiteren Schritt sollen die Hydroperoxidkonzentrationen der Früh- und Reifgeborenen verglichen werden, um zu untersuchen, ob Frühgeborene tatsächlich vermehrten oxidativen Stress ausgesetzt sind.

Bei den Frühgeborenen stellt sich die Frage, ob die Sauerstoffkonzentration des Blutes sowie die Art und die Höhe der Sauerstoffzufuhr die Hydroperoxidkonzentration beeinflusst.

In einem letzten Schritt soll untersucht werden, ob hohe Hydroperoxidkonzentrationen bei Frühgeborenen in der ersten Lebenswoche einen Risikofaktor für das spätere Erkranken an einer Bronchopulmonalen Dysplasie, Retinopathia praematurorum oder periventrikulären Leukomalazie darstellen.

3 Material und Methoden

3.1 Art, Ort, Zeitraum der Studie

Die Studie wurde durch die Ethik Kommission der medizinischen Fakultät der Martin Luther Universität in Halle (Saale) genehmigt.

In dieser Untersuchung wurden Neugeborene, die sich nach der Geburt stationär auf der Neugeborenenstation bzw. der Kinderintensivstation der Universitätsklinik Halle/Saale befanden, untersucht. Das Patientenkollektiv entstand in einem Zeitraum von 20 Monaten (1/2005- 8/2006).

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Es wurden Neugeborene in die Untersuchung eingeschlossen, die an der Universitätsklinik Halle/Saale geboren wurden und/oder sich postnatal stationär auf einer der beiden oben genannten Stationen befanden. Außerdem war das Einverständnis beider Elternteile nötig zur Aufnahme in die Studie.

3.3 Patienten

3.3.1 Gestationsalter

Mit Hilfe der Menstruationsanamnese der Mutter wurde die Schwangerschaftswoche (SSW) zum Zeitpunkt der Geburt ermittelt.

Durch das Gestationsalter wurden die untersuchten Neugeborenen in zwei Gruppen eingeteilt. So wurde zwischen Reifgeborenen mit einem Gestationsalter von mindestens 37 SSW und Frühgeborenen, die vor der vollendeten 37 SSW geboren sind, unterschieden.

3.3.2 Zeitpunkt der Blutentnahme

Alle reifen Neugeborenen (≥ 37 SSW) waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme 72 Stunden alt. Bei diesen Kindern erfolgte die Blutentnahme im Rahmen des Neugeborenen Screenings. Somit fanden keine zusätzlichen Punktionen statt.

Bei den Frühgeborenen (SSW < 37 SSW) erfolgte die Blutentnahme innerhalb der ersten Lebenswoche an unterschiedlichen Tagen im Rahmen von ohnehin nötigen Blutentnahmen, wie zum Beispiel Blutgasanalysen. Die Kinder haben somit zum Abnahmezeitpunkt ein unterschiedliches Alter, es konnten jedoch zusätzliche Blutentnahmen vermieden werden.

3. 4. Arbeitsvorgang und Messverfahren

3. 4. 1 Messgerät und Reagenzien

Die automatisierte Bestimmung von Hydroperoxiden im Blut erfolgte mit dem FORM (Free Oxygen Radical Monitor) Photometer der Firma Incomat Medizinische Geräte GmbH (Glashütten, Deutschland). Das Messgerät wurde von Callegari 1930 SpA, Catellani Gruppe (Italien) entwickelt.

Es wurden ausschließlich Reagenzien der Firma Incomat Medizinische Geräte verwendet. Für die Testung werden zwei Reagenzien benötigt.

Reagenz 1: Acetatpuffer (pH-Wert: 4,8), der Eisensulfationen enthält, in Mikrovette

Reagenz 2: vorbereitetes lyophilisiertes Chromogen- Reagenz in quadratischer Messküvette (Schichtdicke 1cm)

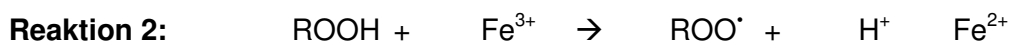
3. 4. 2 Testprinzip

Das Testprinzip beruht auf der Fähigkeit von Übergangsmetallen (wie z.B. Eisen) die Bildung von freien Radikalen aus Hydroperoxiden zu katalysieren.

Die in der Reagenz 1 enthaltenen Eisenionen katalysieren die sogenannte Fenton-Reaktion:



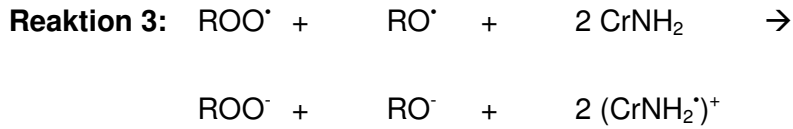
Das zweiwertige Eisen reagiert mit einem Hydroperoxid, dabei entsteht ein Alkoxyradikal und dreiwertiges Eisen.



Dreiwertiges Eisen reagiert mit einem Hydroperoxid, dabei wird ein Peroxidradikal und zweiwertiges Eisen freigesetzt.

Die Quantität der gebildeten Alkoxy- und Peroxidradikale ist somit direkt proportional zur Menge an Hydroperoxiden im Blut.

In einem weiteren Schritt wird nach der Blutentnahme das gepufferte Kapillarblut mit einem oxidierbaren Agens namens FORT- Chromogen (CrNH_2), welches sich in der Messküvette befindet, gelöst.



Dabei entsteht das rotgefärbte kationische Radikal des Chromogens $(\text{CrNH}_2)^\bullet$, welches mit dem FORM- Photometer bei einer Wellenlänge von 505nm erfasst werden kann. Das Kation ist der Konzentration der im Blut vorhandenen ROS proportional. Die ROS Konzentration wird in FORT Einheiten wiedergegeben, wobei eine FORT Einheit 0.26 mg/l H_2O_2 entsprechen.

In einer Untersuchung an der Universität Padua (Italien) von Jori et al wurde 2002 die Zuverlässigkeit des FORM- Testverfahrens getestet. Hierbei ergaben sich für das FORT- Chromogen FORT- Werte, die mit einer statistischen Signifikanz mit der Prüfreagenz für kolometrische Messungen, p- Phenylendiamin, korrelieren. Zudem zeigten sich gute Übereinstimmungen zwischen dem FORT- Photometer und der standardisierten und anerkannten spektralphotometrischen Methode mit dem Perkin Elmer Photometer hinsichtlich der im Versuchsaufbau bekannten Konzentrationen von Hydroperoxiden (TBH- Lösung von 10 bis 60uM). Mit beiden Photometern konnte mit zunehmender Konzentration an Hydroperoxiden bis 40uM (entspricht 500 FORT) eine lineare Zunahme der Absorption festgehalten werden. Höhere Hydroperoxidkonzentrationen führten jedoch zu einer Abweichung der Linearität – vermutlich in Folge von Überreaktionen- und damit zu keinen zuverlässigen Ergebnissen.

3. 4. 3 Arbeitsvorgang

1. Kapillarblutentnahme aus der Ferse (Neugeborenenstation/ KITS) oder venöse Blutentnahme (KITS) bei oben beschriebenen Patienten.
2. Einbringen der blutgefüllten Kapillare in eine mit Puffer gefüllte Mikrovette (Reagenz 1).
3. Transport zum Messgerät
(Standpunkt: KITS des Universitätsklinikums Halle/ Saale)
4. Überführen des Mikrovetteninhaltes in eine Messküvette in der sich das Chromogen befand (Reagenz 2).
5. Zentrifugation (eine Minute, Zentrifuge wird zum Testgerät mitgeliefert)
6. Einsetzen der Küvette in das FORM-Photometer.

3. 5 Untersuchte Parameter bei Reifgeborenen (RG)

Neben dem Geburtsgewicht/ –größe und dem Geschlecht der Reifgeborenen wurde der APGAR- Score festgehalten. Dieser Score wird zur Beurteilung des postnatalen klinischen Zustandes des Neugeborenen herangezogen. Er beschreibt mit klinischen Parametern die Vitalität eines Kindes in der ersten, fünften und zehnten Lebensminute. Zudem wurde der Geburtsmodus als möglicher Einflussfaktor dokumentiert. Dabei wurde zwischen Spontangeburt und Sectio caesarea unterschieden. Hierbei war nicht von Interesse, ob es sich dabei um einen primären oder sekundären Kaiserschnitt handelte.

3. 6 Untersuchte Parameter bei Frühgeborenen und Reifgeborenen

3. 6.1 Art der Sauerstoffzufuhr

Um die Art der Sauerstoffzufuhr zu differenzieren, wurden die Frühgeborenen in drei Gruppen unterteilt.

In die erste Gruppe gehören die Frühgeborenen, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme vollkommen selbständig atmeten. In diese Gruppe wurden auch Kinder mit Sauerstoffnasensonden und Kinder mit Sauerstoffzufuhr im Inkubator zugeordnet.

In die zweite Gruppe wurden die Kinder eingeteilt, die mit einer pharyngealen Atemhilfe unterstützt wurden. Darunter fällt die Atemhilfe mit dem pharyngealen CPAP (*continuous positiv airway pressure*) und dem pharyngealen IMV (intermittierende mandatorische Ventilation).

Der dritten Gruppe wurden Kinder zugeordnet, die invasiv beatmet wurden. Hierunter fällt die kontrollierte mechanische Beatmung (IMV sowie *intermittent positiv pressure ventilation* (IPPV)) und die assistierte mechanische Beatmung (synchronisierte intermittierende mandatorische Ventilation (SIMV), *synchronized positive pressure ventilation* (SIPPV)).

3. 7 Untersuchte Parameter bei Frühgeborenen (FG)

3. 7.1 Sauerstoffkonzentration des Blutes

Hier wurden der Sauerstoffpartialdruck (pO_2) und die Sauerstoffsättigung (SaO_2) als mögliche Einflussfaktoren zum Zeitpunkt der Blutabnahme ermittelt.

Der Sauerstoffpartialdruck ist proportional zu der Sauerstoffkonzentration, die physikalisch im Blut gelöst ist (Henry Dalton Gesetz). Hier wurde unterschieden, ob bei den Kindern ein pO_2 von mehr oder weniger als 6 kPa verzeichnet wurde.

Als Sauerstoffsättigung bezeichnet man den Teil des Sauerstoffs, der chemisch an Hämoglobin (OxyHb) gebunden ist im Vergleich zum gesamten Hämoglobin. Dieser wurde pulsoxymetrisch gemessen. Aufgrund der Sauerstoffsättigung erfolgte die Einteilung der Frühgeborenen in drei Klassen:

Gruppe 1: SaO_2 : 80-85%

Gruppe 2: SaO_2 : 85%- 93%

Gruppe 3: $SaO_2 > 93\%$

3.7.2 Höhe der Sauerstoffzufuhr

Um die Höhe der Sauerstoffzufuhr festzuhalten, wurde die inspiratorische Sauerstofffraktion (F_iO_2) zum Zeitpunkt der Blutentnahme bei den Frühgeborenen dokumentiert. Bei den selbständig atmenden Kindern entspricht die inspiratorische Sauerstofffraktion die der Raumluft (21%).

Es erfolgte bei den Frühgeborenen die Bildung von zwei Gruppen bezüglich der inspiratorischen Sauerstofffraktion:

Gruppe 1: $F_iO_2 \leq 30 \%$

Gruppe 2: $F_iO_2 > 30\%$

3.7.3 Untersuchte Erkrankungen

Das Vorhandensein der untersuchten Erkrankungen (Bronchpulmonale Dysplasie, Retinopathia praematurorum, periventrikuläre Leukomalazie) wurde zu einem späteren Zeitpunkt retrospektiv durch Akteneinsicht ermittelt.

3.8 Erläuterung der statistisch angewandten Methoden

Die statischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 17.0 (SPSS Inc., U.S.A.) durchgeführt. Die Darstellung der kontinuierlichen Variablen erfolgte als Mittelwerte, während als Streumaße die Standardabweichungen gewählt wurden.

Die kontinuierlichen Variablen wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Die getesteten Variablen wiesen ganz überwiegend keine Normalverteilung auf (Kolmogorov-Smirnov-Test: $p < 0,05$). Bei den Vergleichen der Stichproben wurden durchgehend nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben herangezogen.

Beim Vergleich von 2 unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben wurde der Mann-Whitney-U-Test und bei mehr als 2 unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben der H-Test nach Kruskal und Wallis angewendet.

In den grafischen Darstellungen, die ebenfalls mit SPSS erstellt wurden, wurden zur Veranschaulichung der Mediane und Quartilsabstände Boxplots verwendet. Während in den Boxen der Median sowie die 25.-75. Perzentile aufgetragen sind, entsprechen die T-Balken dem kleinsten und größten Wert, sofern diese keine Ausreißer bzw. Extremwerte sind. Die Ausreißer sind dabei Werte, die zwischen $1 \frac{1}{2}$ - 3 Boxlängen

außerhalb der Box liegen; sie sind in den Grafiken als Kreise dargestellt, während Extremwerte mehr als 3 Boxlängen außerhalb der Box gemessen wurden und als Kreuzchen aufgetragen sind. Die kategorisierten Daten wurden grafisch mit Hilfe von gruppierten Balkendiagrammen dargestellt.

4 Ergebnisse

4.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

Es wurden insgesamt 221 Neugeborene in der vorliegenden Arbeit untersucht. Es wurde keines der untersuchten Kinder aus der Untersuchung ausgeschlossen.

4.1.1 Gestationsalter von Früh- und Reifgeborenen

Von den 221 Patienten waren 137 (62 %) Reifgeborene. 84 Kinder waren Frühgeborene.

Im Durchschnitt kamen die Reifgeborenen in der 40 SSW zur Welt (Median: 40 SSW). Die längste Schwangerschaftsdauer betrug 42 Wochen.

Die Frühgeborenen wurden durchschnittlich in der 33 SSW geboren. Das unreifste Kind kam mit einem Gestationsalter von 24 Wochen zur Welt.

Tabelle 4.1 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Schwangerschaftswochen, in der die untersuchten Frühgeborenen geboren wurden.

Tab. 4.1: Prozentuale Verteilung der SSW bei Frühgeborenen.

Dargestellt sind die Häufigkeiten, Prozente und kumulierten Prozente der Schwangerschaftswochen, in denen die untersuchten Frühgeborenen zur Welt kamen (n= 84).

	Häufigkeit	Prozent	Kumulierte Prozente
24 -28 SSW	13	15,5	15,5
29 -32 SSW	31	36,9	52,4
33 -36 SSW	32	38,1	90,5
37 SSW	8	9,5	100,0
Gesamt	84	100,0	

4.1.2 Geschlecht von Früh- und Reifgeborenen

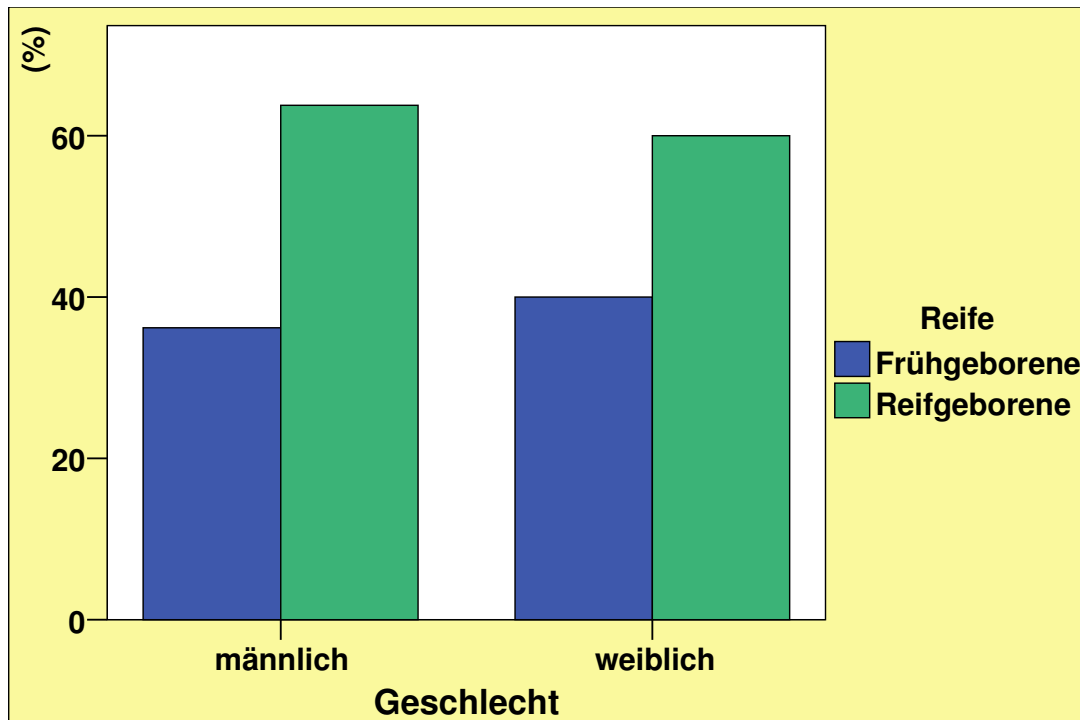


Abbildung 4.1.: Geschlechtsverteilung von Reif- und Frühgeborenen.

Dargestellt ist die prozentuale Verteilung des Geschlechts aller Neugeborenen (n=221).

116 der untersuchten 221 Kinder waren männliche Neugeborene. Davon wurden 42 (36 % aller männlichen NG) vor der vollendeten 37 SSW geboren. 74 (64 % aller männlichen NG) der männlichen Kinder waren reifgeboren.

105 der untersuchten Neugeborenen waren weiblich. Davon waren 42 (40% aller weiblichen NG) Frühgeborene und 63 (60% aller weiblichen NG) Reifgeborene.

4.1.3. Reifgeborene

Geburtsmodus

103 (75 %) der Reifgeborenen wurden spontan geboren. 34 (25 %) kamen durch eine Sectio caesarea zur Welt, hierbei wurde nicht zwischen primärer und sekundärer Sectio unterschieden.

Geburtsgewicht und Geburtsgröße

Die reifen Neugeborenen hatten im Durchschnitt ein Geburtsgewicht von 3421 Gramm und eine Geburtsgröße von 50 cm.

Das kleinste Reifgeborene war 45 cm groß; das größte Reifgeborene hatte eine Größe von 55 cm.

Das leichteste Reifgeborene wog 3421g, das schwerste Reifgeborene hatte ein Gewicht von 5125g.

APGAR-Score

Die Bestimmung des APGAR- Scores wurde als standardisierte, klinische Vitalitätsbeurteilung bei jedem der 137 Reifgeborenen eine, fünf und zehn Minuten nach der Geburt durchgeführt. Bereits in der Beurteilung nach einer Minute zeigten die Neugeborenen, mit einem durchschnittlichen APGAR- Score von 9, Normalbefunde in Hautfarbe, Puls, Reaktion beim Absaugen, Muskeltonus und Atmung.

Tabelle 4.2: Mittelwert, Median, Standardabweichung und Spannweite stetiger Merkmale im Kollektiv der Reifgeborenen.

Dargestellt ist die Auflistung von Mittelwert, Median, Standardabweichung und Spannweite der Merkmale Größe, Gewicht und APGAR- Score aller untersuchten Reifgeborener (n=137).

Reifgeborene	Größe (cm)	Gewicht (g)	Apgar 1	Apgar 5	Apgar 10
Mittelwert	50	3421	9	10	10
Median	50	3405	9	10	10
Standard-abweichung	2,063	482,714	,913	,632	,375
Minimum	45	2380	5	8	8
Maximum	55	5125	10	10	10

4.1.4. Frühgeborene

Von 82 der untersuchten 84 unreifen Frühgeborenen konnten die zu untersuchenden Variablen Sauerstoffpartialdruck, Sauerstoffsättigung, inspiratorische Sauerstofffraktion und die Erkrankung/ Nichterkrankung an einer BPD, PVL und RPM ermittelt werden. 2 der Frühgeborenen befanden sich postnatal auf der Neugeborenenstation und wurden innerhalb der ersten Lebenswoche entlassen, so dass die genannten Parameter nicht sicher erhoben werden konnten.

Oxygenierung (Sauerstoffpartialdruck, Sauerstoffsättigung)

Bei 46 Frühgeborenen (56 %) wurde ein Sauerstoffpartialdruck von weniger als 6 kPa zum Zeitpunkt der Blutentnahme gemessen. 36 (34 %) der Kinder zeigten hier einen pO_2 von ≥ 6 kPa. Die gemessenen Werte der Sauerstoffsättigung sind in der Tab. 4.3. zusammengefasst.

Tab.4.3.: Sauerstoffsättigung bei Frühgeborenen.

Dargestellt sind die gemessenen Sauerstoffsättigungen der Frühgeborenen.

Sauerstoff-sättigung	Häufigkeit	Prozente
80-85%	2	2,4
86-93%	19	23,2
> 93%	61	74,4
Gesamt	82	100,0

Höhe der Sauerstoffzufuhr

Bei 72 der Frühgeborenen wurde zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine inspiratorische Sauerstofffraktion von unter 30% verzeichnet und 10 der Frühgeborenen erhielt eine Sauerstoffzufuhr mit einer F_iO_2 von 30% oder mehr.

Untersuchte Erkrankungen

10 der 82 Frühgeborenen (12%) entwickelten eine brochopulmonale Dsyplasie.

8 Kinder (10 %) entwickelten eine Retinopathia praematurorum.

Zwei der Frühgeborenen (2 %) entwickelten eine periventrikulären Leukomalazie.

4.1.5. Art der Sauerstoffzufuhr bei Früh- und Reifgeborenen

Alle 137 Reifgeborenen atmeten spontan. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme atmeten 40 der Frühgeborenen (49%) selbstständig ohne zusätzliche supportive Maßnahmen. 19 der frühgeborenen Kinder (23%) erhielt eine pharyngeale Atemhilfe mittels IMV oder CPAP. 23 der Frühgeborenen wurde invasiv mechanisch beatmet.

4. 2. Gemessene Hydroperoxidwerte bei gesunden Reifgeborenen

80 % der 137 Reifgeborenen zeigten eine Hydroperoxidbelastung von 56-184 FORT (10.-90. Perzentile).

4.3 Parameter bei Reifgeborenen

4.3.1 Geburtsgewicht- und gröÙe

Die reifen Neugeborenen hatten im Durchschnitt ein Geburtsgewicht von $\bar{x} = 3405$ Gramm.

Ein Vergleich der Hydroperoxidbelastung zwischen den Kindern, die weniger oder mehr als 3405g wogen, zeigte keinen signifikanten Unterschied. ($132,89 \pm 124,05$ [Median 110 FORT] vs. $126,32 \pm 124,98$ [Median 102 FORT], $p = 0,946$). Abbildung 4.2 zeigt die grafische Darstellung der Hydroperoxidbelastungen der Gruppen im Boxplot-Diagramm

Zwischen den Reifgeborenen die kleiner/gleich und größer als der Durchschnitt (Median: 50cm) waren, sahen wir bezüglich der Hydroperoxidkonzentrationen keine signifikanten Unterschiede. ($124,48 \pm 121,87$ [Median 106 FORT] vs. $138,23 \pm 128,49$ [Median 108 FORT], $p = 0,374$)

Somit konnte kein Zusammenhang zwischen der Hydroperoxidbelastung und dem Geburtsgewicht/ der Geburtsgröße gefunden werden.

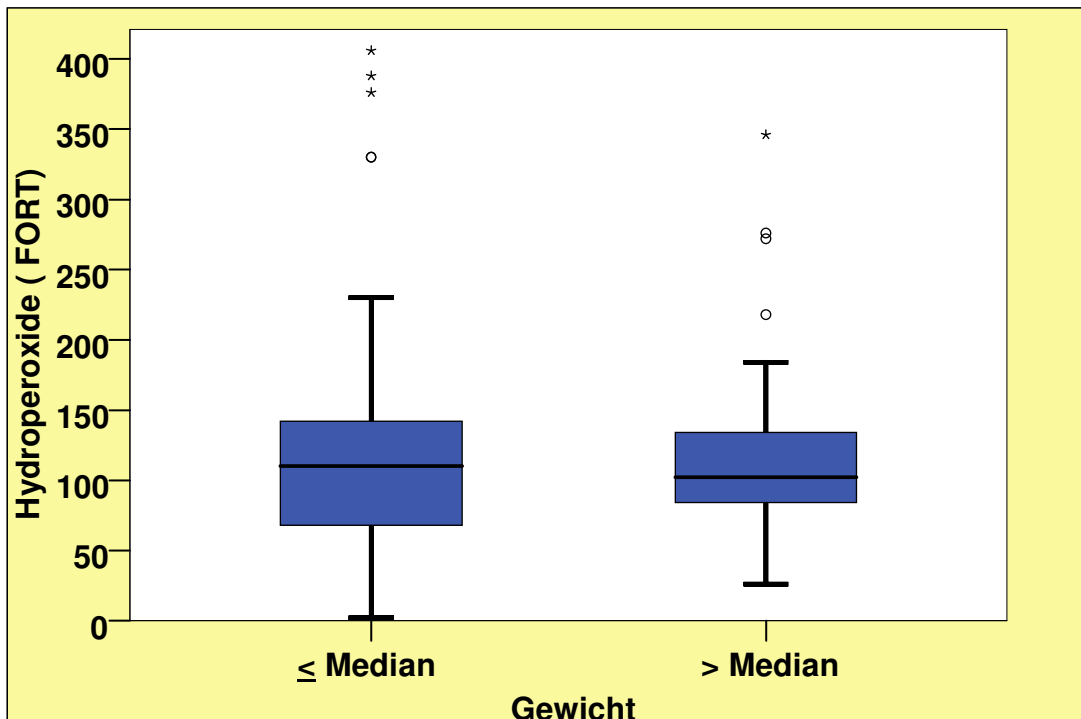


Abb. 4.2.: Hydroperoxide (FORT) vs. Gewicht.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide bei verschiedenen Gewichtsgruppen (Median: 3405g) bei Reifgeborenen im Boxplotdiagramm ($n = 137$, $p = 0,946$).

4.3.2 APGAR- Score

Da die untersuchten Reifgeborenen im Durchschnitt bereits nach einer Minute eine gute postnatale Adaptation zeigten, der Median des APGAR- Score (1 Minute) lag bei 9 Punkten, war eine Gruppenbildung schwierig. Der Vergleich zwischen der Gruppe von Kindern, die unter 9 Punkten im 1-Minuten-APGAR- Score lagen und derer die 9 oder den maximalen Wert von 10 Punkten erreichten erbrachte keine signifikanten Unterschiede. ($134,18 \pm 132,05$ [Median: 110 FORT] vs. $102,50 \pm 51,69$ [Median: 101 FORT], $p=0,284$). Da im APGAR Score nach 5 Minuten bereits 56 % und im APGAR Score nach 10 Minuten 86 % der Reifgeborenen den maximalen Punktwert von 10 erreichten, erfolgte der Vergleich bezüglich der Hydroperoxidbelastung zwischen den Kindern, bei denen der APGAR-Score (5/10 Minuten) bei weniger als 10 Punkten lag und den Kindern, die den optimalen Punktwert hatten. Auch hier zeigten sich weder beim fünf noch beim zehn Minutenwert signifikante Unterschiede.

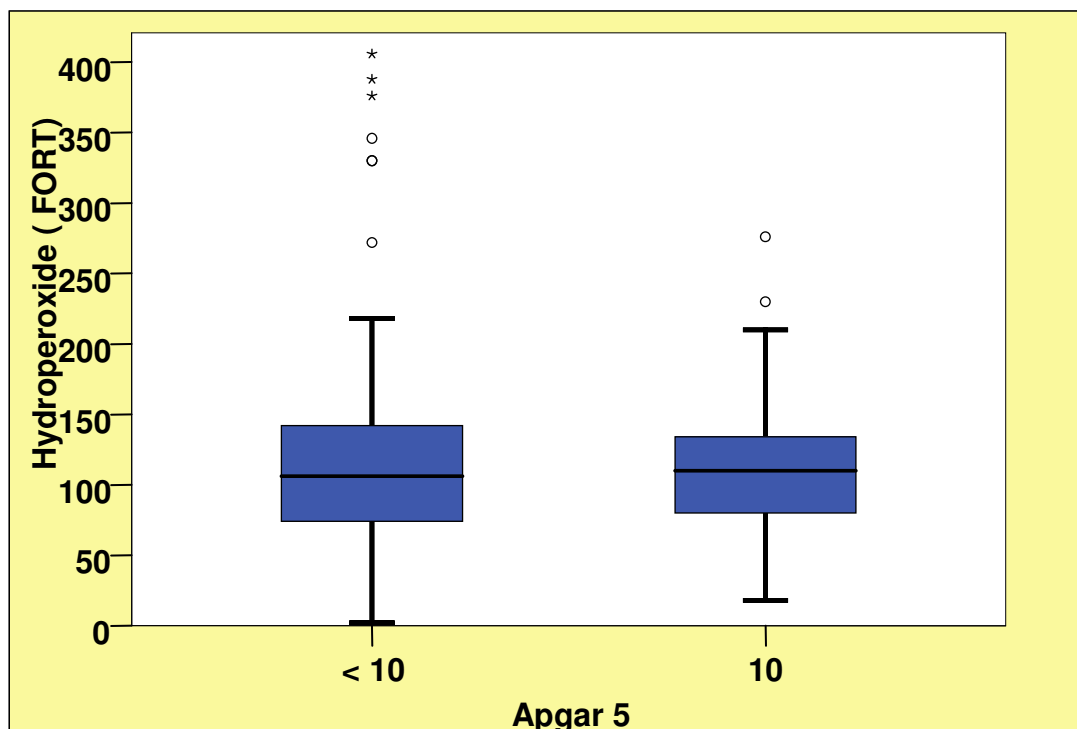


Abb. 4.3 Hydroperoxide (FORT) bei APGAR 5.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide bei Reifgeborenen, die im 5 Minuten APGAR- Score einen Wert von 10 oder weniger Punkten erreichten ($n=137$, $p=0,499$).

4.3.3 Geburtsmodus

Ein Vergleich der Hydroperoxidbelastungen zwischen den Reifgeborenen, die spontan oder per sectionem geboren wurden, zeigte keinen signifikanten Unterschied. ($135,67 \pm 140,02$ [Median 108 FORT] vs $111,66 \pm 51,69$ [Median 106 FORT], $p= 0,996$). Abbildung 4.4 zeigt die grafische Darstellung der Hydroperoxidbelastungen der verschiedenen Geburtsmodi im Boxplot-Diagramm.

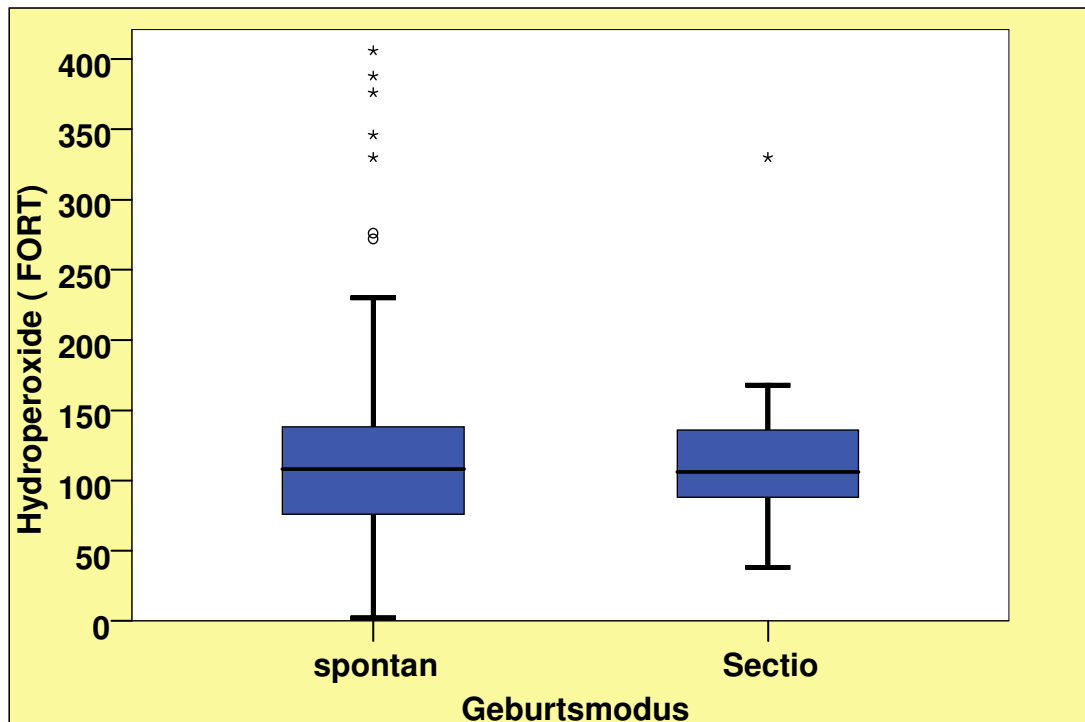


Abb. 4.4: Hydroperoxide (FORT) vs. Geburtsmodus.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide bei verschiedenen Geburtsmodi (Spontangeburt und Sectio caesarea) bei Reifgeborenen im Boxplotdiagramm ($n= 137$, $p= 0,996$).

4.4 Art der Sauerstoffzufuhr bei Reif- und Frühgeborenen

Die spontanatmenden Kinder (alle RG und 40 FG) zeigten eine mittlere Hydroperoxidbelastung von 122 FORT. Bei den 19 Frühgeborenen, die eine Atemhilfe benötigten, wurde durchschnittlich ein FORT-Wert von 87,89 gemessen. Bei den invasiv mechanisch beatmeten Frühgeborenen wurde im Durchschnitt eine Hydroperoxidbelastung von 98,39 FORT nachgewiesen. Zwischen den Gruppen gab es keinen signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test; $p: 0,167$) bezüglich der Hydroperoxidbelastung.

Abbildung 4.5 zeigt die grafische Darstellung der Hydroperoxidbelastungen bei den verschiedenen Arten der Sauerstoffzufuhr im Boxplot-Diagramm.

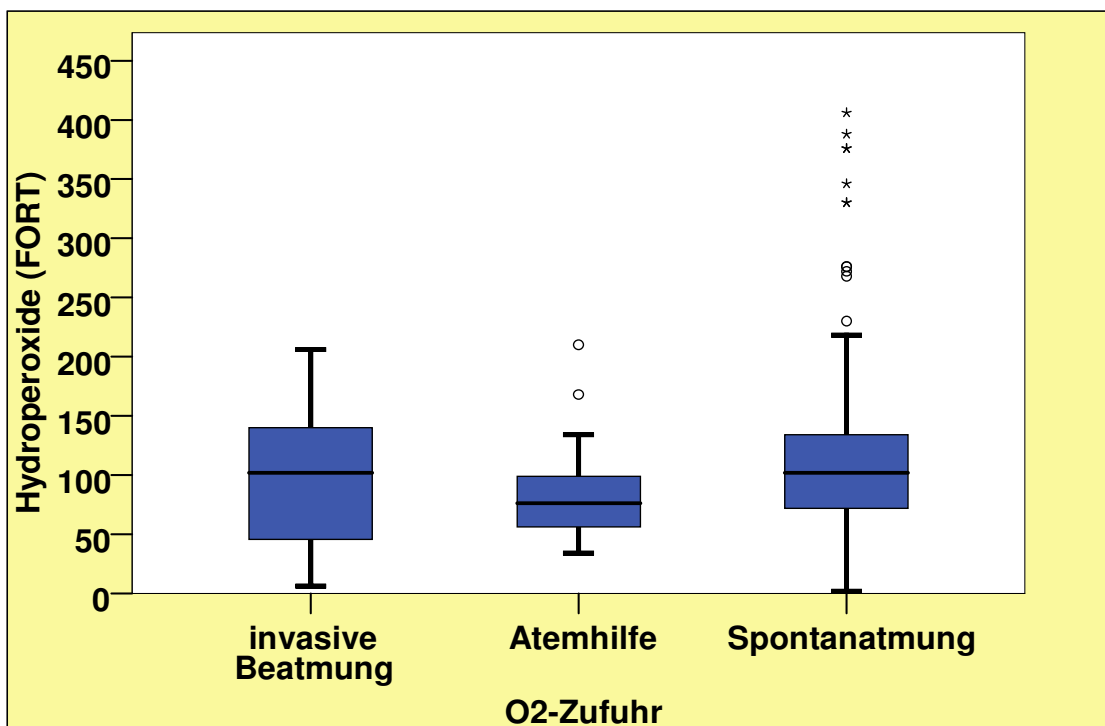


Abb. 4.5: Hydroperoxide (FORT) bei verschiedenen Arten der O₂-Zufuhr.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide bei verschiedenen Arten der Sauerstoffzufuhr (Spontanatmung, Atemhilfe und invasive Beatmung) bei Reif- und Frühgeborenen im Boxplotdiagramm ($n= 221$, $p= 0,167$).

Zu beachten sind die Hydroperoxidwerte bei der Spontanatmung, die außerhalb der Box liegen (° / *). Diese Ausreißer sind Reifgeborene.

4.5 Parameter der Frühgeborenen

4.5.1 Höhe der inspiratorische Sauerstofffraktion

Die Frühgeborenen, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme entweder spontan atmeten oder mit einer inspiratorischen Sauerstofffraktion von weniger als 30% behandelt wurden, zeigten durchschnittlich eine Hydroperoxidbelastung von 95,17 FORT. Bei den Kindern, bei denen eine höhere inspiratorische Sauerstofffraktion nötig war, wurden im Durchschnitt Werte von 104,5 FORT gemessen. Es zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. ($95,17 \pm 62,32$ [Median 80 FORT] vs. $104,5 \pm 64,66$ [Median 117 FORT]; $p= 0,547$)

Abbildung 4.6 zeigt die grafische Darstellung der Hydroperoxidbelastungen bei verschiedenen inspiratorischen Sauerstofffraktionen im Boxplot-Diagramm.

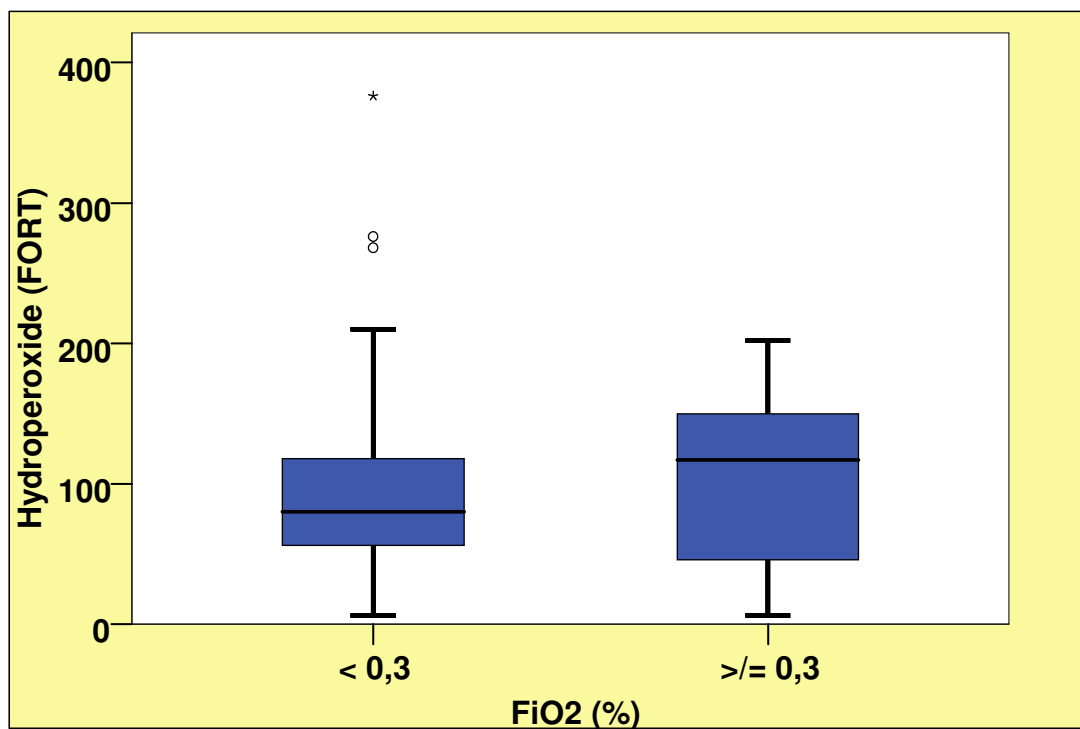


Abbildung 4.6: Hydroperoxide (FORT) bei unterschiedlicher FiO₂.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide bei verschiedenen inspiratorischen Sauerstofffraktionen (FiO₂) bei Frühgeborenen im Boxplotdiagramm (n= 82, $p= 0,547$).

4. 5. 2 Oxygenierung

Der Vergleich zwischen den Frühgeborenen, bei denen ein Sauerstoffpartialdruck größer/ gleich und kleiner 6 kPa gemessen wurde, erbrachte keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Hydroperoxidbelastung. ($95,70 \pm 52,34$ [Median 96 FORT] vs. $97,08 \pm 73,68$ [Median 72 FORT]; $p= 0,543$)

Auch die Gruppen der Sauerstoffsättigung zeigten sich bezüglich der Hydroperoxidbelastung nicht signifikant unterschiedlich (Kruskal- Wallis- Test; $p= 0,722$). So hatten die FG mit einer Sauerstoffsättigung von 80-83% eine durchschnittliche Hydroperoxidbelastung von 82 FORT. Kinder, die in die Gruppe 2 (86-93%) zugeordnet wurden, zeigten im Durchschnitt Hydroperoxidwerte von 100,74 FORT und Kinder der Gruppe 3 (> 93%) Werte von 95,39 FORT. Abbildung 4.7 zeigt die grafische Darstellung der Hydroperoxidbelastungen bei den Gruppen der Sauerstoffsättigung im Boxplotdiagramm.

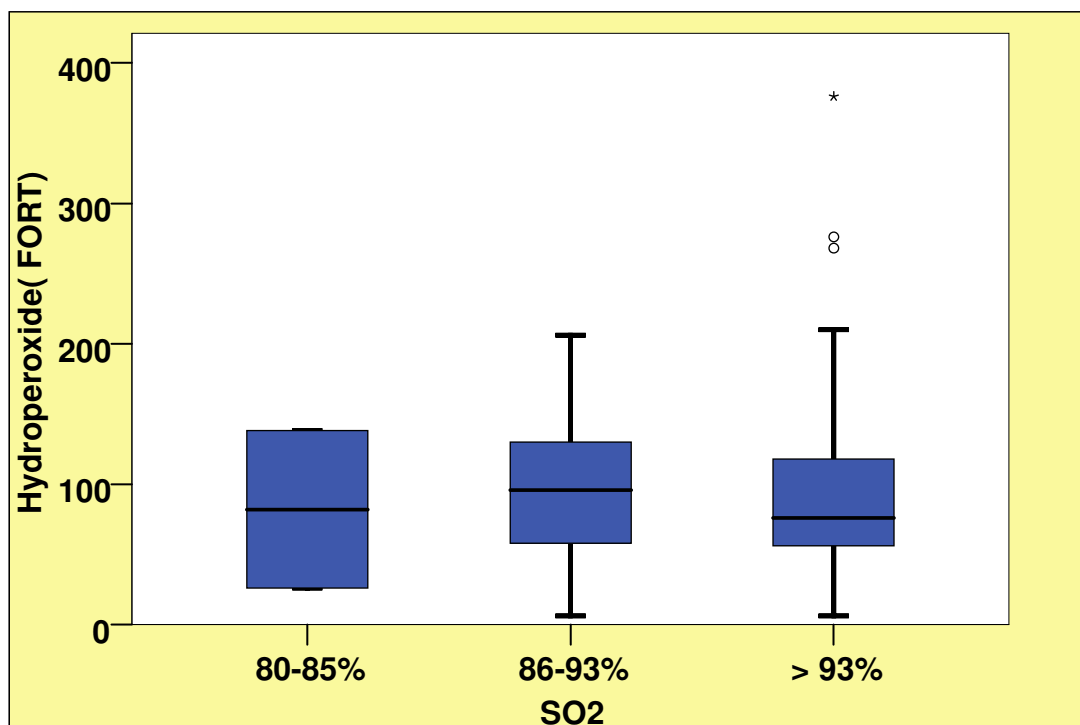


Abb. 4.7: Hydroperoxide (Fort) bei verschiedener Sauerstoffsättigung.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide bei verschiedenen Sauerstoffsättigungen (SO₂) bei Frühgeborenen im Boxplotdiagramm ($n= 82$, $p= 0,722$).

4. 6 Untersuchte Erkrankungen

4. 6. 1 Bronchopulmonale Dysplasie

Bei den 10 Frühgeborenen, die eine bronchopulmonalen Dysplasie entwickelten, wurde im Durchschnitt ein Wert von 108,6 FORT in der ersten Lebenswoche gemessen. Bei den Kindern, die später nicht an einer bronchopulmonalen Dysplasie erkrankten, wurde eine durchschnittlich niedrigere Hydroperoxidbelastung festgestellt (Mittelwert: 94,6 FORT). Jedoch zeigen sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede ($p= 0,242$). Abbildung 4.8 zeigt den Vergleich bezüglich der Hydroperoxidbelastung bei den an einer BPD erkrankten und nichterkrankten Frühgeborenen im Boxplotdiagramm.

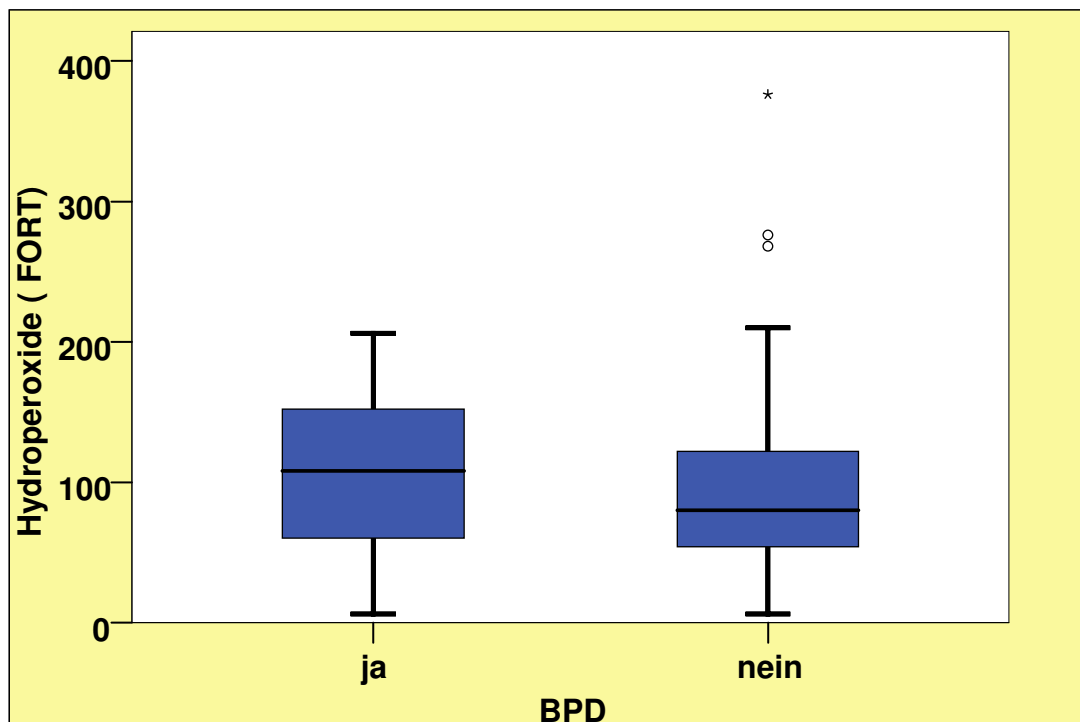


Abbildung 4.8: Hydroperoxide (FORT) mit vs. ohne BPD.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide zwischen an einer bronchopulmonalen Dysplasie erkrankten Frühgeborenen und nicht erkrankten Frühgeborenen im Boxplotdiagramm ($n= 82$, $p= 0,242$).

4.6.2 Retinopathia praematurorum

Bei den Frühgeborenen, die an einer Retinopathia praematurorum erkrankten, beobachteten wir durchschnittlich höhere Fortwerte (Mittelwert: 114,25 FORT) als bei den Kindern, die nicht erkrankten (Mittelwert: 94,36 FORT). Allerdings waren auch hier keine signifikanten Unterschiede zu messen ($p=0,434$).

Abbildung 4.9 zeigt den Vergleich zwischen den beiden Gruppen (RPM/ ohne RPM) hinsichtlich der Hydroperoxidbelastung.

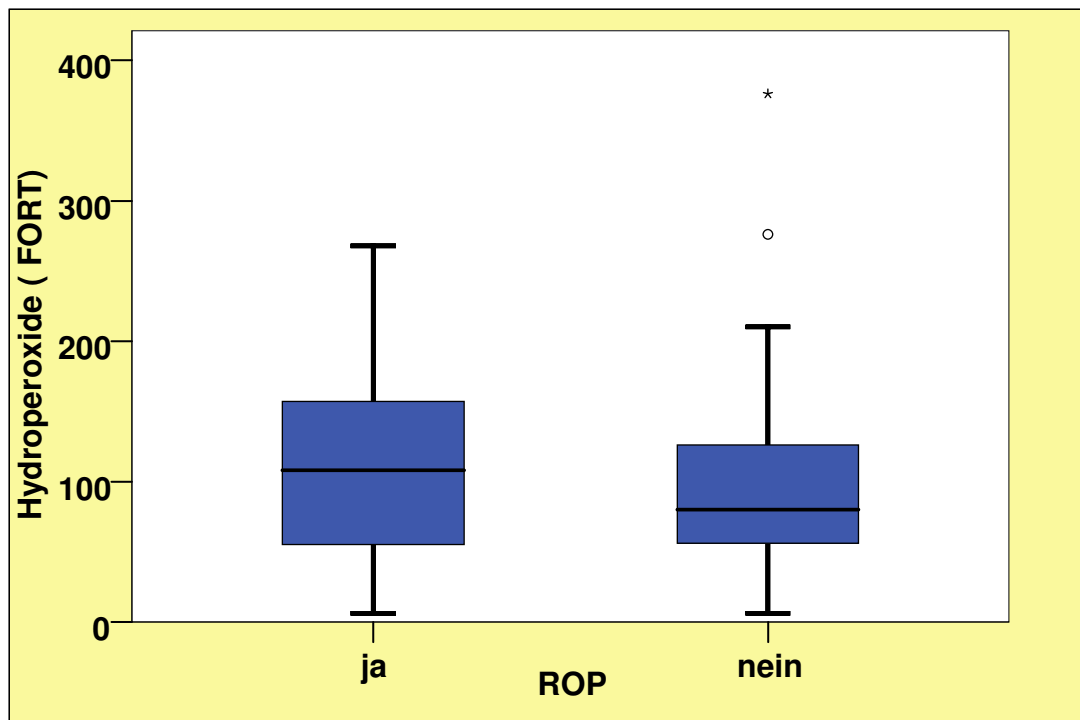


Abb. 4.9.: Hydroperoxide (Fort) mit vs. ohne Retinopathia praematurorum.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide zwischen an einer Retinopathia praematurorum erkrankten Frühgeborenen und nicht erkrankten Frühgeborenen im Boxplotdiagramm ($n=82$, $p=0,434$).

4.6.3 Periventrikuläre Leukomalazie

Abbildung 4.10 zeigt den Vergleich zwischen den Frühgeborenen, die an einer periventrikulären Leukomalazie erkrankten, und denen, die nicht erkrankten, hinsichtlich der Hydroperoxidbelastung.

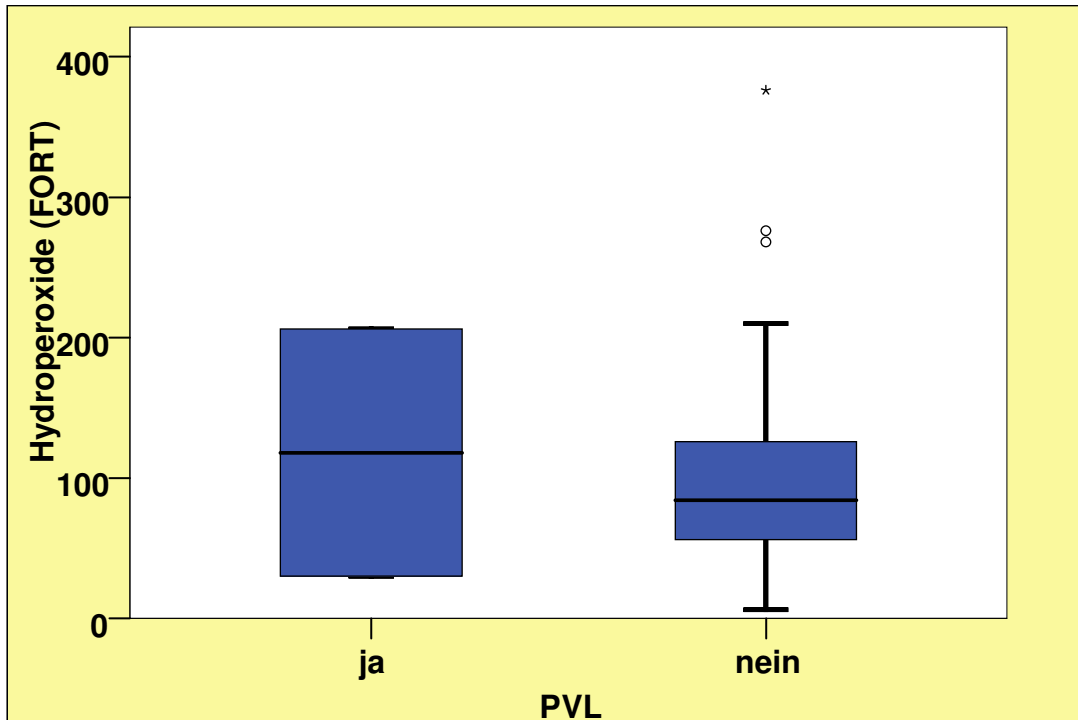


Abb 4.10: Hydroperoxide (FORT) mit vs. ohne PVL.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide zwischen an einer periventrikulären Leukomalazie erkrankten Frühgeborenen und nicht erkrankten Frühgeborenen im Boxplotdiagramm (n= 82).

Rein deskriptiv wurden bei den zwei erkrankten Frühgeborenen im Durchschnitt eine höhere Hydroperoxidbelastung festgestellt (Mittelwert: 118 FORT) als bei den Gesunden (Mittelwert: 95,76 FORT). Eine Prüfung, ob ein Zusammenhang zwischen der Hydroxyperoxidbelastung und dem Erkrankungsrisiko einer periventrikulären Leukomalazie besteht, ist aufgrund der geringen Anzahl der Erkrankten nicht sinnvoll.

4.7 Hydroperoxide: Frühgeborene vs. Reifgeborene

Abbildung 4.11 zeigt eine Gegenüberstellung der gemessenen Hydroperoxide bei Früh- und Reifgeborenen.

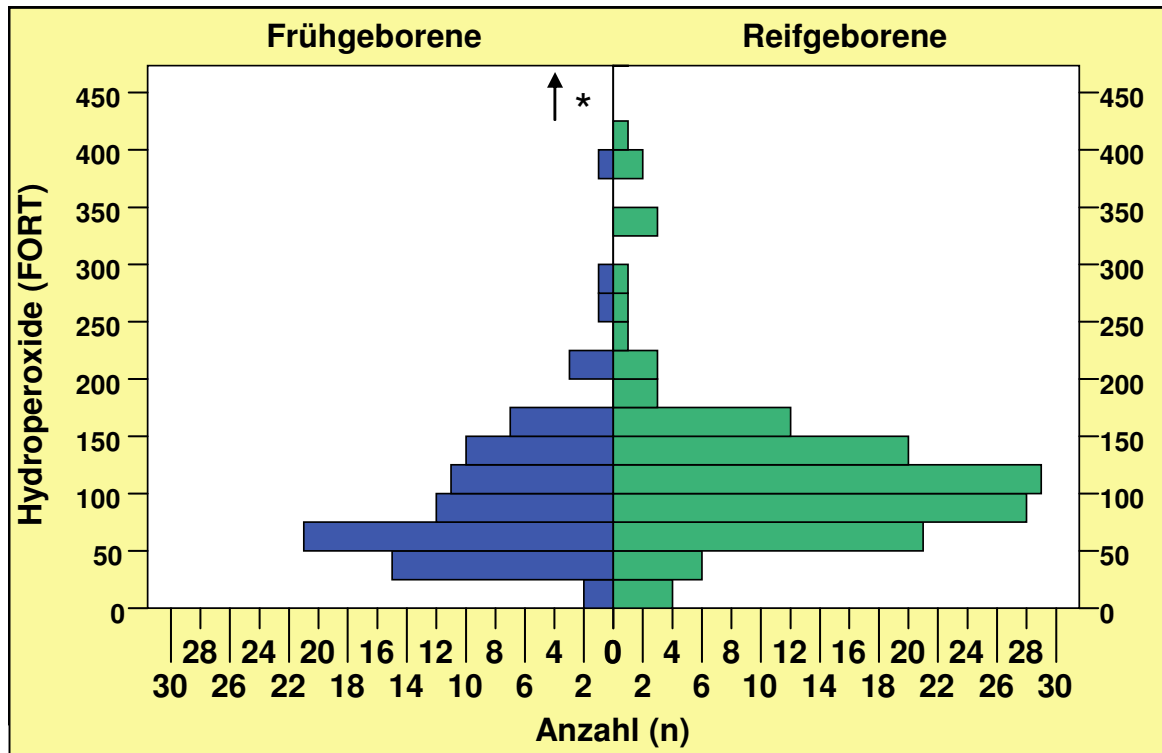


Abb. 4.11: Hydroperoxide (FORT): Verteilung bei Früh- und Reifgeborenen.

Dargestellt ist eine Gegenüberstellung der Verteilungen von Hydroperoxidwerten bei den untersuchten Reif- und Frühgeborenen. Zu beachten ist, dass zur besseren Übersichtlichkeit nur Hydroperoxidkonzentrationen bis 450 FORT abgebildet sind. Höhere Werte (*, n=2) sind nicht dargestellt. Nicht dargestellte Hydroperoxidwerte sind 1) 1050 FORT und 2) 896 FORT. Beide Werte sind bei Reifgeborenen gemessen.

In der Gruppe der Frühgeborenen wurde eine Belastung von Hydroperoxiden mit einer Spannweite von 6 bis 376 FORT (0,05- 2,86 mmol/l) gemessen. Bei den Reifgeborenen lag der niedrigste Wert bei 2 FORT (0,02 mmol/l). Die maximale Belastung von Hydroperoxiden wurde bei einem Reifgeborenen bei 1050 FORT (7,98mmol/l) ermittelt.

Reifgeborene hatten signifikant mehr Hydroperoxide als Frühgeborene ($130,2 \pm 124$ Fort [Median 106 FORT] vs. $96,2 \pm 61,8$ Fort [Median 84 FORT]; Mann-Whitney-U-Test, ($p=0,004$).

Abbildung 4.12 zeigt die grafische Darstellung der Hydroperoxidbelastungen bei Reif- und Frühgeborenen im Boxplot-Diagramm.

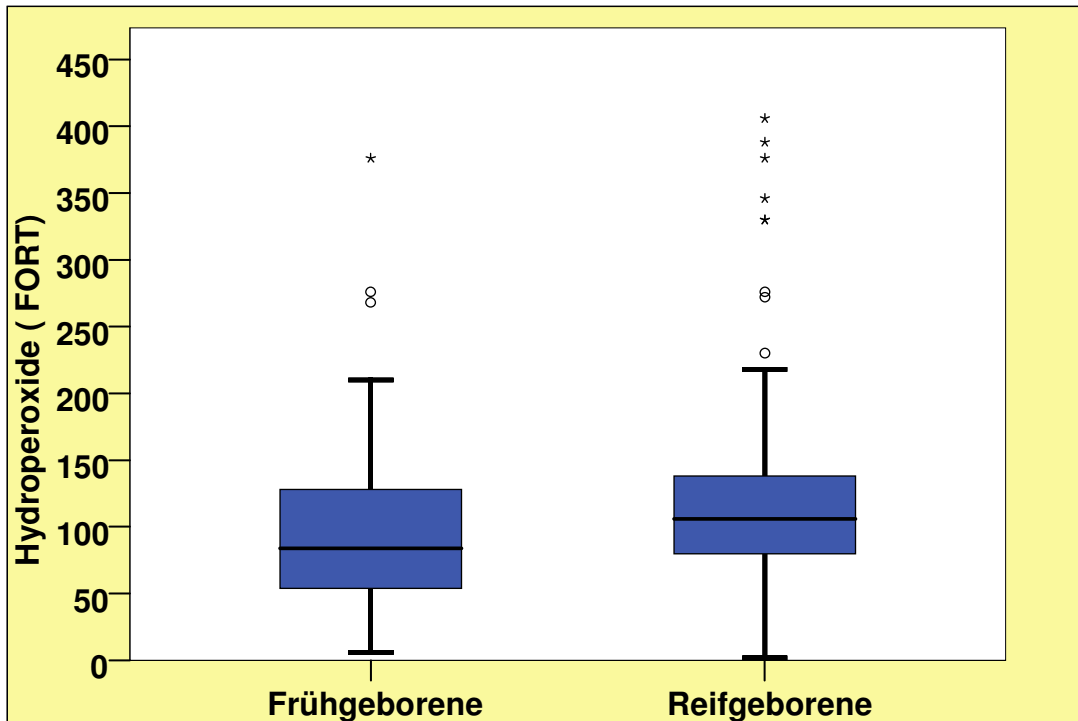


Abbildung 4.12: Hydroperoxide (FORT) bei Früh- vs. Reifgeborenen.

Dargestellt ist der Vergleich der Hydroperoxide zwischen Reifgeborenen und Frühgeborenen (n=221) im Boxplotdiagramm. Reifgeborene zeigten am dritten Lebenstag signifikant höhere Hydroperoxidkonzentrationen als Frühgeborene in der ersten Lebenswoche ($p=0,004$).

5 **Diskussion**

5.1 **Gemessene Hydroperoxidwerte bei Reifgeborenen**

Bei 80% der gesunden Neugeborenen konnte eine Hydroperoxydbelastung von 56-184 FORT (10.-90. Perzentile) am dritten Lebenstag gemessen werden. Es liegen bisher keine Richtwerte des FORT- Tests für die perinatale Periode vor. Die Referenzbereiche für Erwachsene können der Tabelle 5.1 entnommen werden.

Tabelle 5.1: Bewertung FORT- Einheiten für Erwachsene.

Dargestellt ist eine abgestufte Bewertung der gemessenen FORT Werte bei Erwachsenen. Laut Fachinformation der Firma Incomat Medizinische Geräte GmbH (Glashütten, Deutschland).

230- 311	Normalwert
311- 341	Leicht erhöhter oxidativer Stress
341- 401	Oxidativer Stress
401-501	Hoher oxidativer Stress
> 500	Sehr hoher oxidativer Stress

Hieraus wird klar, dass unsere beobachteten Richtwerte für gesunde Reifgeborene niedriger als die des Erwachsenen sind.

Die gefundene niedrigere Belastung bei Reifgeborenen im Vergleich zu Erwachsenen stimmt mit früheren Untersuchungen mit dem d-ROM Test, der durch ein ähnliches Testverfahren die Hydroperoxidbelastung misst, überein (Parmigiani 1997).

Diese Beobachtungen wären durch bessere antioxidative Kapazitäten des neonatalen Erythrozyten bzw. Plasmas erklärbar. Frosali et al. konnten 2004 in diesem Zusammenhang bei Neugeborenen (Reif- und Frühgeborene) ein effizienteres GSH-Recyclingsystem der Erythrozyten am Tag der Geburt nachweisen als bei gesunden Erwachsenen. Wiedeman et al wiesen 2003 in neonatalem Blut eine verminderte Oxidationsanfälligkeit durch den höheren Gehalt an Bilirubin und niedrigeren Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Vergleich zum adultem Plasma nach.

5.2 Hydroperoxide bei Reifgeborenen

Wir konnten keine signifikanten Unterschiede des oxidativen Stresses bei RG, die spontan oder per sectionem geboren worden, feststellen. Der mögliche Zusammenhang zwischen Anstrengung bzw. Geburtsmodus und oxidativem Stress ist Inhalt einiger Studien gewesen. Manche Autoren verzeichneten einen höheren oxidativen Stress bei Kindern, die per Kaiserschnitt geboren wurden (Georgeson et al 2002, Inanc et al 2005). Andere, wie auch wir, konnten keine Assoziation zwischen der Höhe des oxidativen Stresses und dem Geburtsmodus erkennen (Fogel et al 2005, Hracsko et al 2007). In diesem Zusammenhang ist festzuhalten, dass wir nicht den Einfluß von primärer und sekundärer Sectio auf den oxidativen Stress untersuchten. Lurie et al beobachteten 2007 bei Neugeborenen, die mit Notfallsectio geboren wurden, höhere Malondialdehydkonzentrationen (MDA, weiterer Marker der Lipidperoxidation) im Nabelschnurblut als bei Neugeborenen, die mit elektiver Sectio zur Welt kamen. Hierbei wird klar, dass der oxidative Stress eines Neugeborenen eher nicht durch den Geburtsmodus selbst beeinflusst wird, sondern den schon vorher existierenden fetalen oxidativen Status widerspiegelt.

Auch für die anderen untersuchten Einflussparameter (Geburtsgewicht und Geburtsgröße, Apgar-Score und Geschlecht) konnten wir keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Hydroperoxidbelastung aufzeigen. Parmigiani et al untersuchten 2000 bei 80 NG den Einfluß von u.a. Geschlecht, Apgar-Score und Geburtsgewicht auf die Hydroperoxidbelastung (d- ROM- Test) im Nabelschnurblut. Auch hier zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Apgar-Scores und des Geburtsgewichts. Allerdings wurden hier bei den weiblichen NG signifikant niedrigere Hydroperoxidbelastungen als bei den männlichen NG gemessen.

In Bezug auf den Einflussfaktor Geburtsgewicht und Geburtsgröße untersuchten wir Kinder mit einem Gewicht von $3421 \pm 483\text{g}$ und einer Größe von $50 \pm 2\text{cm}$. Upadhaya et al konnten 2005 bei NG mit einem Geburtsgewicht von unter 2500g eine höhere Malondialdehydbelastung als bei NG mit einem Geburtsgewicht über 2500g im Nabelschnurblut nachweisen. Die Unterschiede des antioxidativen Status bei normalgroßen und zu kleinen Reifgeborenen konnten auch von Yuan Shun Lee et al 2005 dargestellt werden. Es wäre folglich interessant gewesen, wenn wir mehr kleinere und leichtere Reifgeborene auf die Hydroperoxidbelastung in unsere Messungen einbezogen hätten, um den möglichen Einfluß von intrauteriner Wachstumsretardierung auf die Hydroperoxidbelastung genauer zu untersuchen.

5.3 Hydroperoxide bei Frühgeborenen- Auswirkungen auf die Morbidität

5.3.1 Hydroperoxide als Risikofaktor in der Entwicklung der Bronchopulmonalen Dysplasie.

Anhand unserer Ergebnisse lässt sich kein Unterschied in der Höhe der Hydroperoxidkonzentration in der ersten Lebenswoche im Blut zwischen den FG, die später an einer BPD erkrankten und denen, die nicht erkrankten, ableiten. Somit scheinen erhöhte Hydroperoxide in der ersten Lebenswoche kein Risikofaktor für die spätere Entwicklung einer BPD zu sein.

Der Einfluß auf die oxidative Schädigung in den ersten Lebenstagen auf die spätere Entwicklung einer BPD wurde in zahlreichen Studien untersucht. Es gibt einige Arbeiten, die von höheren Konzentrationen an Markern der Lipidperoxidation in Assoziation mit einer späteren Entwicklung einer BPD berichten. Die Marker wurden hierbei in Flüssigkeiten aus alveolärer Lavage, Atemluft, Plasma und Urin bestimmt.

So konnte 2004 durch Collard et al. eine höhere MDA- Konzentration in Aspiraten (Bronchoalveoläre Lavage (BAL)) und Plasma von beatmeten FG, die später an einer BPD erkrankten, am ersten und siebten Tag dargestellt werden. Sie wiesen jedoch daraufhin, dass die Höhe der oxidativen Schädigung mit endotracheale Infektionen und Septikämien assoziiert ist.

Im Plasma konnten 2004 durch Ahola et al. signifikant erhöhte 8-Isoprostankonzentrationen bei FG mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (extremely low birth weight infants, ELBWI) am dritten und siebten Lebenstag verzeichnet werden, die später an einer BPD erkrankten als bei ELBWIs, die ohne BPD überlebten.

In der ausgeatmeten Luft können Ethan und Pentan als Produkte der Lipidperoxidation gemessen werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Konzentration von Pentan signifikant abhängig von der inspiratorischen Sauerstofffraktion (Pitkänen et al 1990) ist und, dass FG die hohe Konzentrationen von Ethan und Pentan in der expirierten Luft zeigten, ein erhöhtes Risiko, im Vergleich zu FG mit niedrigen Konzentrationen, an einer BPD zu erkranken hatten (Varsila et al 1994). Nycyk et al. konnten 1998 den Zusammenhang BPD und erhöhten ausgeatmeten Pentankonzentrationen wiederum nicht aufzeigen.

1993 konnte gezeigt werden, dass MDA-Konzentrationen während des ersten Lebensmonats signifikant höher im Urin nachzuweisen sind bei FG (25-35 SSW), die a) mechanisch beatmet wurden (IMV oder HFV vs Spontanatmung), b) zusätzlich Sauerstoff erhielten und auch c) später an einer BPD erkrankten. Es konnte außerdem eine positive Korrelation zwischen der MDA Konzentration und der inspiratorischen

Sauerstofffraktion dargestellt werden (Schlenzig et al 1993). Im Gegensatz dazu konnte kein Zusammenhang zwischen der Exkretion von F2- Isoprostanen im Urin von FG (< 30 SSW) in der ersten und dritten Lebenswoche und der späteren Entwicklung einer BPD gefunden werden (Reuter et al 2007).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es zwar Hinweise auf den prädiktiven Aussagewert von Lipidperoxidationsmarkern in der ersten Lebenswoche auf die spätere Entwicklung einer BPD gibt. Jedoch scheinen hier weitere Faktoren wie unter anderem extreme Unreife sowie pulmonale und generalisierte Infektionen Einfluß zu nehmen, die in unsere Untersuchung nicht berücksichtigt wurden. In diesem Zusammenhang wurden höhere Proteinoxidationsprodukte in Trachelaspiraten von FG mit einem Geburtsgewicht unter 1500g gefunden (verglichen mit größeren FG); es zeigte sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang mit der Entwicklung einer BPD. Es konnte jedoch eine Assoziation der Proteinoxidation mit neutrophiler Aktivierung hergestellt werden (Buss et al 2000).

Solche Studien zeigen, dass bei unreifen FG eher ein Zusammenspiel aus perinataler Infektion, Baro/Volutraumata sowie hoher inspiratorischer Sauerstofffraktion über eine komplexe inflammatorische Antwort zur vermehrten Bildung von ROS und proinflammatorischen Zytokinen zu der Entwicklung einer BPD prädisponieren (Speer 2009).

5.3.2 Hydroperoxide als Risikofaktor in der Entwicklung einer Retinopathia praematurorum (ROP)

Anhand unserer Ergebnisse lässt sich kein Unterschied in der Höhe der Hydroperoxidkonzentration in der ersten Lebenswoche im Blut zwischen den FG, die an einer ROP erkrankten und denen, die nicht erkranken, ableiten. Die Höhe der Hydroperoxide in der ersten Lebenswoche scheint somit keine prädiktive Aussagekraft über die Entwicklung einer RMP zu haben. Dies ist mit den Ergebnissen aus anderen klinischen Studien vereinbar (Winterbourn 2000, Ahola et al 2004). Eine 1999 von Papp et al veröffentlichte Untersuchung an 12 Patienten mit aktiver RMP (< 3. Lebensmonat) konnten im Vergleich zu nicht erkrankten gleichaltrigen Kontrollen niedrigere Konzentrationen an reduziertem Glutathion (GSH) und höhere Konzentrationen an der oxidierten Form (GSSG) feststellen. Die Autoren schlugen vor, den Quotienten aus oxidierten und reduzierten Glutathion, der mehr als zweifach erhöht bei den FG mit aktiver Erkrankung war, als Screening Methode bei Risikokindern zu verwenden. Hierbei ist festzuhalten, dass die GSSG/ GSH Ratio, als Ausdruck des oxidativen Stresses, in einer bereits manifesten Phase der Erkrankung gemessen wurde und somit eigentlich keine Aussage über den Risikofaktor „oxidativer Stress“ in der Entwicklung einer ROP getroffen werden kann.

Es gibt wenige klinische Studien, die eine tragende Rolle von reaktiven Sauerstoffverbindungen in der Entwicklung bzw. Progression einer ROP darstellen. Allerdings konnte in einer Metaanalyse von mehreren klinischen Studien, die den Einfluß von antioxidativen Vitamin E- Prophylaxen bei FG prüften, eine insgesamt 52%ige Reduktion der Inzidenz von ROP (Grad 3+) verzeichnet werden (Raju et al 1997). Allerdings wurden unter der Vitamin E Prophylaxe ein vermehrtes Auftreten von Sepsis, nekrotisierenden Enterokolitiden und Hirnblutungen verzeichnet.

Saito et al konnten 2007 in einem Tierexperiment mit Ratten, dass die Entstehung einer ROP nachahmt, eine steigende Produktion von Lipidhydroperoxiden während der Ausbildung von avaskulären Arealen der Retina mit maximalen Konzentrationen in der Zeit der intravitrealen Neovaskularisation darstellen. Durch die Injektion von antioxidativ wirksamen N- Acetylcystein wurde die Lipidhydroperoxidbildung reduziert. Diese Reduktion zeigte jedoch keinen Einfluß auf die avaskulären Areale oder Neovaskularisationen in der Retina. Diese Daten deuten daraufhin, dass andere komplexe Wege – in Verbindung mit ROS- in der Pathogenese einer ROP eine Rolle spielen und dass endogene Lipohydroperoxide selbst nicht ursächlich für die Neovaskularisation sind.

Es gibt jedoch Hinweise dafür, dass der Sauerstoff selbst neben der Unreife der FG den pathogenetischen Hauptfaktor in der Entwicklung einer ROP darstellt.

Die Bedeutung von Sauerstoff in der Entwicklung einer ROP wird in einer retrospektiven Untersuchung an 295 FG (< 28. SSW) klar: 27,2 % der Kinder, deren arterielle Sauerstoffsättigung bei 88-98% gehalten wurde, entwickelten im Gegensatz zu 6,2% der Kinder, die eine Sauerstoffsättigung von 70-90% zeigten, eine schwere operationsbedürftige ROP (Tin et al 2001).

Sun et al konnten 2002 bei untersuchten 1544 Kindern (extremly low birth weight (ELBW)) die Erkrankungshäufigkeiten an BPD und ROP in Abhängigkeiten von der Sauerstoffsättigung der Kinder ($\leq 95\%$ vs. $>95\%$) aufzeigen. Die Autoren berichteten von signifikant niedrigeren Inzidenzen an schwerer ROP (10% vs 29%) und BPD (27% vs. 53%) bei Kindern, die mit einer angestrebten Sauerstoffsättigung von $\leq 95\%$ behandelt wurden. Hiermit zeichnet sich ab, dass die höheren Grade der ROP durch den zurückhaltenden Einsatz von Sauerstoff vermieden werden können, eindeutige Empfehlung existieren bislang aber noch nicht (Pelken und Maier 2008).

2010 wurde wiederum von der Studiengruppe SUPPORT an 1316 (24.-28 SSW) beobachtet, dass niedrigere Zielbereiche der Sauerstoffsättigung (85-89%) im Vergleich zu höheren Zielbereichen (91-95%) die Entwicklung einer schweren ROP nicht signifikant vermindern.

5.3.3 Hydroperoxide als Risikofaktor in der Entwicklung von einer periventriculären Leukomalazie

In unserer Untersuchung erkrankten nur 2 FG an einer periventriculären Leukomalazie weshalb ein statistischer Vergleich in der Hydroperoxidbelastung zwischen erkrankten und nicht erkrankten Kindern nicht sinnvoll erschien.

Dennoch sprechen einige Daten für den oxidativen Stress in der Pathogenese der periventriculären Leukomalazie. Es wurden neuroanatomische Untersuchungen mit immunzytochemischen Markern für oxidativen (Hydroxynonenal) und nitrativen (Nitrotyrosine) Stress durchgeführt. Hier wurde eine Anreicherung in Pre-Oligodendrozyten und reaktiven Astrozyten im Bereich von diffusen Läsionen der weißen Substanz dokumentiert (Haynes et al 2003). Interessanterweise konnten Gerstner et al 2008 zeigen, dass Hyperoxie (80% Sauerstoffinkubation) in vitro in Pre-Oligodendrozyten zur vermehrter ROS Generation und zu vermehrtem Zelltod im Vergleich zu Normooxie führt. Weiterhin konnte demonstriert werden, dass reife Oligodendrozyten keine vermehrte Vulnerabilität gegenüber Hyperoxie zeigen. Die vermehrte Verletzlichkeit der Pre- Oligodendrozyten könnte durch die Tatsache erklärt werden, dass antioxidative Enzyme (Cu/ZnSOD und MnSOD) in der weißen Substanz zwischen der 18 und 38 Gestationswoche weniger exprimiert werden und es erst verzögert ab der 38 Woche zur verstärkten Bildung der beiden Superoxiddismutasen kommt (Folkerth et al 2004) .

Diese Beobachtungen sind wichtig für das Management der betroffenen Frühgeborenen in der Klinik. Aber nicht nur die Vermeidung von Hyperoxie durch zusätzliche Sauerstofftherapien, sondern auch das Vermeiden von Hypokapnie im Rahmen von Beatmungstherapien sollten angestrebt werden. CO₂ ist ein potenter cerebraler Vasodilatator und in einigen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen früher Hypokapnie und dem Auftreten einer PVL gezeigt werden (Murase und Ishida 2005).

Wenige Studien an lebenden Frühgeborenen unterstützen die Hypothese der Toxizität von ROS bei der PVL. So wurden in einer Studie von Inder et al 2002 erhöhte Proteincarbonyle im Liquor- als Marker für oxidativen Stress- bei FG mit späteren magnetresonanztomografischen Hinweisen einer PVL im Vergleich zu gesunden FG gefunden. Auch bei der bereits erwähnten Studie von Ahola et al 2004 konnte auch eine erhöhte 8- Isoprostankonzentration bei 8 untersuchten FG mit PVL gemessen werden.

5.4 Vergleich Hydroperoxide bei Reif- und Frühgeborenen

Der Vergleich zwischen den untersuchten Reif- und Frühgeborenen erbrachte überraschenderweise eine signifikant höhere Hydroperoxidbelastung der Reifgeborenen. Nach der Geburt ist das NG durch die Umstellung auf eine relativ sauerstoffreiche Umwelt auch vermehrt ROS ausgesetzt. Vor allem bei FG wird die ROS Produktion durch perinatale Hypoxie und den daraus folgenden therapeutischen Einsatz von Sauerstoff sowie Infektionen aggraviert. Dieser erhöhten Produktion von freien Radikalen steht ein zum Teil noch unreifes System gegenüber (Saugstad 2005). Deshalb wäre zu erwarten, dass FG eine höhere Hydroperoxidbelastung, als Marker für oxidativen Stress, zeigen, wie es bei Buonocore et al 2002 beobachtet werden konnte. Unsere Beobachtungen deuten nicht auf einen vermehrten oxidativen Stress im Plasma von FG im Vergleich zu RG hin. Aber auch andere Studien konnten keinen höheren oxidativen Stress durch Lipidperoxidationsmarker bei FG nachweisen. So konnte Winterbourn et al 2000 keinen signifikanten Unterschied in der Malonaldehydkonzentration bei RG und FG aufzeigen. In der gleichen Studie wurden sogar höhere Proteincarbonylkonzentrationen, als Marker der Proteinoxidation, bei Reifgeborenen gemessen.

Ein Erklärungsversuch wäre, dass die gemessene oxidative Schädigung im Plasma keinesfalls Ausdruck für die oxidative Schädigung im Gewebe ist. Frosali et al. untersuchten in diesem Zusammenhang 2003 die erythrozytären Konzentrationen von GSH und GSSG sowie den GSH/GSSG Quotienten am Tag der Geburt bei Reif- und Frühgeborenen. Sie konnten keinen Unterschied zwischen den Gruppen darstellen. Dieses effektive System im Blut könnte gerade bei Frühgeborenen einen kompensatorischen Mechanismus für das defiziente antioxidative System im unreifen Gewebe darstellen (Frank 1984).

Weitere Erklärungsansätze könnten in der Methode selbst liegen und stellen somit eine mögliche Fehlerquellen unserer Untersuchung dar.

Bei der Betrachtung unserer Ergebnisse fällt auf, dass die RG nicht nur signifikant höhere Hydroperoxidbelastungen am dritten Lebenstag hatten als FG in der ersten Lebenswoche zeigten, sondern auch dass bei den RG zwei Kinder außerhalb des für die FORT- Methode gültigen Messbereichs (≤ 500 FORT) lagen. Hierbei ist wichtig zu erwähnen, dass sich das FORM- Photometer auf der Kinderintensivstation befand. Die Blutentnahmen der RG fanden auf der Neugeborenenstation des Universitätsklinikum Halle/ Saale statt. Diese wurden dann noch auf der Neugeborenenstation in die Mikrovette mit Reagenz 1 eingebracht, um dann zur Bearbeitung auf die Kinderintensivstation transportiert zu werden. Die Bearbeitung der Proben dauerte bei

den RG allein schon durch den Transportweg länger. Es konnte gezeigt werden, dass die Lagerung der Blutproben für bis zu 7 Stunden auf Eis keinen Einfluß auf die FORT-Werte hat (Garelnabi et al 2008). Es gibt aber keine Daten darüber, ob die Inkubation in der Reagenz 1 durch den längeren Transportweg die FORT Werte beeinflusst und das hierdurch falsch hohe Werte entstehen. Dies muss noch weiter untersucht werden und könnte Inhalt weiterer Studien sein.

Außerdem ist unsere Beobachtung der höheren Hydroperoxidbelastung bei Reifgeborenen durch den Umstand zu erklären, dass alle Frühgeborenen in den ersten 3 Lebenstagen im Gegensatz zu den Reifgeborenen mit Vitamin C (FG< 1000g: 1x50mg/d, FG>1000g: 1x100mg/d) und im Verlauf mit Multibionta (Vit. D, Vit. B1, Vit.B2, Vit B6, Vit C, Niacin) als Standard behandelt wurden (FG<1000g: 1x 5 Tropfen, FG> 1000g: 2x 5 Tropfen). Die Gabe der antioxidativ wirksamen Vitamine verfälscht eventuell die Hydroperoxidwerte und ist als mögliche Schwäche unserer Studie anzusehen.

6 Schlussfolgerungen

Wir erarbeiteten einen Richtwert für Hydroperoxide im Blut bei gesunden Reifgeborenen am 3. Lebenstag mit dem „ free oxygen radical monitor“ (FORM). Dieser zeigte sich nicht von Geburtsgewicht, Geburtsgröße, APGAR Score und Geburtsmodus beeinflusst.

Der Vergleich zu Frühgeborenen ergab bei den Neugeborenen signifikant höhere Werte als bei den Frühgeborenen. Dies ist überraschend, stimmt aber mit anderen Untersuchungen überein (Winterbourn et al 2000). Andererseits könnte dieses Ergebnis durch die Methode erklärt werden (Medikation der FG mit antioxidativ wirksamen Vitaminen, längere Transportwege der Proben der RG).

In der Literaturübersicht erscheinen direkte Beweise, dass freie Radikale ursächlich für die Entstehung einer bronchopulmonalen Dysplasie, periventrikulären Leukomalazie oder Retinopathia praematurorum sind, begrenzt. Auch wir konnten keinen Zusammenhang zwischen der Hydroperoxidbelastung und der späteren Erkrankung an einer bronchopulmonalen Dysplasie oder Retinopathia praematurorum darstellen.

Vielleicht sollten freie Radikale besser als Nebenprodukte in einer komplexen Pathogenese im Rahmen von Inflammationen und Ischämie/Reperfusionstrauma betrachtet werden. Des Weiteren ist es möglich, dass oxidativer Stress als lokales Phänomen angesehen werden sollte. Das würde erklären, warum die Messung im Blut keinen Einfluß auf die spätere Erkrankung zeigt. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass neonatale Erythrozyten bessere antioxidative Kapazitäten als adulte Erythrozyten haben, was ein defizientes unreifes Enzymsystem im Gewebe ausgleichen könnte.

In folgenden Untersuchungen wird es zudem von Vorteil sein, nicht nur einen einzelnen Wert für oxidativen Stress zu bestimmen, sondern erweiterte Untersuchungen des oxidativen Status mit GSH/GSSG Ratio, Vitamin C und E, antioxidativ wirksamen Enzymen (wie z.B. Catalase und Superoxiddismutase) neben Lipidperoxidationsmarkern zu veranlassen, um Risikokinder zu identifizieren.

7 Zusammenfassung

Ein Neugeborenes ist aufgrund der peri- und postnatalen Umstellung von der intrauterinen hypoxischen auf eine für ihn relativ hyperoxische Umwelt vermehrt reaktiven Sauerstoffverbindungen ausgesetzt. Gerade Frühgeborene sind u.a. aufgrund des noch unreifen antioxidativen Schutzsystems und zusätzlicher Sauerstofftherapie einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt. Eine der schwersten Folgeerkrankung ist Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie, Retinopathia praematurorum oder periventrikuläre Leukomalazie. In den 80er Jahren wurde von Saugstad in Zusammenhang der genannten Krankheitsbilder der Begriff „oxygen free radical diseases of prematurity“ (Freie Radikal Erkrankungen bei Frühgeborenen) ins Leben gerufen, um auf die eventuell gemeinsame Genese der Erkrankungen aufmerksam zu machen (Saugstad 2005). Direkte Beweise, dass reaktive Sauerstoffverbindungen wirklich eine kausale Rolle bei den „oxygen free radical diseases of prematurity“ spielen, sind begrenzt.

In der vorliegenden Studie untersuchte ich den oxidativen Stress in der Perinatalperiode mit dem „Free oxygen radical monitor“ mit dem Ziel, einen Richtwert für Hydroperoxide bei gesunden Neugeborenen zu erarbeiten und mögliche Einflussfaktoren zu finden. 80 % der untersuchten 137 Reifgeborenen zeigten eine Hydroperoxidbelastung von 56-184 FORT (10.-90. Perzentile). Geburtsgewicht, Geburtsgröße, APGAR-Score und Geburtsmodus zeigten keinen Einfluß auf die Hydroperoxidbelastung. Der Vergleich zwischen den 137 Reifgeborenen und 84 Frühgeborenen erbrachte überraschenderweise signifikant höhere Hydroperoxidbelastungen bei den Reifgeborenen.

In einem zweiten Schritt sollte der Einfluß der Art (spontan, Atemhilfe, mechanische Beatmung) und der Höhe der Sauerstoffzufuhr ($F_{iO_2} \geq 30\%$ vs. $F_{iO_2} > 30\%$) sowie der Einfluß der Oxygenierung (Sauerstoffpartialdruck $pO_2 \leq 6kPa$ vs. $pO_2 > 6kPa$; Sauerstoffsättigung $SaO_2 80-85\%$ vs. $SaO_2 85-93\%$ vs. $SaO_2 > 93\%$) auf die Hydroperoxidbelastung bei Frühgeborenen untersucht werden. Auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede in den Hydroperoxidbelastungen verzeichnet werden. Zuletzt stellten ich mir die Frage, ob eine hohe Hydroperoxidbelastung einen Risikofaktor für die spätere Entwicklung einer bronchopulmonale Dysplasie, periventrikulären Leukomalazie oder Retinopathia praematurorum darstellt. Hier konnte ich keinen Zusammenhang zwischen der Höhe der Hydroperoxidbelastung und der Entwicklung einer bronchopulmonalen Dysplasie oder Retinopathia praematurorum feststellen.

Anhand der Ergebnisse und der Literaturübersicht könnten reaktive Sauerstoffspezies besser als Nebenprodukte von Inflammation und Ischämie/ Reperfusionstraum in einer komplexen Pathogenese der genannten Erkrankungen betrachtet werden. Des Weiteren ist es möglich, dass oxidativer Stress als lokales Phänomen mit noch unreifen antioxidativen Verteidigungssystemen im Gewebe bei Frühgeborenen angesehen werden sollte. Das würde erklären, warum die Messung im Blut keinen Einfluß auf die spätere Erkrankung zeigt.

Außerdem sind weitere Untersuchungen notwendig, ob durch die gewählte Methode ein Zusammenhang zwischen oxidativen Stress und den „oxygen free radical diseases of prematurity“ dargestellt werden kann.

8 Literaturverzeichnis

- Ahola T, Fellmann V, Kjellmer I, Raivio KO, Lapatto R (2004) Plasma 8- Isoprostane is increased in preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia or periventricular leukomalacia. *Pediatric Res* 56 (1): 88-93.
- Ballabh P, Braun A, Nedergaard M (2004) Anatomic analysis of blood vessels in germinal matrix, cerebral cortex and white matter in developing infants. *Pediatr Res* 56: 117-24.
- Berger HM, Murmby S, Gutteridge JMC (1995) Ferrous ions detected in iron-overloaded cord blood plasma for preterm and term babies. Implications for oxidative Stress. *Free Rad Res* 22: 555-559.
- Berkowitz GS, Papiernik E (1993) Epidemiology of preterm birth. *Epidemiol Rev* 15: 414-443.
- Bard H, Widness JA (1997) The lifespan of erythrocytes transfused to preterm infants. *Pediatr Res* 42: 9-11.
- Bracci R, Buonocore G, Talluri B, Berni S (1988) Neonatal hyperbilirubinemia. Evidence for a role of the erythrocyte enzyme activities involved in the detoxification of oxygen radicals. *Acta Paediatr Scand* 77: 349-356.
- Buccellato LJ, Tso M, Akinci OI, Chandel NS, Budinger GR (2004) Reactive oxygen species are required for hyperoxia induced Bax activation and cell death in alveolar epithelial cells. *J of Biol Chem* 279(8): 6753-6760.
- Buonocore G, Perrone S, Bracci R (2001) Free Radicals and Brain Damage in the Newborn. *Biol Neonate* 79: 180-186.
- Buonocore G, Perrone S, Longini M, Vezzosi P, Marzocchi B, Paffetti P, Bracci R (2002) Oxidative Stress in Preterm Neonates at Birth and on the Seventh Day of Life. *Pediatric Res* 52: 46-4.
- Buss IH, Darlow BA, Winterbourne CC (2000) Elevated lipid carbonyls and lipid peroxidation products correlating with myeloperoxidase in tracheal aspirates from premature infants. *Pediatr Res* 47(5):640-5.
- Collard KJ, Godeck S, Holley JE, Quinn MV (2004) Pulmonary antioxidant concentrations and oxidative damage in ventilated babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 89: F412-6.
- Connor JR, Menzies SL (1996) Relationship of iron to oligodendrocytes and myelination. *Glia* 17: 83-93.
- Fogel I, Pinchuk I, Kupferminc MJ, Lichtenberg D, Fainaru O (2005) Oxidative stress in the fetal circulation does not depend on mode of delivery. *Am J Obstet Gynecol* 193: 241-246.
- Folkerth RD, Haynes RL, Borenstein NS, Belliveau RA, Trachtenberg F, Rosenberg PA, Volpe JJ, Kinney HC (2004) Developmental lag in superoxid dismutases relative to other antioxidant enzymes in premyelinated human telencephalic white matter. *J Neuropathol Exp Neurol* 63:990-9.

- Frank L, Groseclose EE (1984) Preparation for birth into an O₂ rich environment: the antioxidative enzymes in the developing rabbit lung. *Pediatr Res* 18:240-4.
- Frank L, Bucher JR, Roberts RJ (1978) Oxygen toxicity in neonatal and adult animals of various species. *J Appl Physiol* 45(5):699-704.
- Frank L (1991) Developmental aspects of experimental pulmonary oxygen toxicity. *Free Radic Biol Med* 11: 463-494.
- Fridovich I. (1995) Superoxid radical and SODs. *Annu Rev Biochem* 64:97-112.
- Frosali S, Di Simplicio P, Perrone S, Di Giuseppe D, Longini M, Tanganelli D, Buonocore G (2004) Gluthatione Recycling and Antioxidant Enzyme Activities in Erythrocytes of Term and Preterm Newborns at Birth. *Biol Neonate* 85: 188-194.
- Garelnabi MO, Brown WV, Le NA (2008) Evaluation of a novel colorimetric assay for free oxygen radicals as a marker of oxidative stress. *Clin Biochem* 41: 1250-1254.
- Georgeson GD, Szony BJ, Streitman K, Varga IS, Kovács A, Kovács L, László A (2002) Antioxidant enzyme activities are decreased in preterm infants and neonates born via caesarean section. *Eur J Obstetgynecol Reprod Biol* 103: 136-139.
- Gerstner B, DeSilva TM, Genz K, Armstrong A, Brehmer F, Neve RL, Felderhoff-Mueser U, Volpe JJ, Rosenberg PA (2008) Hyperoxia causes maturation- dependent cell death in the developing white matter. *J Neurosci* 28 (5): 1236-1245.
- Gopinathan V, Miller NJ, Milner AD, Rice- Evans CA (1994) Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma. *FEBS Lett* 349: 197-200.
- Gornter L, Meyer S (2008) Die brochopulmonale Dysplasie Frühgeborener- Pathophysiologie, Klinik, Diagnostik und Therapie. *Intensivmed* 44:475-485.
- Gutteridge JMC (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue Damage. *Clin Chem* 41: 1819-1828.
- Gutteridge JMC, Halliwell B (1990) The measurement and mechanism in biological systems. *Trends Biochem Sci* 15: 129-135.
- Hack M, Taylor HG, Drotar D, Schluchter M, Cartar L, Wilson-Costello D, Klein N, Friedman H, Mercuri-Minich N, Morrow M (2005) Poor predictive validity of the Bayley Scales of Infant Development for cognitive function of extremely low birth children at school age. *Pediatrics* 116: 333-341.
- Haga P, Hunde G (1978) Selenium and vitamin E in cord blood from preterm and full term infants. *Acta Paediatr Scand* 67:735-739.
- Halliwell B, Gutteridge JMC: Free radicals in biology and medicine. Fourth edition. Oxford press, New York, 2007, p 102.
- Halliwell B (1989) Tell me about free radicals, doctor: a review. *J R Soc Med* 82:747-52.
- Halliwell B, Chirico S (1993) Lipid peroxidation: its mechanism, measurements and significance. *Am J Clin Nutr* 57: 715-725.

- Haynes RL, Folkerth RD, Keefe RJ, Sung I, Swzeda LI, Rosenberg PA, Volpe JJ, Kinney HC (2003) Nitrosative and oxidative injury in premyelinating oligodendrocytes is accompanied by microglial activation in periventricular leukomalacia in the human premature infant. *J Neuropathol Exp Neurol* 62: 441- 450.
- Heckmann M (2008) Pathogenese der Retinopathia praematurorum. *Ophthalmologie* 105: 1101-1107.
- Hellström A, Perruzzi C, Ju M, Engstrom E, Hard AL, Liu JL, Albertsson-Wikland K, Carlsson B, Niklasson A, Sjödel L, LeRoith D, Senger DR, Smith LE (2001) Low IGF-1 suppresses VEGF- survival signaling in retinal endothelial cells: direct correlation with clinical retinopathia of prematurity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 5804-5808.
- Hellström A, Engström E, Hård AL, Albertsson-Wikland K, Carlsson B, Niklasson A, Löfqvist C, Svensson E, Holm S, Ewald U, Holmström G, Smith LE (2003) Postnatal serum insulin like growth factor 1 deficiency is associated with retinopathia praematurorum and other complications of premature birth. *Pediatrics* 112: 1016-1020.
- Hirano K, Morinobu T, Kim H, Hiroi M, Ban R, Ogawa S, Ogihara H, Tamai H, Ogihara T (2001) Blood transfusion increases radical promoting non transferrin bound iron in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 84:F188-93.
- Hracsko Z, Safar Z, Orvos H, Novak Z, Pal A, Varga IS (2007) Evaluation of oxidative stress markers after vaginal delivery of caesarean section. *In Vivo* 21 (4): 703-706.
- Inanc F, Kilinc M, Kiran G, Guven A, Kurutas EB, Cikim IG, Akyol O (2005) Relationship between oxidative stress an route of delivery. *Fetal Diagn Ther* 20: 450-453.
- Inder T, Mocatta T, Darlow B, Spencer C, Volpe JJ, Winterbourn C (2002) Elevated free radical products in the cerebrospinal fluid of VLBW infants with cerebral white matter injury. *Paediatr Res* 52: 213-18.
- Jobe AH, Bancalari E (2001) Bronchopulmonary Dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 1723-29.
- Jori G. Bericht zur Effizienz und Zuverlässigkeit des FORM Systems (Free oxygen reactiv monitor). In: Fachinformation des FORM der Firma Incomat Medizinische Geräte GmbH. 2002: 12- 18.
- Kellner U, Wachtlin J.: *Retina. Diagnostik und Therapie der Erkrankung des hinteren Augenabschnitts.* Thieme, Stuttgart, 2008, 220ff.
- Kelly FJ (1993) Free radical disorders of preterm infants. *Bri Med Bull* 49 (3):668- 678.
- Khwaja O, Volpe JJ (2008) Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 93 (2): F153-F161.
- Lad EM, Nguyen TC, Morton JM, Moshfeghi DM (2008) Retinopathia praematurorum in the United States. *Br J Ophthalmol* 92: 320- 325
- Lebovitz RM, Zhang H, Vogel H, Cartwright J Jr, Dionne L, Lu N, Huang S, Matzuk MM (1996) Neurodegeneration, myocardial injury and perinatal death in mitochondrial SOD deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 9782.

- Lee YS, Chou YH (2005) Antioxidativ Profiles in fullterm and preterm neonates. *Chang Gung Med J* 28:846-851.
- Leviton A, Dammann O, Durum SK (2005) The adaptive immune response in neonatal cerebral white matter damage. *Ann Neurol* 58: 821-828.
- Löffler G, Petrides PE: *Biochemie und Pathobiochemie*. 6. Auflage. Springer, Berlin, 1998
- Lorenz B (2008) Aktuelle augenärztliche Aspekte der akuten Retinopathia praematurorum. *Ophthalmologie* 105: 1092-1100.
- Lurie S, Matas Z, Boaz M, Fux A, Golan A, Sadan O (2007) Different degrees of fetal oxidative stress in elective and emergent cesarean section. *Neonat* 92: 111-115.
- Maalouf EF, Duggan PJ, Counsell SJ, Rutherford MA, Cowan F, Azzopardi D, Edwards AD (2001) Comparison of findings on crainal ultrasound and magnetic resonanca imaging in preterm infants. *Paediatrics* 50: 712-719.
- Michaelis R, Niemann GW: *Entwicklungsneurologie und Neuropädiatrie*. 3. Auflage. Thieme, Stuttgart, 2004; 32ff.
- Miller DM., Buettner GR, Aust SD (1990) Transition metals as catalyts of autooxidation reactions. *Free Radic Biol Med* 8: 95-108.
- Murase M, Ishida A (2005) Early hypocarbia of preterm infants: its relationship to periventricular leukomalacia and cerebral palsy, and its risk factors. *Acta Paediatr* 94: 85- 91.
- Muskala B, Wauer RR (2002) Die Validität der Neonatalerhebungen für respiratorische Morbidität und Mortalität in Deutschland 1997 – 1999. *Kinderärztl Praxis* 73:S14.
- Nycyk JA, Drury JA, Cooke RW (1998) Breath pentane as a marker for lipid peroxidation and adverse outcome in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 79:F67-9.
- Parmigiani S, Gambini L, Massari A, Pezzani I, Payer C, Bevilacqua G (1997) Evaluation of reactive oxygen metabolites with a micromethod in neonates: determination of standards of normality in full- term healthy infants. *Acta Biomed Ateneo Parm* 68 (1): 103-106.
- Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M (2000) A detailed interpretation of OH radical footprint in a TBP DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *J Mol Biol* 304: 55-68.
- Papp A, Nemeth I, Karg E, Papp E (1999) Glutathione status in retinopathia of prematurity. *Free Radic Biol Med* 27: 738-743.
- Pelken L, Maier RF (2008) Risikofaktoren und Prävention der Retinopathia praematurorum. *Ophthalmologie* 105: 1108- 1114.
- Pierce EA, Avery RL, Foley ED, Aiello LP, Smith LE (1995) Vascular endothelial growth factor/ vascular endothelial permeability factor expression in a mouse model of retinal neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 905-909.

Pitkänen OM, Hallmann M, Andersson SM (1990) Correlation of free oxygen induced lipidperoxidation with outcome in very low birth weight infants. *J Pediatr* 116:760-4.

Raju TN, Langenberg P, Bhutani V, Quinn GE (1997) Vitamin E prophylaxis to reduce retinopathia of prematurity; a reappraisal of published trails *J Pediatr* 131: 884-850.

Reuter SD, O'Donovan DJ, Hegemier SE, Smith EO, Heird WC, Fernandes CJ (2007) Urinary F2- isoprostanes are poor prognostic indicators for the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Perinatol* 27: 303-306.

Saikumar P, Dong Z, Weinberg JM, Venkatachalam MA (1998) Mechanisms of cell death in hypoxia- reoxygenation injury. *Oncogene* 17: 3341-3349.

Saito Y, Geisen P, Uppal A, Harnett ME (2007) Inhibition of NADPH oxidase reduces apoptosis and avascular retina in an model of retinopathia of prematurity. *Mol Vis* 13: 840-53

Saugstad OD (2001) Update on oxygen radical disease in neonatology. *Curr Opin Obstet Gynecol* 13: 147-153.

Saugstad OD (2005) Oxidative stress in the newborn- a 30- year perspective. *Biol Neonate* 88: 228-236.

Schlenzig JS, Bervoets K, von Loewenich V, Böhles H (1993) Urinary malonaldehyde concentration in preterm neonates: is there a relationship to disease entities of neonatal intensive care? *Acta Paediatr* 82: 630.

Sies H. Oxidativer Stress: introductory remarks. In *Oxidative Stress*, Academic Press, London, 1985. p1-8.

Skulachev VP (1996) Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. *Q Rev Biophys* 29: 169-202 .

Speer CP (2009) Chorioamnionitis, postnatal factors and proinflammatory response in the pathogenetic sequence of bronchopulmonary dysplasia. *Neonatology*. 95: 353-361.

Soul JS, Hammer PE, Tsuji M, Saul JP, Bassan H, Limperopoulos C, Disalvo DN, Moore M, Akins P, Ringer S, Volpe JJ, Trachtenberg F, du Plessis AJ (2007) Fluctuating pressure passivity is common in the cerebral circulation of sick premature infants. *Pediatr Res* 61: 467-73.

Sun SC (2002) Relation of targeted SpO₂ levels and clinical outcomes in ELBW infants on supplemental oxygen. *Pediatr Res* 51: A350.

SUPPORT Study group of the Eunice Kennedy Shriver NICHD Neonatal Research Network (2010) Target ranges of oxygen saturation in extremely preterm infants. *N Engl J Med* 362: 1959-69.

Takashima S, Tanaka K (1978) Development of cerebrovascular architecture and its relationship to periventricular leukomalacia. *Arch Neur* 35:11-16.

Tin W, Milligan DWA, Pennefather P, Hey E (2001) Pulse oxymetrie, severe retinopathia and outcome at one year in babies of less than 28 weeks gestation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 84: F106-F110.

Thompson A, Bhandari V (2008) Pulmonary Biomarkers of Brochopulmonary Dysplasia. *Biomark Insights* 3: 361-373.

Varsila E, Pitkänen O, Hallman M, Andersson S (1994) Immaturity- dependent free radical activity in premature infants. *Pediatr Res* 36: 55-59.

Vento G, Capoluongo E, Matassa PG, Concolino P, Vendettuoli V, Vaccarella C, Frezza S, Zuppi C, Romagnoli C, Ameglio F (2006) Serum levels of seven cytokines in premature ventilated newborns, correlation with old and new forms of bronchopulmonary dysplasia. *Intensive Care Med* 32: 723-30.

Vento M, Moro M, Escrig R, Arruza L, Villar G, Izquierdo I, Roberts LJ 2nd, Arduini A, Escobar JJ, Sastre J, Asensi MA (2009) Preterm Resuscitation with low oxygen causes less oxidative stress, inflammation and chronic lung disease. *Pediatrics* 124 (3): 439-449.

Volpe JJ. *Neurology of the Newborn*. Fourth edition. Elsevier, Philadelphia, 2001, pp307.

Weber B, Borkhardt A, Stoll- Becker S, Reiss I, Gortner L (2000) Polymorphisms of surfactant protein A genes and the risk of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Turk J Pediatr* 42: 181-185.

Weinberger B, Laskin DL, Heck DE, Laskin JD (2002) Review: oxygen toxicity in premature infants. *Toxicol Appl Pharmacol* 181: 60-67.

Widness JA, Seward VJ, Kromer IJ, Burmeister LF, Bell EF, Strauss RG (1996) Changing patterns of red blood cell transfusion in very low weight birth infants. *J Pediatr* 129(5): 680-687.

Wiedemann M, Kontush A, Finckh B, Hellewege H.H., Kohlschütter A (2003) Neonatal Blood Plasma is Less Susceptible to Oxidation Than Adult Plasma Owing to Its Higher Content of Bilirubin and Lower Content of Oxidizable Fatty Acids. *Pediatr Res* 53:843-849.

Wilson-Costello D, Friedman H, Minich N, Siner B, Taylor G, Schluchter M, Hack M (2007) Improved neurodevelopmental outcomes for extremely low birth weight infants in 2000-2002. *Pediatrics* 119: 37-45.

Winterbourn CC, Chan T, Buss IH, Inder TE, Mogridge N, Darlow BA (2000) Protein carbonyls and lipid peroxidation products as oxidation markers in preterm infant plasma: associations with chronic lung disease and retinopathy and effects of selenium supplementation. *Pediatr Res* 48: 84-90.

9. Thesen

1. Neugeborene sind vermehrt oxidativen Stress ausgesetzt.
2. 80 % der untersuchten 137 Reifgeborenen zeigten eine Hydroperoxidbelastung von 56-184 FORT (10.-90. Perzentile).
3. Die Höhe der Hydroperoxidbelastung bei Reifgeborenen ist nicht abhängig von Geburtsgröße, Geburtsgewicht, APGAR Score und Geburtsmodus.
4. Der oxidative Stress der 82 untersuchten Frühgeborenen ist nicht abhängig von der Oxygenierung des Blutes (Sauerstoffsättigung und Sauerstoffpartialdruck).
5. Der oxidative Stress unterscheidet sich nicht bei den untersuchten Frühgeborenen, die beatmet wurden, eine Atemhilfe benötigten oder völlig selbständig atmeten.
6. Die untersuchten Frühgeborenen mit erhöhten Hydroperoxiden in der ersten Lebenswoche hatten kein erhöhtes Risiko an einer brochopulmonalen Dysplasie zu erkranken.
7. Die untersuchten Frühgeborene mit erhöhten Hydroperoxiden in der ersten Lebenswoche hatten kein erhöhtes Risiko an einer Retinopathia praematurorum zu erkranken.
8. Nur zwei der untersuchten Frühgeborenen erkrankten an einer periventrikulären Leukomalazie, so dass keine Aussage über Hydroperoxide als Risikofaktor in der Entstehung einer periventrikulären Leukomalazie getroffen werden kann.
9. Bei den untersuchten Reifgeborenen wurden signifikant höhere Hydroperoxidwerte gemessen als bei den untersuchten Frühgeborenen. Dies könnte durch den längeren Transportweg der Blutproben der Reifgeborenen oder auch durch die antioxidativen Medikation der Frühgeborenen erklärt werden.
10. Reaktive Sauerstoffspezies sollten besser als Nebenprodukte von Inflammationen und Ischämie/Reperfusionstrauma in einer komplexen Pathogenese der genannten Erkrankungen betrachtet werden.
11. Andererseits könnte oxidativer Stress als lokales Phänomen mit noch unreifen antioxidativen Verteidigungssystem im Gewebe angesehen werden. Dies würde erklären, warum die Messung im Blut mit seinen effizienten antioxidativen Verteidigungsmechanismen keinen Einfluß auf die spätere Erkrankung zeigt.
12. Es sind weitere Untersuchungen notwendig, ob durch die gewählte Methode ein Zusammenhang zwischen oxidativen Stress und den „oxygen free radical diseases of prematurity“ dargestellt werden kann.

Lebenslauf
Julia Braulke

Persönliche Daten

Geburtsdatum/-ort	21.04.1981 in Hamburg
Eltern	Dr. med. Christian Braulke Dr. med. Ingelene Braulke
Geschwister	Stephan Braulke
Familienstand	ledig
Konfession	evangelisch
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schullaufbahn

1987-2001	Grundschule, Realschule, Gesamtschule in Geesthacht (Schleswig/ Holstein)
2001	Abitur
Sprachen	Englisch, Französisch

Studium

Ab 10/2001	Medizinstudium an der Martin Luther Universität in Halle/ Saale
8/2003	Physikum
2005	Beginn meiner Promotion an der Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin in Halle/ Saale Titel: Messung von Hydroperoxiden im Blut von Reif- und Frühgeborenen- Darstellung möglicher Einflussfaktoren und Auswirkung auf die Morbidität
12/2007	Staatsexamen Medizin

berufliche Laufbahn

3/2008	Assistenzärztin an der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie in Halle/ Saale
--------	---

4.12.2010,
Julia Braulke

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als angegebene Hilfsmittel angefertigt habe. Die Arbeit wurde bisher weder in In- noch Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle 4.12.2010

Julia Braulke

Erklärung über Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, dass ich keinerlei frühere Promotionsversuche unternommen habe und dass an keiner anderen Fakultät oder Universität ein Promotionsverfahren anhängig ist.

Halle 4.12.2010

Julia Braulke

Danksagung

Für die Möglichkeit der Anfertigung meiner Dissertation an der Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg möchte ich Herrn Prof. Dr. Körholz danken.

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau OÄ Dr. U. Lieser für die Unterstützung und engagierte Betreuung im gesamten Verlauf dieser Arbeit sehr herzlich bedanken. Sie stand mir jederzeit für alle Fragen und zur Lösung jeglicher Probleme zur Seite. Herrn PD Dr. Staeger möchte ich für die formale und inhaltliche Überarbeitung meiner Arbeit danken.

Meinen Eltern und meinem Bruder danke ich für ihr Verständnis und ihre ständige Unterstützung auf diesem Weg.