

**Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin  
(Department) Tübingen**

**Abteilung V**

**(Schwerpunkte: Kinderchirurgie, Kinderurologie)**

**Ärztlicher Direktor: Professor Dr. J. Fuchs**

**Zytokinexpressionsanalysen bei der  
Nekrotisierenden Enterokolitis**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Beate Schumacher**

**aus**

**Tübingen**

**2010**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1.Berichterstatter: Privatdozent Dr. G. Seitz

2.Berichterstatter: Privatdozent Dr. J. Glatzle

**Meinen Eltern**

**&**

**meinen Großeltern**

## Porträt eines Kindes

Wie viel  
durch diese sehr offenen Augen  
noch durch muss

an Menschen, Bildern  
und Schrecken,  
an Tränen und Garben von Licht –

Jetzt spiegeln sie,  
zwischen Fristen und Schlaf,  
von außen und innen  
den Himmel.

(Richard Exner)

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
1.1 Nekrotisierende Enterokolitis (NEC).....	1
1.1.1 Definition .....	1
1.1.2 Inzidenz.....	1
1.1.3 Ätiologie .....	2
1.1.4 Klinik und Verlauf .....	4
1.1.5 Diagnostik .....	6
1.1.6 Therapie.....	7
1.1.7 Diagnostische und therapeutische Probleme .....	8
1.1.8 Rolle der Zytokine bei der Pathogenese und Diagnostik der Nekrotisierenden Enterokolitis .....	9
1.2 Fragestellung dieser Studie.....	11
2. Material und Methoden .....	13
2.1 Patienten und Material .....	13
2.1.1 Studienaufbau .....	13
2.1.2 Patientengruppen.....	14
2.1.3 Studienablauf .....	15
2.1.4 Untersuchungsmaterial .....	15
2.2 Methoden .....	16
2.2.1 Hintergrundwissen Laborparameter .....	16
2.2.2 Messgerät und Reagenzien .....	20
2.2.3 Probenmaterial zur LBP-Bestimmung .....	20
2.2.4 LBP-Bestimmung mittels Chemilumineszenzreaktion .....	20
2.2.5 Probenmaterial zur Zytokin-Bestimmung .....	21
2.2.6 Zytokin-Bestimmung .....	21
2.2.7 Statistische Auswertung.....	21
3. Ergebnisse.....	24
3.1 Patienten .....	24
3.1.1 Zentren.....	24
3.1.2 Gruppenzusammensetzung .....	24
3.2 Klinische Daten .....	26
3.2.1 Entbindungsmodus .....	26

3.2.2	Geburtsgewicht und Gestationsalter .....	27
3.2.3	Studiengewicht und Studiengröße .....	29
3.2.4	Diagnostik und Therapie .....	30
3.3	Laborparameter der verschiedenen Patientengruppen .....	32
3.3.1	C-reaktives Protein (CRP).....	32
3.3.2	Leukozytenzahl .....	33
3.3.3	Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP) .....	34
3.3.4	Die Zytokine im Vergleich.....	35
3.4	Selektive Betrachtung der Laborparameter in der NEC-Gruppe .....	46
3.4.1	C-reaktives Protein (CRP).....	46
3.4.2	Leukozytenanzahl .....	47
3.4.3	Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP) .....	48
3.4.4	Zytokine.....	49
3.5	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	59
3.5.1	Klinische Daten der NEC-Gruppe .....	59
3.5.2	Patientengruppen.....	59
4.	Diskussion .....	61
4.1	Allgemeine Diskussion .....	61
4.2	Diskussion der Ergebnisse .....	62
4.3	Schlussfolgerung der Diskussion .....	69
5.	Zusammenfassung.....	71
6.	Literaturverzeichnis .....	73
7.	Anhang .....	87
8.	Lebenslauf .....	90
9.	Danksagung.....	91

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Frühgeborenes mit NEC.....	1
Abbildung 2:	Schädigung der Darmmukosa und Freisetzung von Zytokinen .....	3
Abbildung 3:	Abdomenübersichtsaufnahmen bei einem Patienten mit nekrotisierender Enterokolitis.....	6
Abbildung 4:	Die Zytokin-induzierte Entzündungskaskade endet mit der Gewebsnekrose .....	11
Abbildung 5:	Entbindungsmodus der drei Gruppen im Vergleich .....	26
Abbildung 6:	Geburtsgewicht (g) der drei Gruppen im Vergleich.....	27
Abbildung 7:	Gestationsalter (SSW) der drei Gruppen im Vergleich .....	28
Abbildung 8:	Studiengewicht (g) der drei Gruppen im Vergleich .....	29
Abbildung 9:	Studiengröße (cm) der drei Gruppen im Vergleich .....	30
Abbildung 10:	Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des CRP (mg/dl) der drei Gruppen .....	32
Abbildung 11:	Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung der Leukozytenzahl/ $\mu$ l der drei Gruppen .....	33
Abbildung 12:	Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des LBP ( $\mu$ g/ml) der drei Gruppen .....	34
Abbildung 13:	Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 1 $\beta$ (pg/ml) der drei Gruppen.....	35
Abbildung 14:	Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 2 (pg/ml) von Gruppe II und III .....	36
Abbildung 15:	Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interleukin 4 (pg/ml) bei den Gruppen II und III.....	37
Abbildung 16:	Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 6 (pg/ml) der drei Gruppen .....	38
Abbildung 17:	Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 8 (pg/ml) der drei Gruppen .....	39
Abbildung 18:	Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 10 (pg/ml) der drei Gruppen .....	40
Abbildung 19:	Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interferon- $\gamma$ (pg/ml) bei den Gruppen II und III.....	42

Abbildung 20: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Tumornekrosefaktor -alpha (TNF- $\alpha$ ) (pg/ml) bei den Gruppen II und III .....	44
Abbildung 21: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des CRP (mg/dl) der Untergruppen .....	46
Abbildung 22: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung der Leukozytenzahl/ $\mu$ l der Untergruppen .....	47
Abbildung 23: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des LBP ( $\mu$ g/ml) der Untergruppen .....	48
Abbildung 24: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 1 $\beta$ (pg/ml) der Untergruppen.....	49
Abbildung 25: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 2 (pg/ml) der Untergruppen .....	50
Abbildung 26: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interleukin 4 (pg/ml) der Untergruppen .....	51
Abbildung 27: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 6 (pg/ml) der Untergruppen .....	52
Abbildung 28: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 8 (pg/ml) der Untergruppen .....	53
Abbildung 29: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interleukin 10 (pg/ml) der Untergruppen .....	54
Abbildung 30: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des IFN- $\gamma$ (pg/ml) der Untergruppen .....	55
Abbildung 31: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des TNF- $\alpha$ (pg/ml) der Untergruppen .....	56
Abbildung 32: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des GM-CSF (pg/ml) der Untergruppen .....	57



## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Bell-Kriterien der NEC	5
Tabelle 2:	Laborparameter und Beispiele für bereits bekannte assoziierte Erkrankungen	19
Tabelle 3:	Übersicht Zentren	24
Tabelle 4:	NEC-Patienten - Diagnostik und Therapie	31
Tabelle 5:	IFN- $\gamma$ -Werte zu Abbildung 19	43
Tabelle 6:	TNF- $\alpha$ -Werte zu Abbildung 20	44
Tabelle 7:	GM-CSF-Werte	45
Tabelle 8:	Interleukin 12-Werte	55
Tabelle 9:	GM-CSF-Werte zu Abbildung 32	57
Tabelle 10:	Anzahlen der Patienten mit Expression der jeweiligen Zytokine	58
Tabelle 11:	Zytokinwerte der konservativ und operativ behandelten NEC-Patienten	87
Tabelle 12:	Klinische Daten und Laborwerte der Patientengruppe 1	88
Tabelle 13:	Klinische Daten und Laborwerte der Patientengruppe 2	89
Tabelle 14:	Klinische Daten und Laborwerte der Patientengruppe 3	89

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADP <sup>-</sup>	Adamantylidioxetanphenyl-Anion
ADPP <sup>-2</sup>	Adamantylidioxetanphenylphosphat
AP	Anus praeter
cm	Zentimeter
COX-2	Cyclooxygenase 2
CRP	C-reaktives Protein
EGF	Epidermal Growth Faktor
EM	Entbindungsmodus
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HWI	Harnwegsinfektion
IFN $\gamma$	Interferon gamma
IgA	Immunglobulin A
IL	Interleukin
iNO	induzierbare NO-Synthetase
kg	Kilogramm
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
log	Logarithmus
n	Anzahl
min	Minute
MW	Mittelwert
NBI	Neonatale bakterielle Infektion
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
NO	Stickoxid
PAF	Platelet activating factor
p	P-Wert
PD	Peritonealdrainage
SC	Sectio cesarea

SD	Standard deviation (= Standardabweichung)
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha



# 1. Einleitung

## 1.1 Nekrotisierende Enterokolitis (NEC)

### 1.1.1 Definition

Die nekrotisierende Enterocolitis (NEC) ist die häufigste lebensbedrohliche Erkrankung des Gastrointestinaltrakts des Früh- und Neugeborenen (97, 143). Es handelt sich hierbei um eine transmurale nekrotisierende Entzündung der Darmwand (143). Diese Entzündung geht charakteristischerweise mit Ödem, Ischämie und intestinaler Nekrose einher (2, 81, 146). Mit bis zu 90% sind bevorzugt das terminale Ileum und das proximale Kolon betroffen (2, 57, 143).



**Abbildung 1: Frühgeborenes mit NEC**

### 1.1.2 Inzidenz

Die Inzidenz der Erkrankung liegt zwischen 0,9 und 2,4 pro 1.000 Lebendgeburten (1). Sie ist abhängig von Gestationsalter und Geburtsgewicht (7, 167). Mit einer Inzidenz von bis zu 10% sind besonders Frühgeborene mit sehr niedrigem (= Very-low-birth-weight, < 1500g) und extrem niedrigem (= Extremely-low-birth-weight, < 1000g) Geburtsgewicht betroffen (145, 170). Es besteht kein Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem Auftreten dieser Erkrankung (25, 62).

Beschrieben werden regionale Unterschiede, sowie ein vermehrtes Vorkommen bei der farbigen Bevölkerung (25, 33). Die steigende Inzidenz der NEC ist auf das zunehmende Überleben von Frühgeborenen aufgrund von Fortschritten in der neonatologischen Intensivmedizin und dem präventiven Einsatz von Probiotika zurückzuführen (27, 56, 81, 149). Die Mortalität beträgt in Abhängigkeit von Geburtsgewicht (167) und Stadium der Erkrankung 10-50% (15, 23).

### **1.1.3 Ätiologie**

Obwohl bereits mehrere Risikofaktoren für die Entstehung einer Nekrotisierenden Enterokolitis untersucht wurden, bleibt die genaue Ätiologie nach wie vor unklar (93, 111). Man vermutet ein multifaktorielles Geschehen (2), wobei einige Risikofaktoren bekannt sind.

Zu diesen Risikofaktoren gehören hauptsächlich die Frühgeburtlichkeit (105, 110, 167), und ein niedriges Geburtsgewicht (110, 167). Über 90% der betroffenen Kinder sind vor der 36. Schwangerschaftswoche geboren oder haben ein Geburtsgewicht von unter 1500g (62, 77, 93).

Des Weiteren wurde in bis zu 90% vor Ausbruch der Erkrankung mit enteraler Ernährung begonnen (62, 166), wobei die Gabe von Ersatznahrung einen entscheidenden Faktor darzustellen scheint (22, 27, 107). Muttermilch wird hingegen ein protektiver Effekt zugeschrieben, welcher aller Wahrscheinlichkeit nach auf deren IgA-Gehalt zurückzuführen ist (3, 42, 45, 95, 164).

Die Symptome entwickeln sich typischer Weise im Zeitraum der Darmkolonisation (100). Hierbei könnte eine verstärkte Kolonisation des Darmes mit gram-negativen Bakterien wie E.coli, Klebsiellen, Salmonellen und Clostridien ursächlich für die NEC sein (9, 41, 92, 98).

Für eine bakterielle Genese spricht zudem, dass eine prophylaktische Gabe von Antibiotika die Inzidenz der NEC reduzieren kann (50, 100).

Weitere Risikofaktoren sind die Hypoxie und Ischämie, welche zur Schädigung der Darmmukosa führen können (125, 146). Ursachen für eine Minderperfusion des Darmes können pränatalen Ursprungs sein, wie beispielsweise eine Plazentainsuffizienz oder eine Exposition mit Kokain (106, 168). Peri- bzw. postnatal stellen Asphyxie,



#### 1.1.4 Klinik und Verlauf

Die Erkrankung beginnt bei Frühgeborenen durchschnittlich in den ersten beiden Lebenswochen (7, 94, 170), während Reifgeborene bereits ein paar Tage nach ihrer Geburt erkranken können (109). Die Nekrotisierende Enterokolitis zeigt eine sehr variable klinische Ausprägung, wobei sie im Verlauf sowohl zur Restitutio ad integrum, als auch in schweren Fällen zum Tode führen kann (10, 145).

Klinische Leitsymptome sind ein distendiertes Abdomen mit dilatierten Darmschlingen und fehlender Peristaltik, galliges Erbrechen, gastrointestinale Blutungen sowie Ileus. Weitere Symptome sind abdominelle Abwehrspannung und Flankenrötung. Schwerwiegende Komplikationen stellen die Darmperforation und das Multiorganversagen dar (10, 143, 145).

Eine häufige postoperative Komplikation stellt die Entwicklung von Darmstrikturen dar (15, 80). Eine ausgedehnte Darmresektion kann zu einem Kurzdarmsyndrom und anschliessend länger dauernder parenteraler Ernährung führen (80, 131). Dies hat negative Auswirkungen auf Entwicklung und Größenwachstum des betroffenen Kindes (4, 58, 77, 131, 175, 177). Schwerwiegende kognitive, visuelle und psychomotorische Beeinträchtigungen können bei Kindern nach einer NEC beobachtet werden (138, 153, 173). Hauptursache für diese neurologischen Defizite ist die Entstehung einer periventrikulären Leukomalazie, welche nahezu 50% der NEC-Patienten betrifft (47, 138).



Mit Hilfe klinischer und radiologischer Kriterien wird die Nekrotisierende Enterokolitis nach Bell folgendermaßen klassifiziert (10):

<b>Stadium</b>	<b>Klinische Zeichen</b>	<b>Radiologische Zeichen</b>	<b>Behandlung</b>
<b>I (Verdacht auf NEC)</b>	Unspezifisch: Fütterungsschwäche, Apnoe, Bradykardie, Lethargie, Zyanose, Temperaturinstabilität, Magenreste, Blut im Stuhl	Normale oder dilatierte Darmschlingen mit mildem Ileus	<b>Konservativ</b>
<b>II (mäßige NEC)</b>	Wie Stadium I plus: GI-Blutung, fehlende Darmgeräusche, leichte Azidose und Thrombozytopenie, reduzierte Perfusion und Ödem der Darmwand	Signifikant dilatierte Darmschlingen mit Ileus, Aszites, Pneumatoxis intestinalis, Luft in der Pfortader	Konservativ, eventuell operativ
<b>III (fortgeschrittene NEC)</b>	Wie Stadium II plus: Septischer Schock mit Hypotension, Bradycardie, Apnoe, respiratorischer und metabolischer Azidose, Nierenversagen mit Anurie, disseminierte intravasale Gerinnung, Neutropenie, Rötung des Abdomens, diffuses Ödem	Wie Stadium II plus: Pneumoperitoneum und freie intraabdominelle Luft als Zeichen einer Perforation	<b>Operativ</b>

**Tabelle 1: Bell-Kriterien der NEC**

### 1.1.5 Diagnostik

Die Diagnosestellung erfolgt bislang anhand des klinischen Bildes und radiologischer Kriterien (siehe 1.1.2).

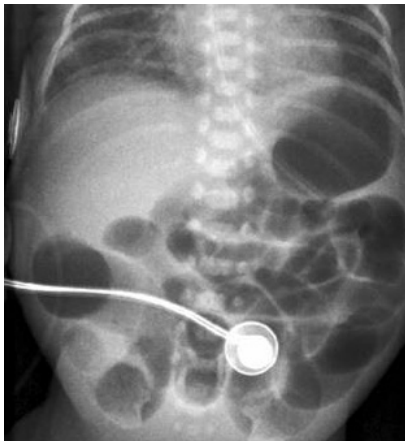
An apparativer Diagnostik stehen die Abdomensonographie und Abdomenübersichtsaufnahme zur Verfügung.

Typisches, jedoch nicht NEC-spezifisches radiologisches Zeichen der Nekrotisierenden Enterokolitis ist die Pneumatosis intestinalis, eine intramurale Gasansammlung, die durch Fermentation von Bakterien in der Darmwand entsteht (2, 21, 134).

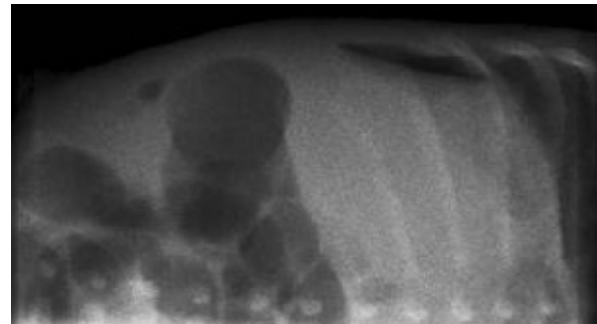
Weitere wichtige radiologische Zeichen sind Luft in der Pfortader und freie intraperitoneale Luft als Zeichen der intestinalen Perforation (48).

Zudem werden folgende Laborparameter bestimmt: Blutgerinnung, Blutgase, Elektrolyte, Blutglucose, Erythrozyten- und Thrombozytenzahl. Ebenso werden Blutkulturen und Untersuchungen von Stuhl und Urin auf Bakterien durchgeführt (87, 166).

Im Rahmen der entzündlichen Situation mit dem Risiko einer Sepsis werden die für pädiatrische Patienten geeigneten Laborparameter (unter anderem CRP, IL-6 und IL-8) bestimmt (124,148). Interleukine haben zu Beginn einer bakteriellen Infektion die höchste Sensitivität, wobei die Spezifität gering ist (142).



**a: Abdomen ap liegend**



**b: Abdomen seitlich liegend**

#### **Abbildung 3: Abdomenübersichtsaufnahmen bei einem Patienten mit nekrotisierender Enterokolitis**

Abbildung 3a und 3b zeigen dilatierte Darmschlingen. In 3b sieht man zusätzlich freie intraabdominelle Luft.

### 1.1.6 Therapie

Die initiale Therapie ist konservativ. Während in Stadium I eine konservative Behandlung ausreichend ist, kann in Stadium II eine Operation notwendig sein. In Stadium III ist eine operative Therapie unumgänglich (1).

Die konservative Therapie umfasst die Entlastung des Gastrointestinaltraktes mittels Nahrungskarenz, Magensonde und antibiotischer Therapie (147, 166). Zusätzlich erfolgt die intensivmedizinische Therapie mit Kreislaufunterstützung und Volumentherapie (87, 166).

Die Indikationsstellung zur operativen Therapie richtet sich nach klinischem Bild, radiologischen Befunden und Laborbefund. Die Darmperforation mit Nachweis von intraabdominell freier Luft stellt die einzige absolute OP-Indikation dar (99, 149).

Relative OP-Indikationen sind Luft in der Pfortader, Versagen der medikamentösen Therapie, stehende Darmschlingen in der Abdomenübersichtsaufnahme, tastbare abdominelle Resistenzen, ein Erythem der Bauchwand sowie ein septisches Krankheitsbild (64).

Verschiedene operative Therapieoptionen stehen zur Verfügung:

1. Primäre Peritonealdrainage (PD) mit Spülung der Bauchhöhle (16)
2. Clip and drop back: modifizierte „Second-look“-Operation mit Resektion, Clipping der beiden Darmenden und Relaparotomie mit ggf. Nachresektion sowie Anastomosierung der Darmenden nach 48-72 Stunden (171)
3. Laparotomie mit Resektion des nekrotischen Darmsegments und Anlage eines Anus praeter (119, 137, 139)
4. Laparotomie mit Resektion des nekrotischen Darmsegments und primärer Anastomose (67, 132, 163)

Es ist bisher nicht abschließend geklärt, welche Therapieoption für die Patienten den größeren Vorteil erbringt (119, 132). Moos et al. berichtet über keinen signifikanten Unterschied bezüglich Überleben und Outcome zwischen den beiden Therapiegruppen (119).

Es scheint jedoch, dass die Laparotomie der PD überlegen ist (16, 28). Auf jeden Fall hat die PD ihren Stellenwert bei der Behandlung des instabilen Frühgeborenen (28, 46). Bei diesen Patienten kann durch die PD eine klinische Besserung erreicht werden und nach klinischer Stabilisierung eine Laparotomie erfolgen. Bei Frühgebore-

nen mit unter 1000g ist es auf diesem Weg möglich, die Mortalität zu senken (30, 46).

Bekannte postoperative Komplikationen sind Sepsis, Kurzdarmsyndrom, Abszesse, Dehiszenz, Darmstrikturen, Wundinfektionen und Fisteln (15, 28, 80). Davon sind vor allem Frühgeborene betroffen, die vor der 28. SSW geboren wurden (30). Patienten, die mit PD behandelt werden, benötigen aufgrund klinischer Verschlechterung häufig eine sekundäre Laparotomie (16, 28, 137). Grundsätzlich gilt es soviel Darm wie möglich zu erhalten, um die Gefahr eines Kurzdarmsyndroms verringern (131). Kommt es durch eine ausgedehnte Resektion zum Kurzdarmsyndrom (140), kann in Extremfällen eine Darmtransplantation als absolute Ultima ratio in Erwägung gezogen werden (59, 90). Die Anlage eines Anus praeter ist häufig mit Komplikationen wie Prolaps, Retraktion, peristomale Hernie, Infektion, Dehiszenz und Fistelbildung verbunden (32, 65). Spätere neurologische Beeinträchtigungen betreffen bevorzugt operierte Patienten (138, 153).

### **1.1.7 Diagnostische und therapeutische Probleme**

Die Diagnostik der NEC kann schwierig sein, weil typische Zeichen wie Pneumatosis intestinalis nicht im Frühstadium I auftreten, sondern erst, wenn die Erkrankung bereits weiter fortgeschritten ist. Die anfänglichen klinischen Symptome sind unspezifisch. Aufgrund des möglicherweise fulminanten Verlaufs muss frühzeitig eine Diagnose gestellt werden. Deshalb müssen weitere diagnostische Kriterien gefunden werden. Eine frühzeitige Diagnosestellung ist notwendig, damit rechtzeitig adäquat therapiert werden kann, um somit der erhöhten Morbidität und Mortalität der Stadien II und besonders III vorzubeugen.

Die Fragestellung nach einer verbesserten Diagnostik ist seit Jahren Thema vieler Studien: In Hinblick auf die Inflammation (122) bei der Nekrotisierenden Enterokolitis ist die Bestimmung der Laborparameter von großem Interesse. Dazu gehören die bereits in der Diagnostik der neonatalen Sepsis etablierten Parameter (124, 148), sowie das große Spektrum an pro- und antiinflammatorischen Zytokinen (43, 76, 111, 122).

### 1.1.8 Rolle der Zytokine bei der Pathogenese und Diagnostik der Nekrotisierenden Enterokolitis

Zahlreiche pro- und antiinflammatorische Zytokine wurden bereits in Zusammenhang mit der Nekrotisierenden Enterokolitis beschrieben. Zytokine sind Regulatoren bei der körpereigenen Reaktion auf Infektion, Entzündung oder Trauma und werden von beinahe allen zellkernhaltigen Zellen synthetisiert (6). Man unterscheidet pro- und antiinflammatorische Zytokine. Proinflammatorische Zytokine fördern eine Entzündungsreaktion, während antiinflammatorische Zytokine Entzündungen unterdrücken. Proinflammatorisch wirken TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$  und GM-CSF, antiinflammatorisch sind IL-4 und IL-10 (38, 111).

Erhöhte TNF- $\alpha$ -Werte führen zu Fieber, Angiogenese und Migration von Leukozyten. Zudem werden reaktiv weitere proinflammatorische Zytokine (wie IL-1 $\beta$ ) vermehrt exprimiert (5). Folgen können Apoptose und Schock sein (169). PAF (= Platelet activating factor) wirkt synergistisch zu TNF- $\alpha$  und fördert die Aggregation und Degranulation von Thrombozyten und Neutrophilen. Es wirkt chemotaktisch und verstärkt die Produktion von TNF- $\alpha$  (165). Erhöhte PAF- und TNF $\alpha$ - Werte wurden unter anderem von Caplan et al. in Gewebeproben und im Blut von Patienten mit NEC gefunden (24, 118). Für TNF- $\alpha$ -Antikörper konnte daraufhin eine protektive Eigenschaft nachgewiesen werden: experimentell wurde durch die Gabe von TNF- $\alpha$  die Häufigkeit einer Nekrotisierenden Enterokolitis bei Ratten signifikant verringert (70, 155).

Interleukin 1 besteht aus einer zellassoziierten (IL-1 $\alpha$ ) und einer sekretorischen Komponente (IL-1 $\beta$ ). Durch TNF- $\alpha$  stimuliert führt IL-1 $\beta$  zu Fieber, Gewebszerstörung, sowie in einzelnen Fällen zu Schock und Tod (5, 38).

Gemeinsam mit TNF- $\alpha$  und LPS stimuliert es die Synthese von Interleukin 6 und Interleukin 8 (26, 103). IL-6 induziert wiederum die Synthese von CRP und LBP (26, 63), aktiviert Lymphozyten und stimuliert die Differenzierung von zytotoxischen T-Zellen (26, 141). Interleukin 8 wirkt chemotaktisch und führt ebenfalls zur Degranulation neutrophiler Granulozyten (38). Interleukin 6 und 8 steigen bei neonatalen Infektionen früher an als CRP (8, 19, 112). Interleukin 10 induziert als antiinflammatorisches Zytokin die Suppression proinflammatorischer Zytokine (37).

Nanthakumar et al. und Sharma et al. konnten erhöhte Werte von IL-6, IL-8 und IL-1 $\beta$  bei Patienten mit NEC beobachten (122, 156). Besonders hohe Werte von IL-6 (416 $\pm$ 308 pg/ml) und IL-1 $\beta$  (509 $\pm$ 493 pg/ml) wurden bei Patienten mit letalem Ausgang gemessen (156). Die verstärkte Expression von IL-6, IL-8 und IL-10 wurde bereits in Zusammenhang mit dem Schweregrad der Erkrankung gebracht: Edelson et al. berichtet in einer Studie über signifikant erhöhten Interleukin 8-Werten bei Patienten mit NEC-Stadium III (43), während Ramagnoli et al. signifikante Erhöhungen von Interleukin 10 (Median 507pg/ml; range 422-753pg/ml) bei Patienten nachweisen konnte, die an einer NEC verstorben waren (141). Weitere Studien fanden höhere Werte von Interleukin 6 bei verstorbenen Patienten als bei den überlebenden (76, 118). Experimentell wurde die Entstehung einer chronischen Enterocolitis bei Interleukin-10-defizienten Mäusen nachgewiesen (101).

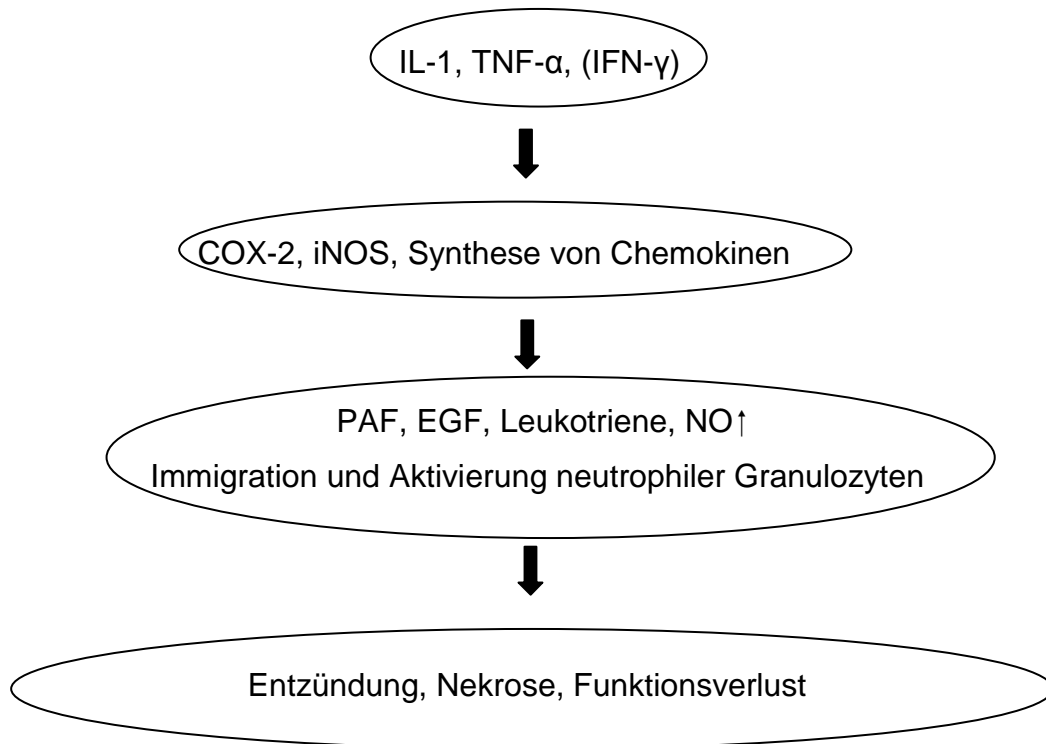
Eine Erhöhung der Zytokine im Liquor wurde im Rahmen der Entstehung einer periventriculären Leukomalazie beobachtet, wobei Interleukin 6, Interleukin 10 und Tumor-Nekrosefaktor- $\alpha$  signifikant erhöht messbar waren (47).

Eine direkte Wirkung auf T-Helferzellen und natürliche Killerzellen (NK) wird Interleukin 12 zugeschrieben (89), welches gemeinsam mit Interleukin 18 die Synthese von Interferon- $\gamma$  steigert (72, 126). Eine Überexpression der beiden proinflammatorischen Zytokine IL-12 und IL-18 wurde ebenfalls bei der NEC beschrieben (72, 73).

Das von IL-12- und IL-18-stimulierten T-Zellen und NK-Zellen produzierte IFN- $\gamma$  wirkt antiviral, aktiviert Phagozyten und wirkt bei der Interaktion zwischen Leukozyten und Endothel mit (17). Interferon- $\gamma$  schützt die Verbindung zwischen den intestinalen Gap junctions und dadurch die Mucosa vor dem Eindringen von Keimen. Ein Verlust dieser Wirkung konnte bei der NEC aufgezeigt werden, bei der die Wiederherstellung des Darmepithels beeinträchtigt ist (104).

Weitere Untersuchungen ergaben, dass die induzierbare NO-Synthetase (= iNOS) (53, 121) und die Cyclooxygenase 2 (= COX-2) (29) im Gewebe von betroffenen Patienten signifikant erhöht sind. Zytokine wie IL-1, TNF- $\alpha$  und IL-6 führen zur Hochregulierung dieser iNOS in der Darmmucosa. Die daraufhin folgende exzessive Anhäufung von NO führt zu Zellschädigung und Barriereverlust der Darmwand (52). Die sonst in physiologischen Werten für die Zellreparatur wichtige COX-2 wird ebenfalls

durch Zytokine stimuliert und führt in erhöhter Menge zu Zellschäden (108). Hingegen wurde bei NEC-Patienten eine verminderte Produktion des Epidermal growth factors (= EGF) beobachtet, was eine erhöhte Permeabilität der Darmmukosa zur Folge hat (31, 160).



**Abbildung 4: Die Zytokin-induzierte Entzündungskaskade endet mit der Gewebsnekrose**

Überblick über die unter 1.1.9 beschriebenen pathogenetischen Faktoren bei der Entstehung der Nekrotisierenden Enterokolitis.

Trotz dieser Studien konnte bisher keine für die NEC eindeutig spezifische Zytokinexpression nachgewiesen werden, woraus sich die Fragestellung dieser Arbeit ergibt.

## 1.2 Fragestellung dieser Studie

Die Fragestellung der vorliegenden Studie war, ob es eine NEC-spezifische Zytokinexpression im Serum betroffener Kindern gibt. Ein NEC-spezifisches Expressionsmuster wäre für ein frühzeitiges Erkennen der Erkrankung und als Verlaufsparemeter

von großem Interesse. Dies würde eine frühere und adäquatere Behandlung für die betroffenen Patienten ermöglichen, mit dem Ziel, den Patienten risikoadaptiert zu therapieren.



## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Patienten und Material**

#### **2.1.1 Studienaufbau**

Es handelt sich um eine offene, prospektive und nicht randomisierte Multicenter-Patientenstudie, welche Früh- und Neugeborene / Säuglinge mit Nekrotisierender Enterokolitis (NEC), einem Harnwegsinfekt (Kontrollgruppe Inflammation) oder einer Nabel- / Leistenhernie (Kontrollgruppe gesund) einschließt. Sie wurde von der Ethik-Kommission Tübingen genehmigt (17/2002V).

Die Studiendauer betrug 4 Jahre. Es beteiligten sich insgesamt 6 Zentren:

- 1.) Universitätsklinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin Tübingen, Lehrstuhl und Abteilung für Kinderchirurgie, Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Jörg Fuchs
- 2.) Universitätsklinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin Tübingen, Lehrstuhl und Abteilung für Neonatologie, Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Christian Poets
- 3.) Universitätsklinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin Tübingen, Abteilung für Kinderkardiologie und pädiatrische Intensivmedizin, Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. M. Hofbeck
- 4.) Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Kliniken Südwest Böblingen , Chefarzt: Prof. Dr. M. Teufel
- 5.) Kreiskliniken Reutlingen, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. F.K. Trefz
- 6.) Oberschwabenkliniken Ravensburg, Kinderklinik St. Nikolaus, Ärztlicher Direktor: PD Dr. med. A. Artlich, PhD

Die Laboranalysen zur Zytokinbestimmung erfolgten in Kooperation mit Dr. med.

Joachim Riethmüller, Abteilung I, Universitätsklinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Tübingen.

### **2.1.2 Patientengruppen**

Eingeschlossen wurden Neugeborene und Säuglinge im Alter von 0-3 Monaten.

Es wurden drei Gruppen gebildet, deren Daten und Laborwerte miteinander verglichen werden sollten. Ziel war eine Gruppengröße von 20 Patienten, wobei das Geschlecht für die Studienzugehörigkeit keine Rolle spielte.

#### **A Einschlusskriterien**

**Gruppe I** diente als Kontrollgruppe und umfasste gesunde Neugeborene und Säuglinge, die an einer Nabel- oder Leistenhernie operiert wurden. Sie sollten kreislaufstabil und körperlich gesund sein, sowie eine unauffällige Hämoglobin-Konzentration im Blut aufweisen ( $Hb > 8g/dl$ ). Eine Blutentnahme zu rein wissenschaftlichen Zwecken bei vollständig gesunden, nicht-hospitalisierten Neugeborenen war ethisch nicht zu vertreten.

**Gruppe II** umfasste Neugeborene und Säuglinge mit Nekrotisierender Enterokolitis, die nach den Bell'schen Kriterien klassifiziert wurde (siehe Tabelle 1).

**Gruppe III** bildeten Neugeborene und Säuglinge, die an einem gesicherten Harnwegsinfekt oder einer Urosepsis erkrankt waren und diente als Kontrollgruppe für Kinder mit einer anderen entzündlichen Erkrankung. Es gestaltete sich schwierig eine adäquate Kontrollgruppe zu finden. Patienten mit einem Harnwegsinfekt schienen jedoch am besten geeignet, da Harnwegsinfektionen im für diese Studie gewünschten Altersbereich relativ häufig auftreten (117). Diese Gruppe wurde etabliert, damit auf eine NEC-spezifische Zytokinexpression untersucht werden konnte.

#### **B Ausschlusskriterien:**

Kinder mit einem Alter von  $\geq 4$  Monaten wurden generell ausgeschlossen. Patienten konnten jeweils nur in eine Gruppe eingeschlossen werden.

Aus den Gruppen I und III wurden Patienten mit einem  $Hb < 8 g/dl$  oder einer konsumierenden Grunderkrankung (HIV-Infektionen, Hepatitis-Infektionen, akute Virusin-

fektionen, maligne Lymphome, maligne Erkrankungen des hämatopoetischen Systems, maligne Erkrankungen anderer Organsysteme, Polytrauma oder lebensbedrohliche Traumafolgen und andere große Operationen (z.B. Ösophagusatresie)) ausgeschlossen.

### **2.1.3 Studienablauf**

Bei Aufnahme in die Studie wurden die Patienten einmalig klinisch untersucht. Die zur Studie notwendige venöse Blutentnahme umfasste eine Menge von 2ml pro Entnahme. Die Blutentnahme erfolgte im Rahmen einer Routineblutentnahme. Zu Beginn der Studie waren für Patienten der Gruppe II drei Blutentnahmen vorgesehen. Die erste erfolgte zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, die zweite und dritte jeweils im Abstand von 4 Wochen. Somit beträgt die Gesamtmenge für die Kontrollgruppen (I und III) 2ml und in der Referenzgruppe (NEC) 6ml Blut. Gruppe I erhielt keine weiterführende Diagnostik. An NEC erkrankte Patienten (Gruppe II) erhielten hingegen zusätzlich eine Abdomenübersichtsaufnahme und ggf. eine Sonographie. Bei Patienten der Gruppe III wurde der Urin-Status erhoben und eine Sonographie durchgeführt.

### **2.1.4 Untersuchungsmaterial**

Das Probenmaterial wurde für den Zeitraum der Analysen in einem verschlossenen Gefrierschrank bei -20°C gelagert. Die Proben wurden n verblindet und nach der Analyse fachgerecht vernichtet. Es wurde keine Blutbank angelegt.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Hintergrundwissen Laborparameter

**C-reaktives Protein (CRP):** CRP ist ein Akut-Phase-Protein, welches als Antwort des Körpers auf bakterielle Infektionen oder Gewebeschäden in der Leber gebildet wird (159). Es bindet an Oberflächen von Bakterien, wodurch die Komplementanlagerung begünstigt und die Phagozytose erleichtert wird (6). CRP wird als Indikator für eine Infektion oder Entzündung bei Kindern und Erwachsenen, (161). Die Synthese von CRP wird durch Zytokine – wie TNF $\alpha$ , Interleukin-1 und vor allem Interleukin-6 – induziert (26, 136). Die maximale Serum-Konzentration ist erst nach 12-24 Stunden erreicht. Die Halbwertszeit beträgt 21 Stunden (44).

**Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP):** LBP ist ebenfalls ein Akut-Phase-Protein, welches von Hepatozyten (63) und Zellen der Darmmukosa (174) gebildet wird. Es hat eine hohe Affinität zu dem von gram-negativen Bakterien stammenden Lipopolysaccharid (LPS) und bildet mit ihm einen Komplex, der von CD14+-Phagozyten gebunden wird (128). Hierdurch wird die Entzündungskaskade in Gang gesetzt. Es wird angenommen, dass IL-6 die LBP-Produktion in der Leber induziert und wiederum selbst durch LBP verstärkt synthetisiert wird (63). Maximale Plasmakonzentrationen werden 6-12 Stunden Infektionsbeginn beobachtet (129).

**Zytokine:** Zytokine sind kleine, strukturlose Proteine mit einem Molekulargewicht von 8 bis 40.000 Dalton. Ihre Synthese findet in nahezu allen zellkernhaltigen Zellen statt. Sie sind Regulatoren bei der körpereigenen Reaktion auf Infektion, Entzündung oder Trauma. Ihre Wirkung ist pleiotrop. Über Oberflächenrezeptoren wirken sie entweder zurück auf ihre Entstehungszelle (autokrin) oder auf Nachbarzellen (parakrin) (6). Zytokine können pro- oder antiinflammatorisch sein. Zu den proinflammatorischen Zytokinen gehören TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 und IFN- $\gamma$ ; IL-4 und IL-10 gehören zur Gruppe der antiinflammatorischen Zytokine (38, 111).

- **Interleukin 1 $\beta$ :** IL-1 wird von Makrophagen und anderen antigen-präsentierenden Zellen gebildet. Es besteht aus zwei Komponenten: IL-1 $\alpha$  (zellassoziert) und IL-1 $\beta$  (sekretorisch). Durch TNF- $\alpha$  stimuliert, fördert IL-1 $\beta$

die Entzündungsreaktion (5) und führt auf diesem Weg zu Fieber, Gewebszerstörung, sowie in einzelnen Fällen zu Schock und Tod (38).

- **Interleukin 2:** Das von T-Helferzellen gebildete IL-2 ist wichtig für deren eigene Proliferation, als auch für die Produktion von IL-4, IL-5, IL-6, und IL-13, die bei der Aktivierung und Differenzierung von B-Lymphozyten von Bedeutung sind (6).
- **Interleukin 4:** IL-4 wird von T<sub>2</sub>-Helferzellen produziert, stimuliert deren Wachstum und unterstützt auf diesem Wege die B-Zellaktivierung und Immunglobulinbildung (6, 84). Weitere Aufgaben dieses Interleukins sind Hemmung der Produktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 und TNF- $\alpha$  (98), sowie der Proliferation hämatopoetischer Knochenmarksstammzellen (99).
- **Interleukin 6:** Die Synthese von IL-6 wird durch andere Zytokine – wie TNF- $\alpha$  und IL-1 – und LPS stimuliert. Es wird von Endothelzellen, T-Helferzellen und Makrophagen gebildet. IL-6 induziert die Synthese von CRP und LBP (26, 36), aktiviert Lymphozyten und stimuliert die Differenzierung von zytotoxischen T-Zellen (26, 141).
- **Interleukin 8:** IL-8 ist ein „Chemokin“. Gebildet wird dieses Interleukin von Fibroblasten, Monozyten und Endothelzellen (91). Seine Synthese wird von LPS, TNF- $\alpha$  und IL-1 induziert (103). Die durch die Sekretion von IL-8 bedingte Aktivierung und Degranulation neutrophiler Granulozyten führt zu Gewebeschädigung (38). Gemeinsam mit IL-6 steigt es im Rahmen einer neonatalen Infektion nach 2-3 Stunden an und erreicht bereits nach 4-6 Stunden wieder normale Werte (8, 19, 112).
- **Interleukin 10:** IL-10 ist ein antiinflammatorisches Zytokin. Es wird von Monozyten, B-Zellen und T-Helferzellen nach Stimulation durch Endotoxine und die Zytokinkaskade produziert. IL-10 induziert die Suppression proinflammatorischer Zytokine (37).

- **Interleukin 12:** IL-12 wird von B-Lymphozyten und Makrophagen sezerniert. Ihm wird eine direkte Wirkung auf T-Helferzellen und natürliche Killerzellen (NK) zugeschrieben (89). Gemeinsam mit Interleukin-18 steigert es die Synthese von Interferon- $\gamma$  (72, 126). Wie bei anderen proinflammatorische Zytokinen folgt dieser Kaskade auch hier die Schädigung von Gewebe (72).
- **Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ):** TNF- $\alpha$  wird von Makrophagen, Lymphozyten und Monozyten gebildet und löst Fieber, Angiogenese, Migration von Leukozyten und die Akut-Phase-Reaktion mit Erhöhung weiterer Zytokine (wie IL-1 $\beta$ ) aus (5). Er wurde unter anderem mit Apoptose und Schock in Zusammenhang gebracht (169).
- **Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ):** IFN- $\gamma$  ist ein spezies-spezifisches Glykoprotein, das die Virusausbreitung hemmt (6). Dieses Interferon wird von IL-12- und IL-18-stimulierten T-Zellen und NK-Zellen produziert (126). Außer seiner antiviralen Wirkung, besitzt IFN- $\gamma$  noch weitere immunregulatorische Eigenschaften. Hierzu gehören Aktivierung von Phagozyten, Stimulation der Antigenpräsentation, Auswirkungen auf Proliferation und Apoptose sowie Mitwirkung bei der Interaktion zwischen Leukozyten und Endothel (17).
- **Granulozyten- und Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor (GM-CSF):** Die Produktion von GM-CSF wird durch IL-1, TNF- $\alpha$  und LPS stimuliert. Zu den GM-CSF-synthetisierenden Zellen gehören T-Lymphozyten, Makrophagen, Endothelzellen und Fibroblasten (20, 75). Seine Funktion besteht darin, Überleben, Aktivität und Proliferation von Zellen zu steigern (20, 176). Des Weiteren führt es zur gesteigerten Expression von TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1, IL-12 und IL-23, wodurch es seinen proinflammatorischen Charakter erhält (51).

<b>Laborparameter</b>	<b>Assoziierte Erkrankung</b>	<b>Literatur</b>
<b>CRP</b>	Bakterielle Infektion	44, 86
<b>LBP</b>	Bakterielle Infektion, Frühgeborenenensepsis	8, 129, 154
<b>Interleukin 1<math>\beta</math></b>	Frühgeborenenensepsis, Colitis ulcerosa, M. Crohn	135,152
<b>Interleukin 2</b>	M. Crohn, Colitis ulcerosa, Psoriasis	86, 88, 152
<b>Interleukin 4</b>	Entzündliche Darmerkrankungen	151
<b>Interleukin 6</b>	Frühgeborenenensepsis, Colitis ulcerosa	76, 135, 141
<b>Interleukin 8</b>	Frühgeborenenensepsis	35, 148
<b>Interleukin 10</b>	Frühgeborenenensepsis, Colitis ulcerosa	102, 116, 141
<b>Interleukin 12</b>	-	
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Entzündliche Darmerkrankungen	14, 104
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Frühgeborenenensepsis, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn	127, 135
<b>GM-CSF</b>	Arthritis, Neutropenie-Therapie, Glomerulonephritis, bakterielle Entzündung	36, 75

**Tabelle 2: Laborparameter und Beispiele für bereits bekannte assoziierte Erkrankungen**

## **2.2.2 Messgerät und Reagenzien**

Die quantitative Bestimmung von LBP im Serum wurde mittels einer ELISA-Technik mit dem Immunassay-Analyzer Immulite der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland durchgeführt. Das Immulite-System beruht auf der Chemilumineszenzreaktion, auf die unter 2.2.3 weiter eingegangen wird. Die Reagenzien stammten ebenfalls von der Firma DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland.

Die Messung der Zytokine erfolgte mit dem Bio-Plex Immunassay der Firma Bio-Rad, Hercules, Kalifornien, USA. Das Bio-Plex-System basiert auf einem weiterentwickelten ELISA-Testverfahren.

CRP wurde routinemäßig mit dem Gerät Turbitimer der Firma Dade Behring GmbH, Marburg, Deutschland bestimmt; die Leukozytenanzahl mit dem ADVIA-120 von Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland.

## **2.2.3 Probenmaterial zur LBP-Bestimmung**

Zur Messung von LBP wurde benötigt:

- 10µl Serum
- 1000µl LBP-Verdünnungspuffer

## **2.2.4 LBP-Bestimmung mittels Chemilumineszenzreaktion**

Das Probenmaterial wurde im Verhältnis 1:50 mit einem fertigen Verdünnungspuffer gemischt und in die Probenröhrchen pipettiert. Diese Probenröhrchen wurden vor jeweils einen Probenträger gesetzt, welcher eine mit Antikörpern beschichtete Polystyrolkugel enthielt. Zuerst wurde das Reagenz (alkalische Phosphatase markiert) zu der verdünnten Probe dazu pipettiert. Im Inkubationskarussell erfolgte eine 30-minütige Inkubation bei 37°C. Dabei wurde das Reagenz durch eine Immunreaktion an der Polystyrolkugel gebunden. Daraufhin wurden gebundene und freie Bestandteile durch Drehung der Röhrchen um die eigene Hochachse in der Waschstation voneinander getrennt. Das Dioxetan-Substrat Adamantylidioxetanphenylphosphat (ADPP<sup>2</sup>) wurde nun in die Probenröhrchen hinzugegeben und die Probenträger anschließend in das Luminometer befördert. Durch enzymkatalysierte Hydrolyse wan-



delte das auf der Kugel gebundenem Konjugat das ADPP<sup>-2</sup> in das instabile Zwischenprodukt Adamantylidioxetanphenyl-Anion (ADP<sup>-</sup>) um. Der Zerfall des ADP<sup>-</sup> löst eine Photonenemission aus. Das entstandene Lichtsignal wurde mithilfe des Photomultipliers gemessen. Dieses Signal war direkt proportional zur Menge des gebundenen Enzymkonjugates bzw. zur Menge an LBP. Das Ergebnis wurde anschließend auf eine Verdünnung von 1:100 umgerechnet. Für die LBP-Bestimmung wurde ein Cut-off von 15 µg/ml angenommen. Das bedeutet, dass nur Werte oberhalb dieser Messgrenze als signifikante Erhöhung gewertet wurden.

### **2.2.5 Probenmaterial zur Zytokin-Bestimmung**

Zur Messung der Zytokine wurde benötigt:

- 12,5 µl Serum
- 50 µl Verdünnungspuffer

### **2.2.6 Zytokin-Bestimmung**

Bei der Analyse mit Hilfe des BioPlex-Systems schwimmt die feste Phase in Form von Kügelchen in der flüssigen Phase. Es ist dadurch möglich, mehrere Zytokine gleichzeitig zu bestimmen (34).

Das Serum wurde im Verhältnis 1:4 verdünnt. Von der verdünnten Lösung wurden 50µl auf eine Filterplatte pipettiert. Die anschließende Inkubation erfolgte bei Zimmertemperatur für eine Stunde. Dabei wurden die entsprechenden Antikörper gebunden. Anschließend erfolgte der erste Waschschrift. Bei der zweiten Inkubation für eine weitere Stunde wurde der hinzugegebene biotinierte Detektionsantikörper an das für ihn spezifische Epitop desselben Zytokins gebunden. Es folgte der zweite Waschschrift. Danach wurde der Fluoreszenzfarbstoff Phycoerythrin hinzu pipettiert, welcher bei der dritten Inkubation (10min) an den biotinierten Antikörper band (=Sandwich-Assay). Daraufhin erfolgte der dritte Waschschrift. Der gebundene grüne Fluoreszenzfarbstoff konnte schließlich gemessen werden.

### **2.2.7 Statistische Auswertung**

Die Studiendaten wurden tabellarisch mit dem Computerprogramm Microsoft Excel (Firma Microsoft, München, Deutschland) erfasst.

Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwendung des Softwarepakets JMP, Version 7.0.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt.

Bei den untersuchten pro- und antiinflammatorischen Zytokinen wurde von nicht normalverteilten Daten ausgegangen.

Für den statistischen Vergleich von drei unabhängigen Gruppen wurde der nicht-parametrische Kruskal-Wallis-Test verwendet, für den Vergleich von zwei unabhängigen Gruppen der Mann-Whitney-Wilcoxon U-Test (11). Für annähernd normalverteilte, zum Beispiel klinische Daten wurde eine Varianzanalyse, gegebenenfalls mit nachfolgenden multiplen Vergleichen nach Tukey-Kramer durchgeführt. Nach globaler Testung aller drei Gruppen auf das Vorliegen statistisch signifikanter Unterschiede wurden bei signifikantem Testergebnis nach dem Abschlussprinzip (102) die einzelnen drei Gruppen multipel miteinander verglichen.

Für alle Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  vorausgesetzt. Ergebnisse wurden als signifikant gewertet, wenn der p-Wert  $< \alpha$  war.

Die Ergebnisse der klinischen Daten konnten als Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben und als Säulendiagramme dargestellt werden.

Die Ergebnisse der Laborparameter wurden aufgrund verzerrter Mittelwerte durch eine teils sehr große Streuung als Mediane (25%-Quantil - 75%-Quantil = Interquartilabstand) angegeben. Sie wurden mit Hilfe von Box-and-Whisker-Plots graphisch dargestellt: Die durch den Kasten („Box“) vorgegebenen Grenzen entsprechen der 25%- und 75%-Perzentile. Dieser beinhaltet somit 50% aller Werte. Der Strich im Kasten entspricht dem Median (50%-Perzentil). Durch die sog. "Whiskers" werden die 10%- und die 90%-Perzentilen angegeben. Ausreißer außerhalb der "Whiskers" werden durch kleine Kreuze dargestellt.

Die Skalierung wurde im Einzelfall logarithmisiert (log 10), um eine bessere Darstellung zu gewährleisten.

War eine Darstellung der Laborparameter der gesunden Kontrollgruppe wegen sehr niedriger Werte nicht möglich, wurde auf deren graphische Darstellung verzichtet.

Einzelne Laborparameter konnten wegen mangelnder Expression nicht dargestellt werden.

War die statistische Signifikanz aus einem Schaubild nicht ersichtlich, da es sich um Box-and-Whisker-Plots handelt, wurden zum Verständnis Tabellen mit statistischen Daten hinzugefügt.

Die p-Werte wurden in den Darstellungen mit \* (Vergleich Gruppe I vs. Gruppe III), + (Vergleich Gruppe I vs. Gruppe II) und # (Vergleich Gruppe II vs. Gruppe III) markiert.

Die Beschriftung mit I, II und III entspricht den bereits beschriebenen Patientengruppen: I = gesunde Kontrollgruppe/ II = NEC/ III = Harnwegsinfektion (Vergleichsgruppe Inflammation).

Für die graphische Darstellung der Ergebnisse wurde das Programm MicroCal Origin Version 7G (Firma OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA) verwendet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Patienten

61 Patienten erfüllten die Einschlusskriterien. 3 Patienten mussten wegen fehlenden Laborwerten sekundär ausgeschlossen werden. Wegen mangelnder Compliance und Verlust der Patienten aus der Betreuung konnte bei einigen Neugeborenen keine zweite oder dritte Verlaufslaborkontrolle abgenommen werden.

Somit wurden Daten von insgesamt 58 Patienten ausgewertet. Die Patienten wurden, wie unter 2.1.2 dargestellt, in drei Gruppen eingeteilt.

##### 3.1.1 Zentren

Die Gruppenzuordnung der einzelnen Patienten ist in Tabelle 3 dargestellt. Patienten wurden nur in Tübingen und Ravensburg rekrutiert.

Zentrum	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Tübingen	10	16	1
Ravensburg	23	0	8

**Tabelle 3: Übersicht Patientenverteilung nach Gruppen und Zentren**

##### 3.1.2 Gruppenzusammensetzung

###### Gruppe I:

In Gruppe I wurden 33 Patienten eingeschlossen. Die mittlere Gestationsdauer betrug 37 SSW ( $\pm 3$ ), das mittlere Geburtsgewicht 2783g ( $\pm 720$ ). Der Entbindungsmodus war bei 15 Patienten vaginal und bei 16 operativ (= Sectio cesarea) (Entbindungsmodus bei 2 Patienten nicht dokumentiert). Das mittlere Gewicht bei Studienaufnahme betrug 4075g ( $\pm 1006$ ), die mittlere Größe lag bei 54cm ( $\pm 5$ ).

**Gruppe II:**

In Gruppe II wurden 16 Kinder mit NEC eingeschlossen. In dieser Gruppe betrug die mittlere Gestationsdauer 32 SSW ( $\pm 4$ ). 3 Patienten wurden vaginal und 13 per Sectio cesarea geboren. Das mittlere Geburtsgewicht lag bei 1708g ( $\pm 675$ ). Bei Studienaufnahme betrug das mittlere Gewicht 1922g ( $\pm 643$ ), die mittlere Größe betrug 43cm ( $\pm 5$ ).

**Gruppe III:**

In Gruppe III wurden 9 Patienten mit HWI eingeschlossen. Die mittlere Gestationsdauer betrug 40 SSW ( $\pm 1$ ). 7 Patienten wurden vaginal und 2 per Secto cesarea geboren. Das mittlere Geburtsgewicht lag bei 3585g ( $\pm 473$ ). Bei Studienaufnahme betrug das mittlere Gewicht 4333g ( $\pm 806$ ) und die mittlere Größe 56cm ( $\pm 2$ ).

## 3.2 Klinische Daten

### 3.2.1 Entbindungsmodus

Insgesamt wurden 25 Patienten vaginal und 31 Patienten operativ mittels Sectio cesarea geboren. (Entbindungsmodus bei 2 Patienten nicht dokumentiert).

Fischers exakter Test konnte beim Vergleich der einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede finden. Die Patientenanzahl ist hierfür innerhalb der Gruppen zu einem Vergleich der beiden Entbindungsmodi zu klein.

Ein Unterschied bei Gruppe II ist trotzdem augenscheinlich. Es wurden nicht signifikant, aber im Verhältnis deutlich mehr NEC-Patienten per Sectio cesarea entbunden als in den anderen Gruppen.

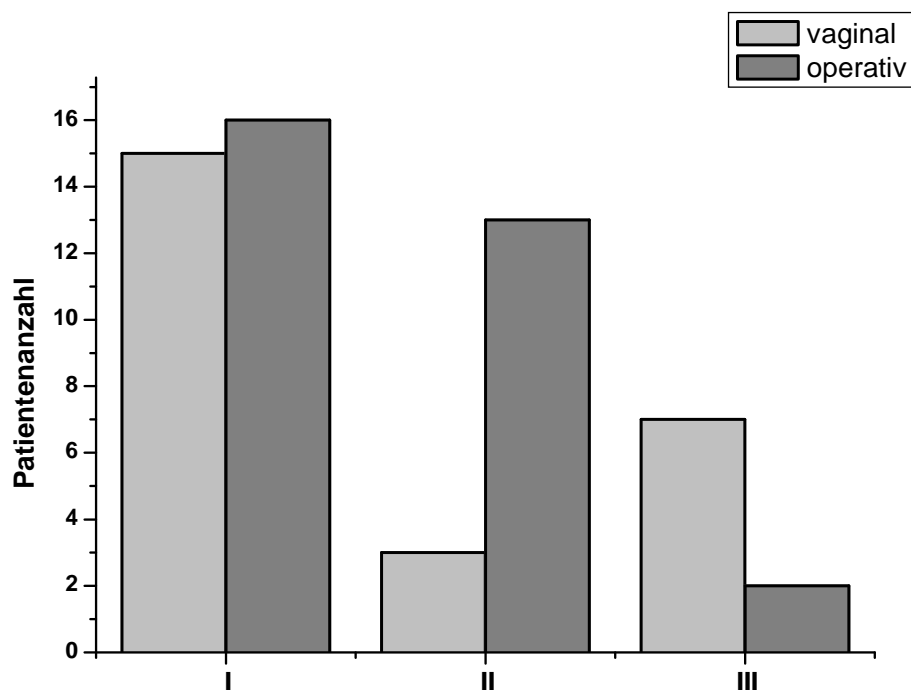


Abbildung 5: Entbindungsmodus der drei Gruppen im Vergleich

### 3.2.2 Geburtsgewicht und Gestationsalter

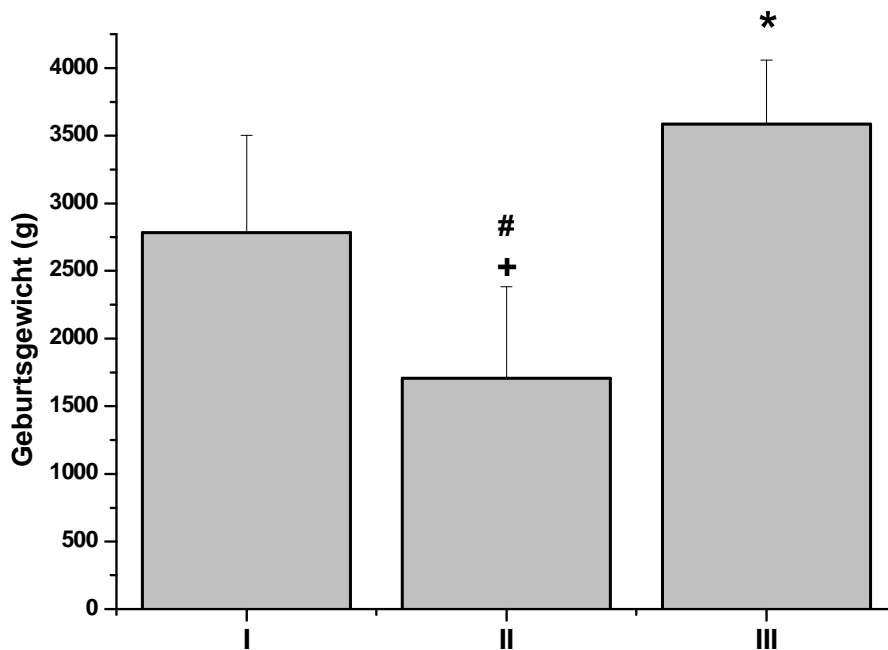
Das durchschnittliche Geburtsgewicht betrug in Gruppe I 2783g ( $\pm 720$ ), in Gruppe II 1708g ( $\pm 675$ ) und in Gruppe III 3585g ( $\pm 473$ ).

Beim Vergleich aller drei Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,0001$ ).

Gruppe III wies ein signifikant höheres durchschnittliches Geburtsgewicht als Gruppe I auf ( $p = 0,0031$ ).

Das durchschnittliche Geburtsgewicht war in Gruppe II (NEC) signifikant niedriger als in Gruppe I ( $p < 0,0001$ ).

Im Vergleich zu Gruppe III hatten Patienten der Gruppe II ein signifikant niedrigeres Geburtsgewicht ( $p < 0,0001$ ).



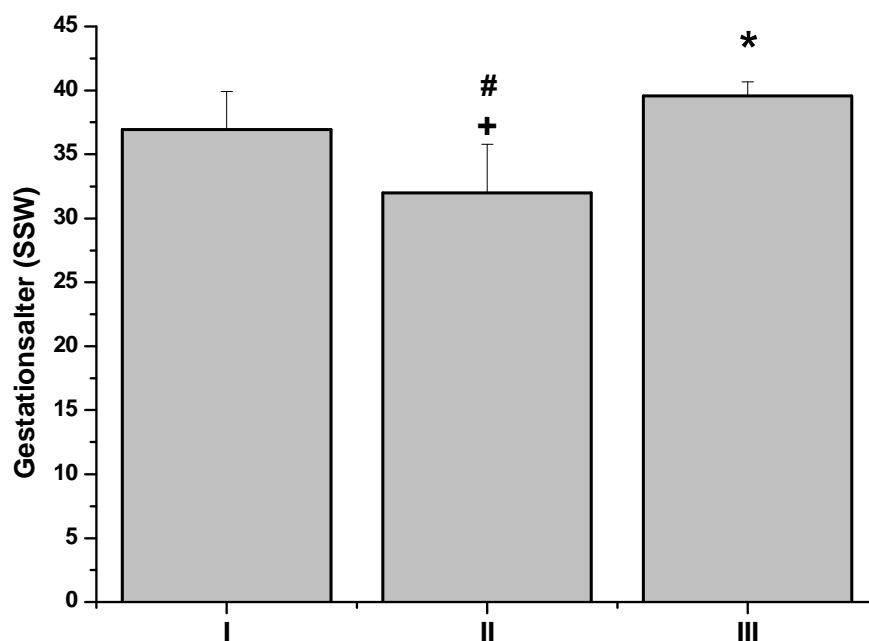
**Abbildung 6: Geburtsgewicht (g) der drei Gruppen im Vergleich (\* $p < 0,0031$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I, # $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe III)**

Das durchschnittliche Gestationsalter betrug in Gruppe I 37 SSW ( $\pm 3$ ), in Gruppe II 32 SSW ( $\pm 4$ ) und in Gruppe III 40 SSW ( $\pm 1$ ).

Beim Vergleich aller drei Gruppen miteinander bestand ein signifikanter Unterschied für das Gestationsalter ( $p < 0,0001$ ).

Gruppe III wies ein signifikant höheres mittleres Gestationsalter als Gruppe I ( $p = 0,0002$ ) auf.

Das mittlere Gestationsalter war in Gruppe II (NEC) signifikant niedriger als in Gruppe I ( $p < 0,0001$ ) und Gruppe III ( $p < 0,0001$ ).



**Abbildung 7: Gestationsalter (SSW) der drei Gruppen im Vergleich (\* $p = 0,0002$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I, # $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. I Gruppe II)**



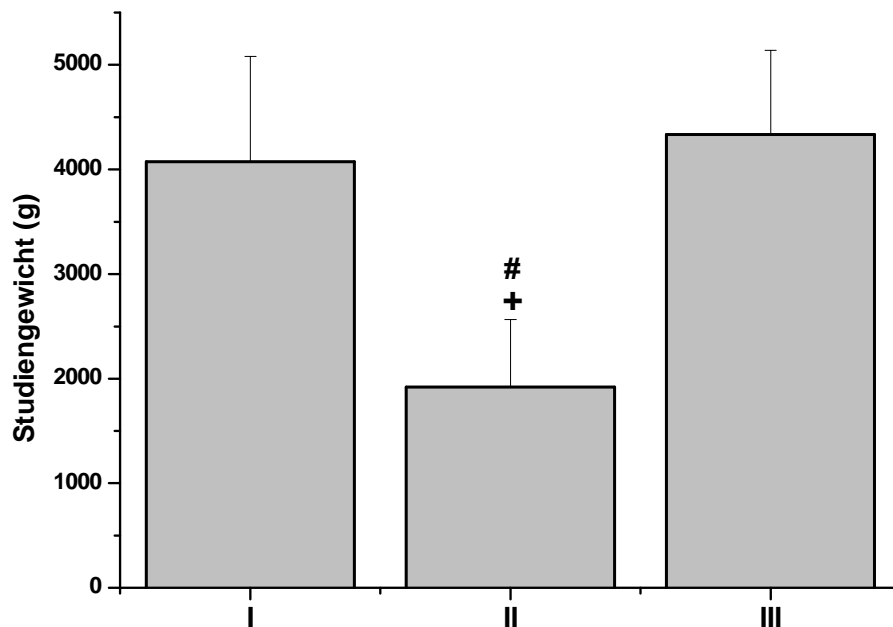
### 3.2.3 Studiengewicht und Studiengröße

Das durchschnittliche Studiengewicht betrug in Gruppe I 4075g ( $\pm 1006$ ), in Gruppe II 1922g ( $\pm 643$ ) und in Gruppe III 4333g ( $\pm 806$ ).

Vergleich man alle drei Gruppen miteinander, so ergab sich ein signifikanter Unterschied bezüglich des Studiengewichts ( $p < 0,0001$ ).

Zwischen dem Studiengewicht von Gruppe III und Gruppe I bestand kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,4824$ ).

Das mittlere Studiengewicht war in Gruppe II (NEC) signifikant niedriger als in Gruppe I ( $p < 0,0001$ ) und Gruppe III ( $p < 0,0001$ ).



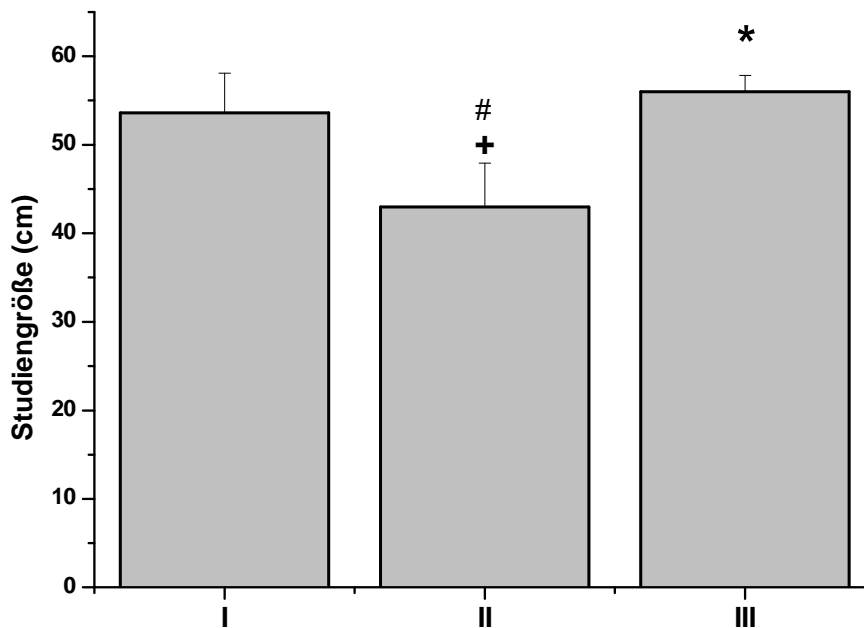
**Abbildung 8: Studiengewicht (g) der drei Gruppen im Vergleich (+ $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I, # $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe III)**

Die durchschnittliche Studiengröße betrug in Gruppe I 54cm ( $\pm 5$ ), in Gruppe II 43cm ( $\pm 5$ ) und in Gruppe III 56cm ( $\pm 2$ ).

Es zeigte sich insgesamt ein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Studiengröße der drei Gruppen ( $p < 0,0001$ ).

Gruppe III wies eine signifikant höhere Studiengröße auf als Gruppe I ( $p = 0,0263$ ).

Die mittlere Studiengröße war in Gruppe II (NEC) signifikant niedriger als in Gruppe I ( $p < 0,0001$ ) und Gruppe III ( $p < 0,0001$ ).



**Abbildung 9: Studiengröße (cm) der drei Gruppen im Vergleich (\* $p < 0,0263$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I, # $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe III)**

### 3.2.4 Diagnostik und Therapie

Die operative Behandlung bestand in einer Darmsegmentresektion mit Anlage eines Anus praeter und sekundärer Anastomose nach ausreichender Gewichtszunahme (ab mindestens 3000g) und klinischer Stabilisierung. Von den 16 NEC-Patienten wurden 11 Patienten konservativ behandelt und 5 Patienten operativ versorgt.

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Bildgebung sowie die erfolgte Therapie bei den NEC-Patienten.

<b>Sonographie</b>	<b>Abdomenübersicht</b>	<b>Therapie</b>
Luft in Pfortader	Pneumatosis intestinalis	konservativ
Luft in Pfortader	keine Daten	konservativ
Darmschlingen mit mittlerer Weite und verminderter Peristaltik	stark dilatierte Darmschlingen	konservativ
Luft in Pfortader, Gallenblasenwandödem	dilatierte Darmschlingen, Pneumatosis intestinalis	konservativ
Luft in Pfortader und Leber, Aszites	Pneumatosis intestinalis	konservativ
Luft in Pfortader	dilatierte Dünndarmschlingen mit Wandverdickung, Pneumatosis intestinalis	konservativ
stark obliterierte Darmschlingen mit deutlich verdickter Darmwand	geblähter Dünndarm und enges Kolon	konservativ
keine freie Luft	keine Daten	konservativ
keine Daten	geblähte Darmschlingen, Pneumatosis intestinalis	konservativ
Luft in Pfortader	keine Daten	konservativ
wandverdickte, paralytische Darmschlingen	keine Daten	konservativ
keine Daten	keine Daten	operativ
freie Flüssigkeit	keine Daten	operativ
Luft in Pfortader, Pneumatosis intestinalis	Freie Luft im Abdomen, dilatierte Darmschlingen	operativ
geweitete Darmschlingen, Pendelperistaltik	Dilatierte Darmschlingen, kleine Luftansammlungen im rechten Unterbauch	operativ
Aszites, Luft in Pfortader, eingeschränkte Darmperistaltik	geblähter Darm	operativ

**Tabelle 4: NEC-Patienten - Diagnostik und Therapie**

### 3.3 Laborparameter der verschiedenen Patientengruppen

#### 3.3.1 C-reaktives Protein (CRP)

Zwischen den drei Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied für das CRP ( $p < 0,0001$ ).

Für Gruppe III ergab sich mit 9,4 mg/dl (Interquartilsabstand: 5,5-18,86 mg/dl) eine signifikante Erhöhung des CRP gegenüber Gruppe I mit 0,5 mg/dl (Interquartilsabstand: 0,13-0,5 mg/dl) ( $p < 0,0001$ ).

Im Vergleich zu Gruppe I bestand für Gruppe II mit 3,6 mg/dl (Interquartilsabstand: 1,3-9,1 mg/dl) eine signifikante Erhöhung des CRP ( $p = 0,0002$ ).

Bei der Expression von CRP bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III ( $p = 0,051$ ).

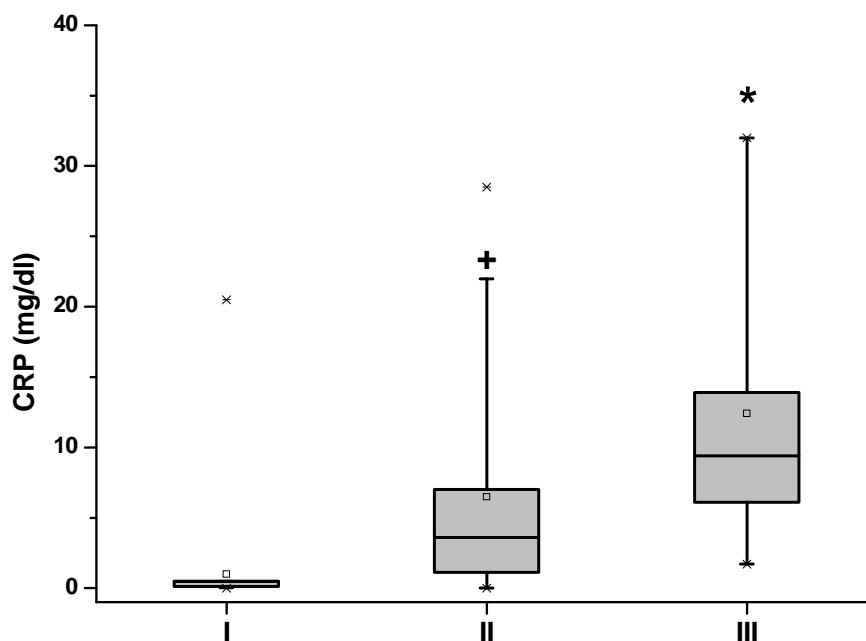


Abbildung 10: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des CRP (mg/dl) der drei Gruppen (\* $p < 0,0001$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p = 0,0002$ : Gruppe II vs. Gruppe I)

### 3.3.2 Leukozytenzahl

Es bestand ein signifikanter Unterschied für die Leukozytenzahl ( $p < 0,0001$ ) beim Vergleich aller drei Gruppen.

Für Gruppe III ergab sich mit 18400/ $\mu\text{l}$  (Interquartilsabstand: 12250-21010/ $\mu\text{l}$ ) eine signifikante Erhöhung der Leukozyten gegenüber Gruppe I mit 10000/ $\mu\text{l}$  (Interquartilsabstand: 8325-11750/ $\mu\text{l}$ ) ( $p=0,0013$ ).

Im Vergleich zu Gruppe II mit 8000/ $\mu\text{l}$  (Interquartilsabstand: 4500-10550/ $\mu\text{l}$ ) bestand für Gruppe I eine signifikante Erhöhung der Leukozytenzahl ( $p=0,038$ ).

Die Anzahl der Leukozyten/ $\mu\text{l}$  war für Gruppe III signifikant gegenüber Gruppe II erhöht ( $p=0,0014$ ).

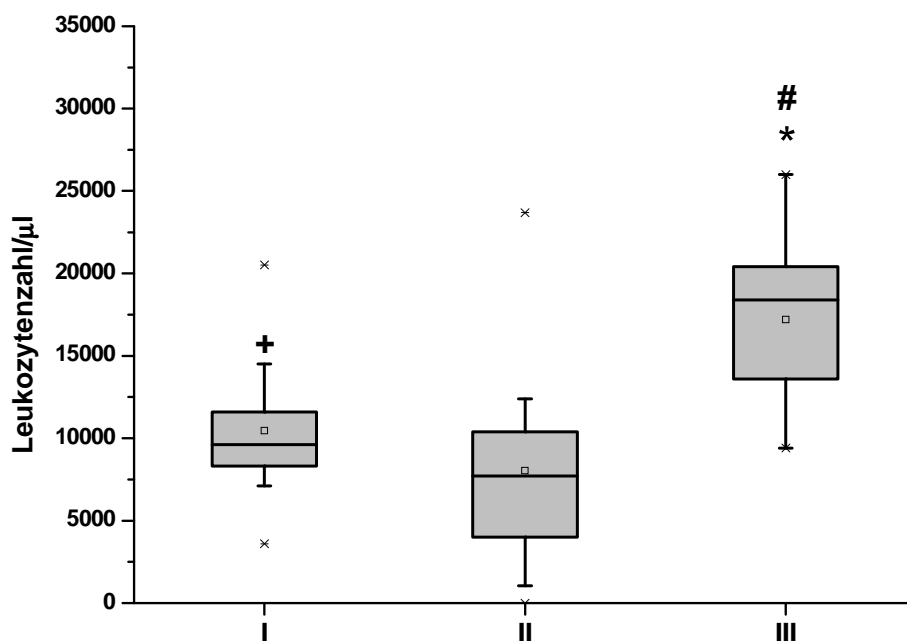


Abbildung 11: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung der Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$  der drei Gruppen (\* $p=0,0013$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p=0,038$ : Gruppe II vs. Gruppe I, # $p=0,0014$ : Gruppe II vs. Gruppe III)

### 3.3.3 Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)

Zwischen den drei Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied für LBP ( $p < 0,0001$ ).

Für Gruppe III ergab sich mit  $73,5 \mu\text{g/ml}$  (Interquartilsabstand:  $61,5\text{-}138 \mu\text{g/ml}$ ) eine signifikante Erhöhung des LBP gegenüber Gruppe I mit  $7,2 \mu\text{g/ml}$  (Interquartilsabstand:  $5,3\text{-}12,15 \mu\text{g/ml}$ ) ( $p < 0,0001$ ).

Im Vergleich zu Gruppe I bestand für Gruppe II mit  $46,6 \mu\text{g/ml}$  (Interquartilsabstand:  $17,15\text{-}99,52 \mu\text{g/ml}$ ) eine signifikante Erhöhung des LBP ( $p = 0,0002$ ).

Bei der Expression von LBP bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III ( $p = 0,15$ ).

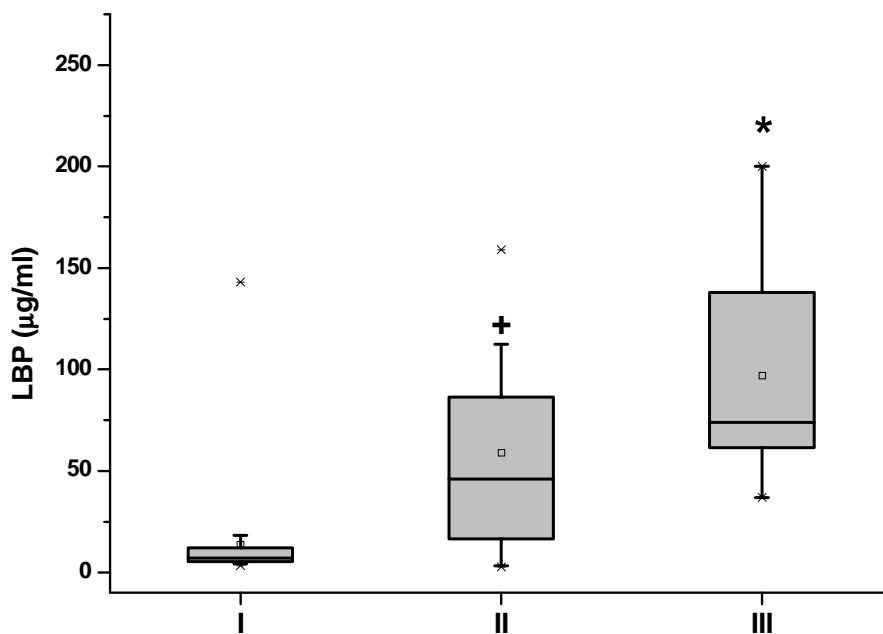


Abbildung 12: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des LBP ( $\mu\text{g/ml}$ ) der drei Gruppen (\* $p < 0,0001$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p = 0,0002$ : Gruppe II vs. Gruppe I)



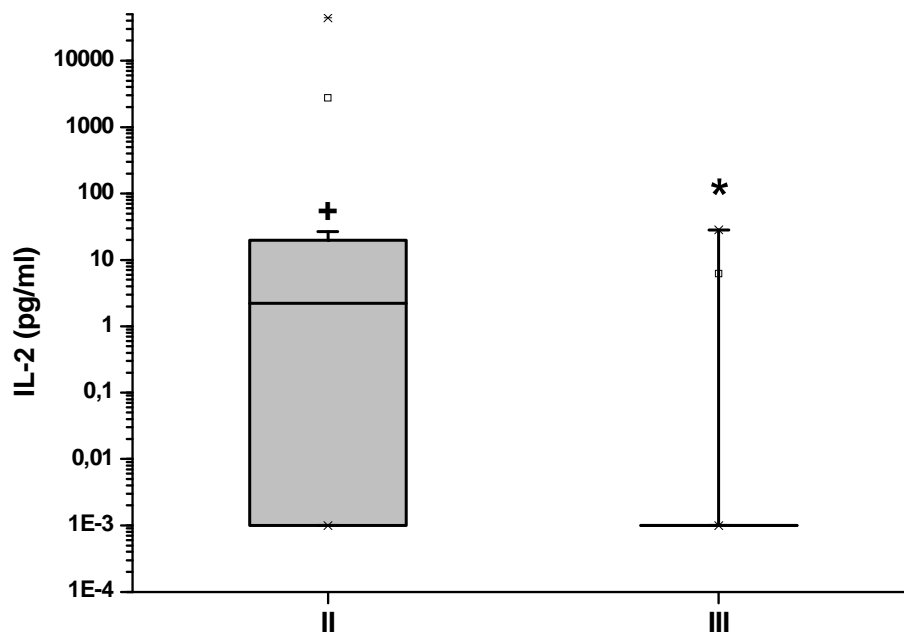
### 3.3.4.2 Interleukin 2

Zwischen den drei Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied für Interleukin 2 ( $p < 0,0001$ ).

Für Gruppe III ergab sich mit 0 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-13,58 pg/ml) eine signifikante Erhöhung des IL-2 gegenüber Gruppe I, bei der dieses Interleukin nicht exprimiert wurde ( $p = 0,007$ ).

Im Vergleich zu Gruppe I bestand für Gruppe II mit 2,2 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-19,74 pg/ml) eine signifikante Erhöhung des IL-2 ( $p < 0,0001$ ).

Bei der Expression von IL-2 wurde jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III gefunden ( $p = 0,334$ ).



**Abbildung 14: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 2 (pg/ml) von Gruppe II und III (\* $p = 0,007$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I) (wegen zu geringer Werte musste auf eine Darstellung von Gruppe I verzichtet werden)**

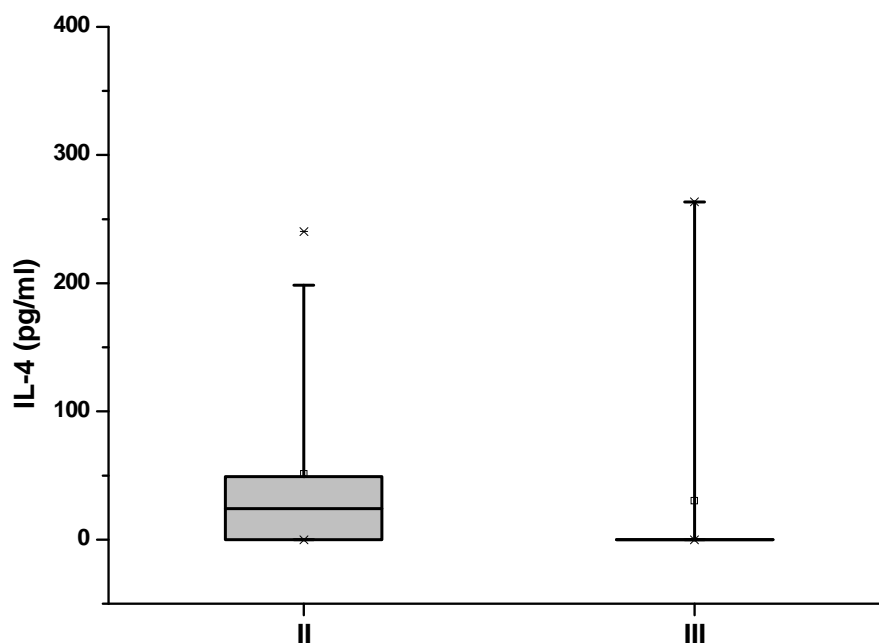


### 3.3.4.3 Interleukin 4

Beim Vergleich aller drei Gruppen miteinander bestand ein signifikanter Unterschied für Interleukin 4 ( $p < 0,0001$ ).

Im Vergleich zu Gruppe I ergab sich für Gruppe II mit 26,79 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-62,21 pg/ml) eine signifikante Erhöhung des IL-4 ( $p < 0,0001$ ).

Zwischen Gruppe III (zweimalige Expression, Werte: 263,53 pg/ml und 10,35 pg/ml) und Gruppe I (zweimalige Expression, Werte: 0,92 pg/ml und 14,06 pg/ml) bestand kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,14$ ) für Interleukin 4. Ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III ( $p = 0,063$ ).



**Abbildung 15: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interleukin 4 (pg/ml) bei den Gruppen II und III ( $+p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I) (wegen zu geringer Werte musste auf eine Darstellung von Gruppe I verzichtet werden)**

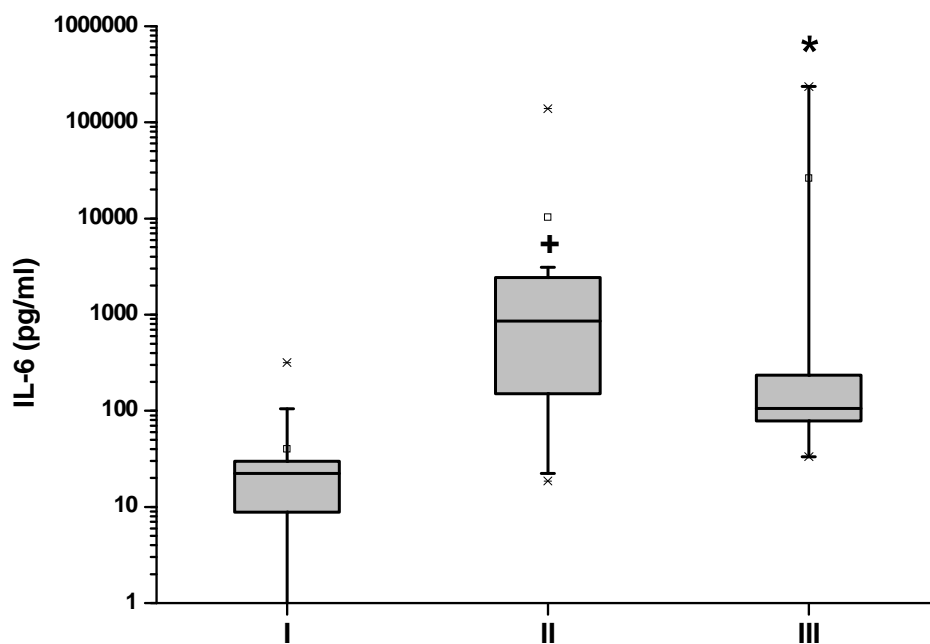
### 3.3.4.4 Interleukin 6

Zwischen den drei Gruppen bestand ein signifikanter Unterschied für Interleukin 6 ( $p < 0,0001$ ).

Für Gruppe III ergab sich mit 106,07 pg/ml (Interquartilsabstand: 73,35-358,09 pg/ml) eine signifikante Erhöhung des IL-6 gegenüber Gruppe I mit 22,37 pg/ml (Interquartilsabstand: 5,52-29,74 pg/ml) ( $p < 0,0001$ ).

Im Vergleich zu Gruppe I bestand für Gruppe II mit 861,8 pg/ml (Interquartilsabstand: 150,17-2418,53 pg/ml) eine signifikante Erhöhung des IL-6 ( $p < 0,0001$ ).

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III ( $p = 0,152$ ).



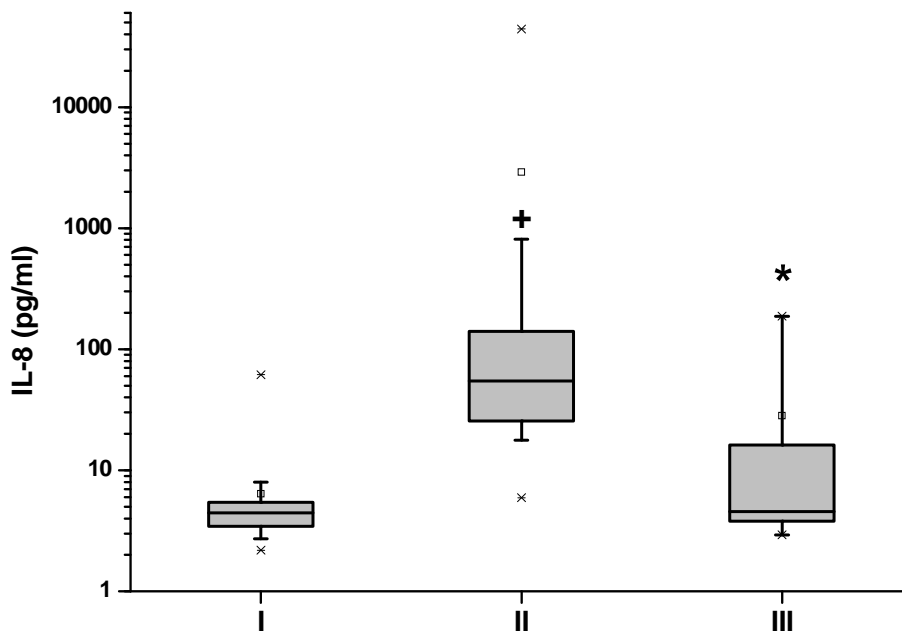
**Abbildung 16:** Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 6 (pg/ml) der drei Gruppen (\* $p = 0,0001$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I)

### 3.3.4.5 Interleukin 8

Im Vergleich aller drei Gruppen fiel ein signifikanter Unterschied für Interleukin 8 ( $p < 0,0001$ ) auf.

Zwischen Gruppe III mit 4,56 pg/ml (Interquartilsabstand: 3,41-20,88 pg/ml) und Gruppe I mit 4,47 pg/ml (Interquartilsabstand: 3,44-5,46 pg/ml) bestand kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,43$ ).

Bei der Expression von IL-8 wies Gruppe II mit 55,77 pg/ml (Interquartilsabstand: 28,60-218,88 pg/ml) eine signifikante Erhöhung gegenüber Gruppe I ( $p < 0,0001$ ) und Gruppe III ( $p = 0,0017$ ) auf.



**Abbildung 17: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 8 (pg/ml) der drei Gruppen (+ $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I, # $p = 0,0017$ : Gruppe II vs. Gruppe III)**

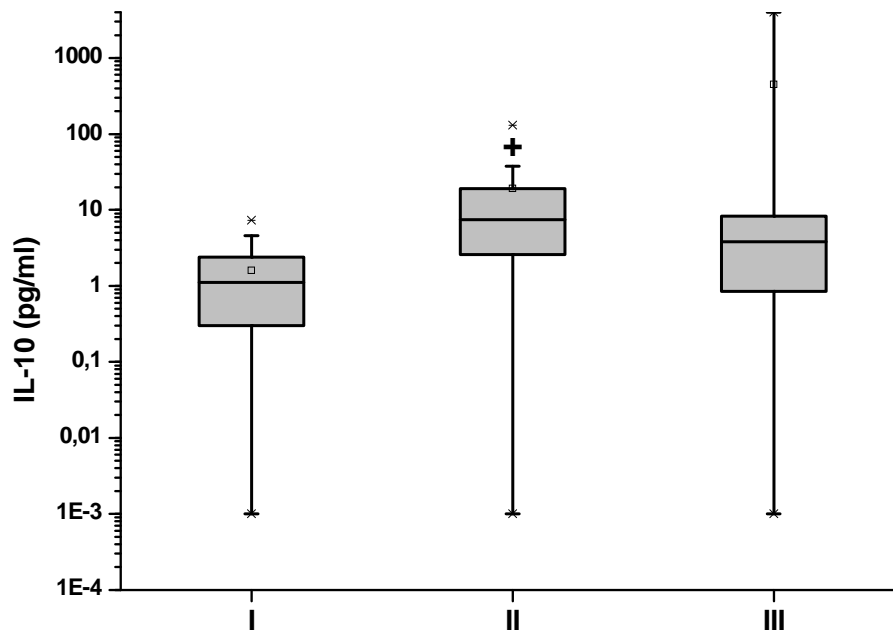
### 3.3.4.6 Interleukin 10

Beim Vergleich aller drei Gruppen miteinander ergab sich ein signifikanter Unterschied für Interleukin 10 ( $p=0,0004$ ).

Zwischen Gruppe III mit 3,82 pg/ml (Interquartilsabstand: 0,83-8,55 pg/ml) und Gruppe I mit 1,11 pg/ml (Interquartilsabstand: 0,3-2,53 pg/ml) bestand kein signifikanter Unterschied ( $p=0,075$ ).

Gruppe II wies mit 7,72 pg/ml (Interquartilsabstand: 3,12-26,17 pg/ml) signifikant höhere Werte für IL-10 auf als Gruppe I ( $p=0,0001$ ).

Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III gefunden ( $p=0,269$ ).



**Abbildung 18: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 10 (pg/ml) der drei Gruppen (+ $p=0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I)**

### **3.3.4.7 Interleukin 12**

Bereits beim Vergleich aller drei Gruppen miteinander bestand kein signifikanter Unterschied für Interleukin 12 ( $p=0,13$ ). Während bei den gesunden Patienten kein IL-12 exprimiert wurde, konnte bei einem einzelnen Patienten mit HWI eine Expression von 3,79 pg/ml und in Gruppe II bei zwei Patienten mit Werten von 0,41 pg/ml und 3,16 pg/ml gemessen werden. Auf eine graphische Darstellung wurde deshalb verzichtet.

### 3.3.4.8 Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

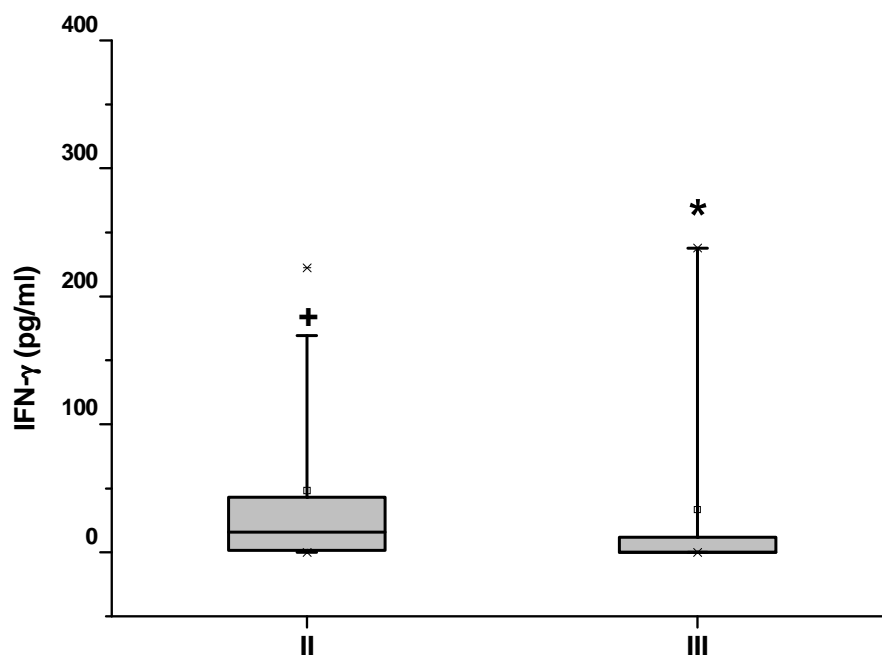
Zwischen den drei Gruppen bestand allgemein ein signifikanter Unterschied für Interferon- $\gamma$  ( $p < 0,0001$ ).

Gruppe III wies eine signifikante Erhöhung des IFN- $\gamma$  gegenüber Gruppe I (einmalige Expression mit einem Wert von 15,84 pg/ml) auf ( $p = 0,0009$ ).

Gruppe II zeigte mit einem medianen Wert von 23,32 pg/ml (Interquartilsabstand: 2,34-59,04 pg/ml) eine signifikante Erhöhung des IFN- $\gamma$  im Vergleich zu Gruppe I ( $p < 0,0001$ ).

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III ( $p = 0,150$ ).

Tabelle 5 gibt Auskunft über die statistische Lage und erklärt die genannten Signifikanzen bei diesem Parameter.



**Abbildung 19: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interferon- $\gamma$  (pg/ml) bei den Gruppen II und III (\* $p = 0,0009$ : Gruppe III vs. Gruppe I, + $p < 0,0001$ : Gruppe II vs. Gruppe I) (wegen zu geringer Werte musste auf eine Darstellung von Gruppe I verzichtet werden)**

Gruppe	Minimum	25%-Quantil	Median	75%-Quantil	Maximum
I	0	0	0	0	15,84
II	0	2,34	23,32	59,04	222,41
III	0	0	0	28,11	237,61
p-Werte: *p (III vs. I) = 0,0009, +p (II vs. I) < 0,0001, #p (II vs.III) = 0,15 (Einheit: pg/ml)					

**Tabelle 5: IFN- $\gamma$ -Werte zu Abbildung 19**

Bei Mitbeurteilung der Quantile und Maxima wird deutlich, dass der Unterschied bei der Verteilung der Werte zwischen Gruppe I und III sowie I und II signifikant ist.

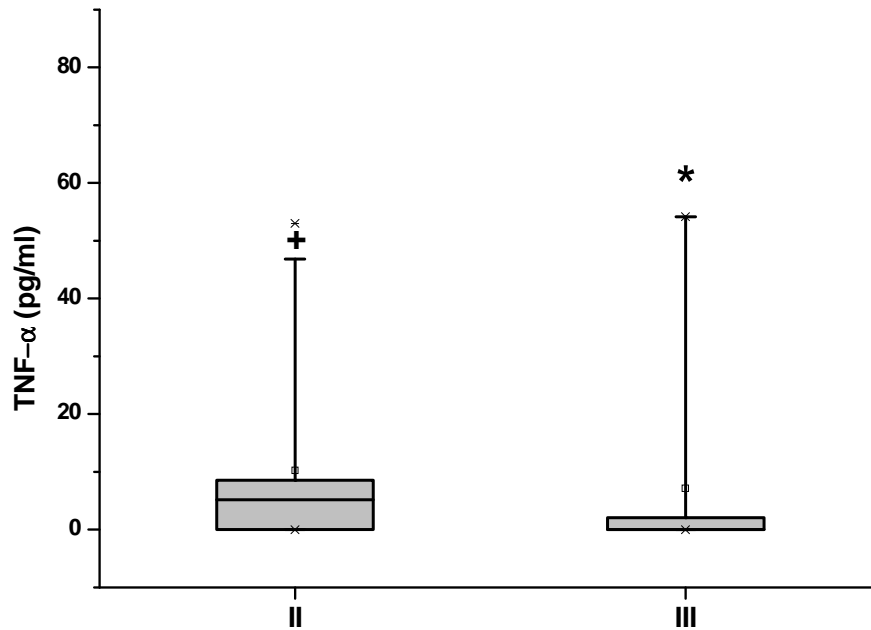
### 3.3.4.9 Tumornekrosefaktor $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

Beim Vergleich aller drei Gruppen miteinander ergab sich ein signifikanter Unterschied für TNF- $\alpha$  ( $p < 0,0001$ ).

Gruppe III zeigte eine signifikante Erhöhung des TNF- $\alpha$  gegenüber Gruppe I (einmalige Expression mit einem Wert von 0,83 pg/ml) ( $p = 0,006$ ).

Für Gruppe II mit 6,26 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-9,63 pg/ml) bestand im Vergleich zu Gruppe I eine signifikante Erhöhung des TNF- $\alpha$  ( $p < 0,0001$ ).

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III ( $p = 0,14$ ). Tabelle 6 gibt Auskunft über die statistische Lage und erklärt die genannten Signifikanzen bei diesem Parameter.



**Abbildung 20: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) (pg/ml) bei den Gruppen II und III (\*p=0,006: Gruppe III vs. Gruppe I, +p<0,0001: Gruppe II vs. Gruppe I) (wegen zu geringer Werte musste auf eine Darstellung von Gruppe I verzichtet werden)**

Gruppe	Minimum	25%-Quantil	Median	75%-Quantil	Maximum
I	0	0	0	0	0,83
II	0	0	6,26	9,93	53
III	0	0	0	5,03	54,17

p-Werte:  
 \*p (III vs. I) = 0,006, +p (II vs. I) < 0,0001, #p (II vs. III) = 0,14  
 (Einheit: pg/ml)

**Tabelle 6: TNF- $\alpha$ -Werte zu Abbildung 20**

Bei Mitbeurteilung der Quantilen und Maxima wird deutlich, dass der Unterschied bei der Verteilung der Werte zwischen Gruppe I und III sowie I und II signifikant ist.



### 3.3.4.10 Granulozyten-Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor (GM-CSF)

Beim Vergleich aller drei Gruppen miteinander bestand ein signifikanter Unterschied für GM-CSF ( $p=0,013$ ).

Für Gruppe III ( $p=0,007$ ) und Gruppe II ( $p=0,003$ ) ergab sich bei der Verteilung der Werte ein signifikanter Unterschied gegenüber Gruppe I. Bei der Expression von GM-CSF wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III festgestellt ( $p=0,97$ ). Tabelle 7 gibt Auskunft über die statistische Lage und erklärt die genannten Signifikanzen bei diesem Parameter.

Aufgrund extrem niedriger Werte kombiniert mit einer großen Streuung war eine graphische Darstellung nicht möglich.

Gruppe	Minimum	25%-Quantil	Median	75%-Quantil	Maximum
I	0	0	0	0	0
II	0	0	0	5,77	165,47
III	0	0	0	29,58	171,6
p-Werte: *p (III vs. I) = 0,007, +p (II vs. I) = 0,003, #p (II vs. III) = 0,97 (Einheit: pg/ml)					

**Tabelle 7: GM-CSF-Werte**

### 3.4 Selektive Betrachtung der Laborparameter in der NEC-Gruppe

Die NEC-Patienten wurden aufgrund ihrer Therapieform in zwei Untergruppen selektiv betrachtet: Die erste Gruppe (n=11) wurde konservativ behandelt. Die zweite Gruppe (n=5) wurde operativ versorgt.

#### 3.4.1 C-reaktives Protein (CRP)

Die beiden Untergruppen wiesen keinen signifikanten Unterschied in der CRP-Konzentration auf ( $p=0,91$ ). Die mediane CRP-Konzentration lag bei den konservativ behandelten Patienten bei 3,6 mg/dl (Interquartilsabstand: 1,9-9,8 mg/dl) und bei den operativ behandelten Patienten bei 3,6 mg/dl (Interquartilsabstand: 0,2-17,75 mg/dl).

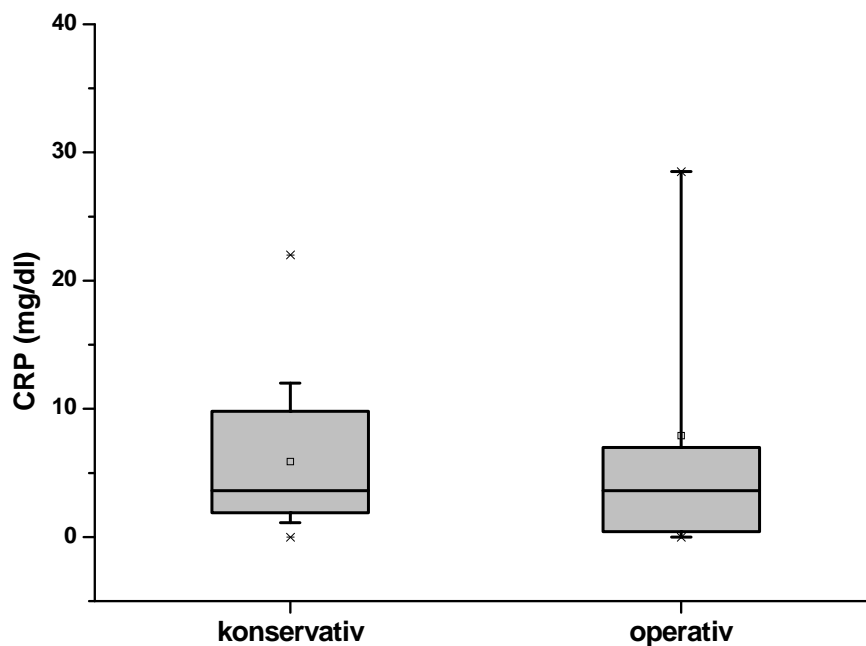


Abbildung 21: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des CRP (mg/dl) der Untergruppen

### 3.4.2 Leukozytenanzahl

Die mediane Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$  lag bei den konservativ behandelten Patienten mit 8.300/ $\mu\text{l}$  (Interquartilsabstand: 6.200-10.600/ $\mu\text{l}$ ) höher als bei den operativ behandelten Patienten (Median: 6.000/ $\mu\text{l}$ ; Interquartilsabstand: 2.800-9.430/ $\mu\text{l}$ ). Jedoch ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0,36$ ).

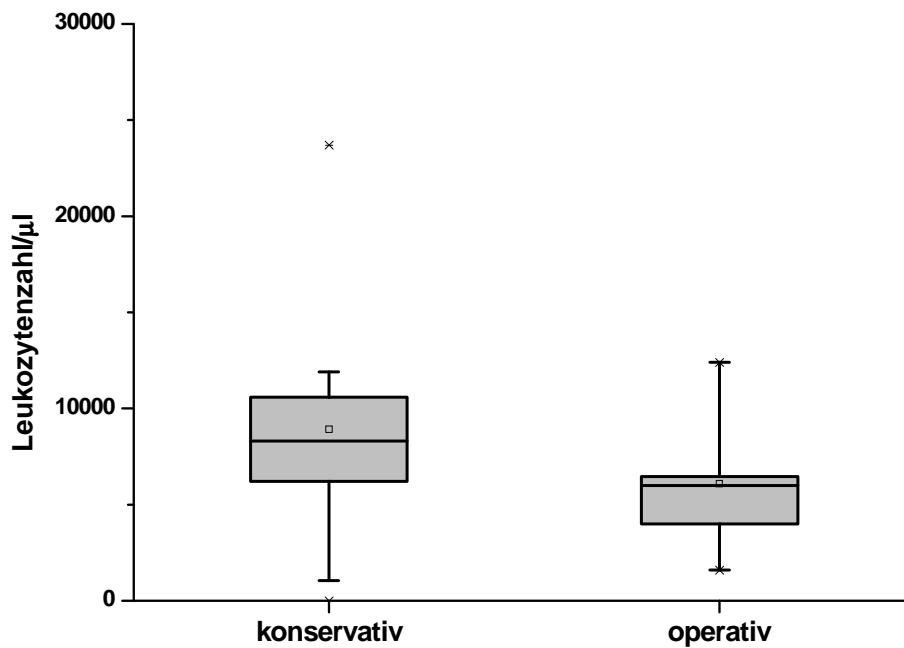


Abbildung 22: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung der Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$  der Untergruppen

### 3.4.3 Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)

Beim Vergleich der medianen LBP-Konzentration wurden bei den operativ behandelten Patienten mit 86,4  $\mu\text{g/ml}$  (Interquartilsabstand: 53,4-131,45  $\mu\text{g/ml}$ ) höhere Werte gemessen als bei den konservativ behandelten Patienten (Median: 43,9  $\mu\text{g/ml}$ ; Interquartilsabstand: 14,2-71,7  $\mu\text{g/ml}$ ). Ein statistisch signifikanter Unterschied bestand nicht ( $p=0,11$ ). Das LBP wurde mit 11/11 und 5/5 bei beiden Gruppen zu 100% exprimiert. Bei einem Cut-off von 15 $\mu\text{g/ml}$  war es bei den konservativ behandelten Patienten in 8/11 der Fälle und bei den operativen Patienten bei 5/5 Fällen erhöht.

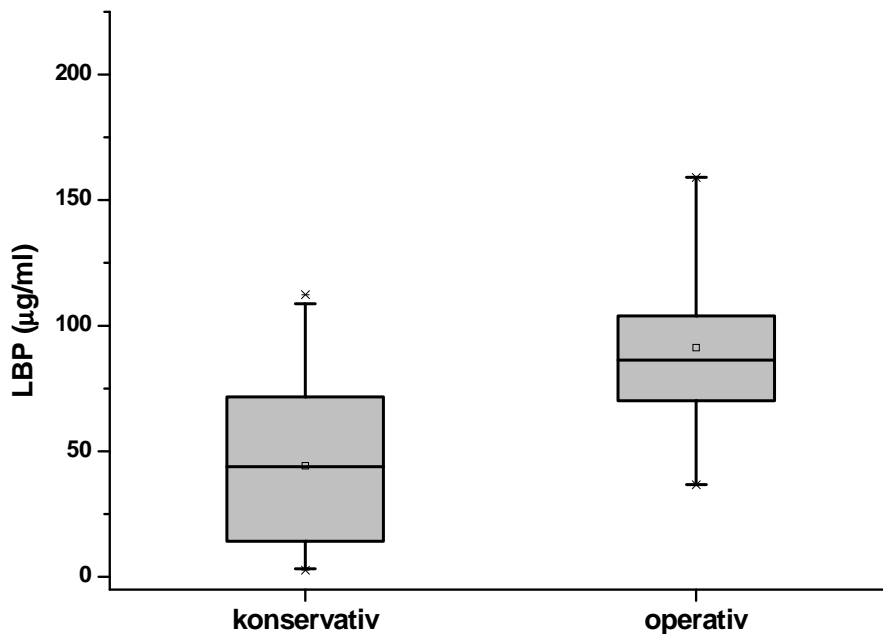
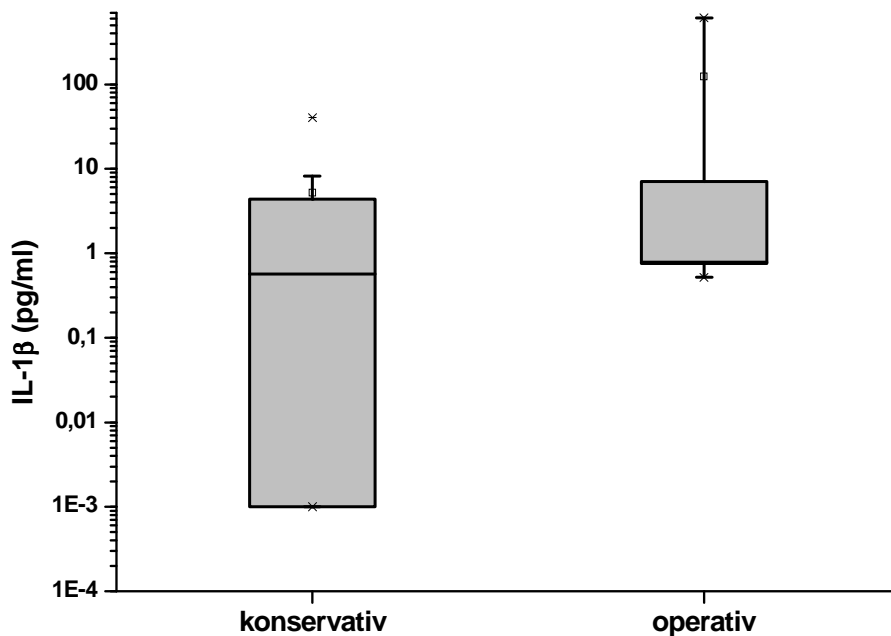


Abbildung 23: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des LBP ( $\mu\text{g/ml}$ ) der Untergruppen

### 3.4.4 Zytokine

#### 3.4.4.1 Interleukin 1 $\beta$

Die mediane IL-1 $\beta$ -Konzentration lag bei den operativ behandelten Patienten mit 0,78 pg/ml (Interquartilsabstand: 0,64-310,14 pg/ml) über der Konzentration der konservativ behandelten Patienten (Median: 0,57 pg/ml; Interquartilsabstand: 0-4,39 pg/ml). Es bestand keine statistische Signifikanz ( $p=0,21$ ). Eine Expression war bei den operativ behandelten Patienten in 5/5 Fällen und bei den konservativ behandelten Patienten in 7/11 Fällen nachweisbar.



**Abbildung 24: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 1 $\beta$  (pg/ml) der Untergruppen**

### 3.4.4.2 Interleukin 2

Die Bestimmung des medianen Wertes von IL-2 ergab bei den konservativen behandelten Patienten 0 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-8,31 pg/ml), bei den operativ behandelten Patienten 4,52 pg/ml (Interquartilsabstand: 3,44-20,78 pg/ml). Es bestand kein signifikanter Unterschied ( $p=0,061$ ). Eine Expression war bei den operativ behandelten Patienten in 5/5 Fällen und bei den konservativ behandelten Patienten in 4/11 Fällen nachweisbar.

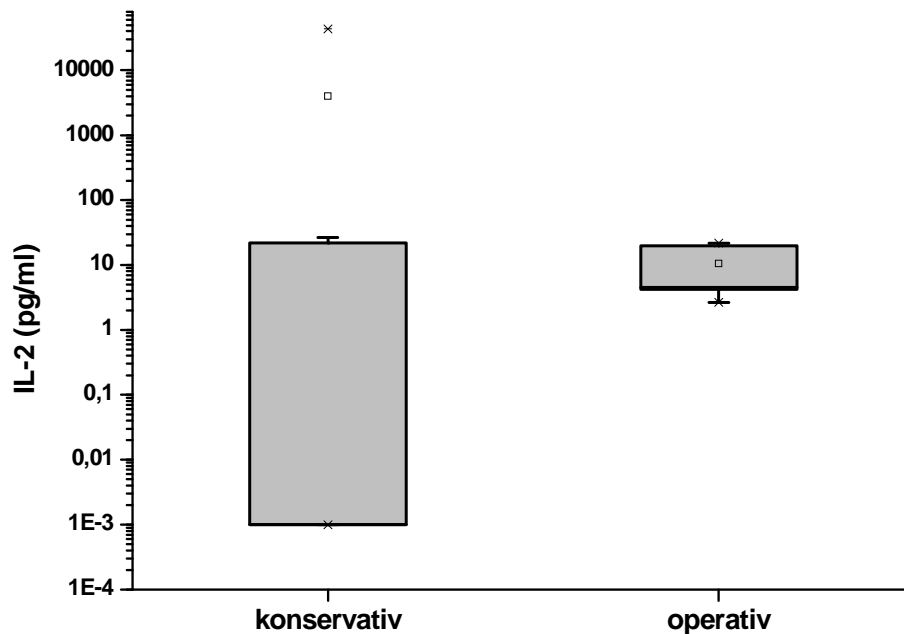
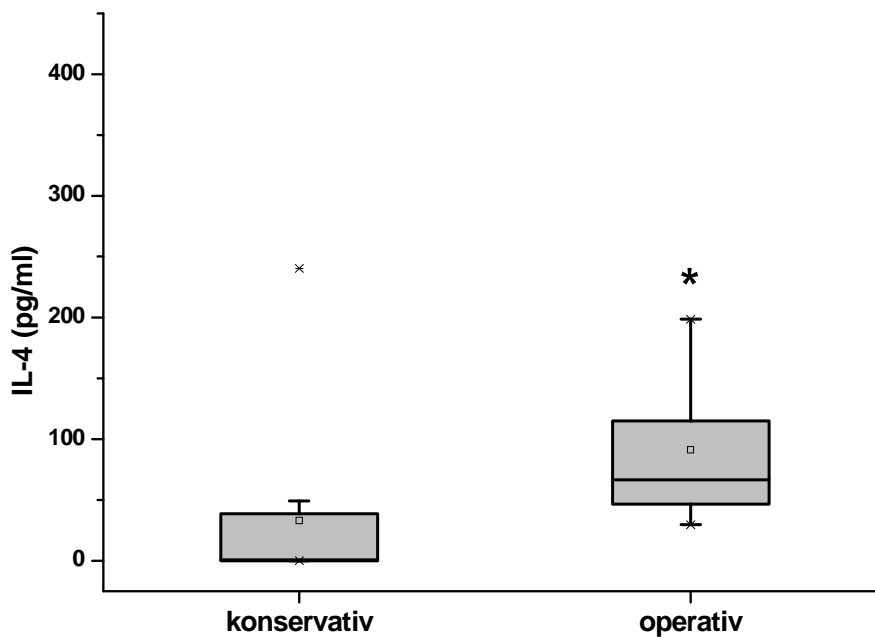


Abbildung 25: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 2 (pg/ml) der Untergruppen

### 3.4.4.3 Interleukin 4

Bei IL-4 bestand ein signifikanter Unterschied ( $p=0,029$ ) zwischen den operativ behandelten Patienten mit einem Median von 66,56 pg/ml (Interquartilsabstand: 37,91-198,45 pg/ml) und den konservativ behandelten Patienten mit 0,91 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-38,82 pg/ml). Eine Expression war bei den operativ behandelten Patienten in 5/5 Fällen und bei den konservativ behandelten Patienten in 6/11 Fällen nachweisbar.



**Abbildung 26: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interleukin 4 (pg/ml) der Untergruppen (\* $p=0,029$ )**

### 3.4.4.4 Interleukin 6

Der mediane Wert lag bei den operativ behandelten Patienten mit 2418,53 pg/ml (Interquartilsabstand: 1183,95-71306,58 pg/ml) signifikant höher als bei den konservativ behandelten Patienten mit 279 pg/ml (Interquartilsabstand: 57,88-1134,99 pg/ml) ( $p=0,024$ ). Interleukin 6 wurde mit 11/11 und 5/5 bei beiden Gruppen zu 100% exprimiert.

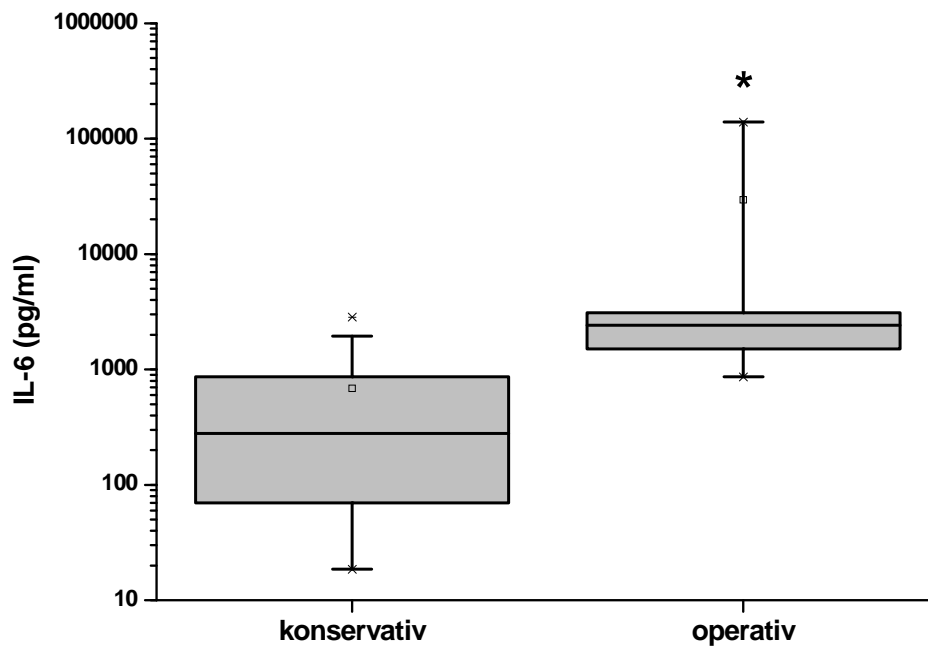
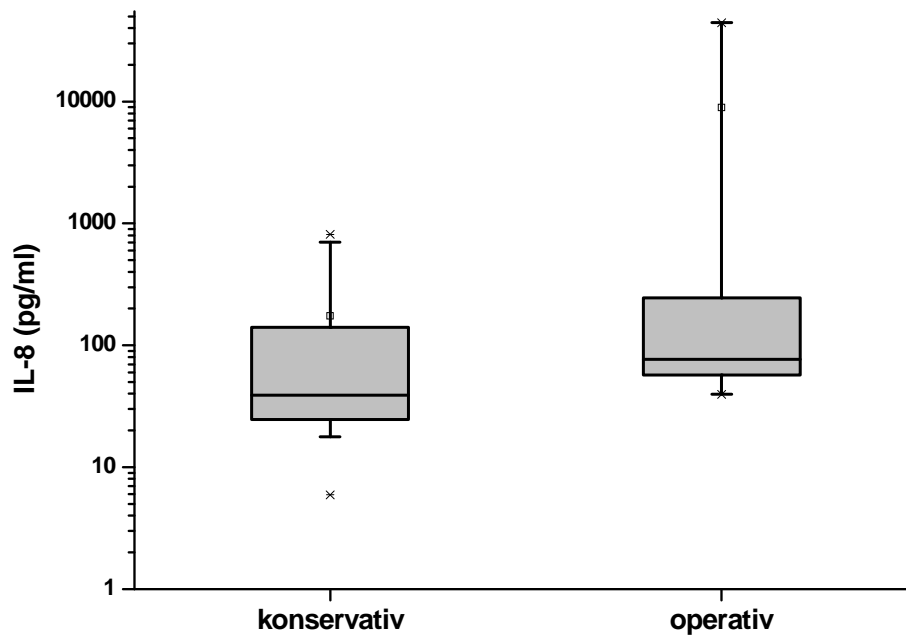


Abbildung 27: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 6 (pg/ml) der Untergruppen (\* $p=0,024$ )



### 3.4.4.5 Interleukin 8

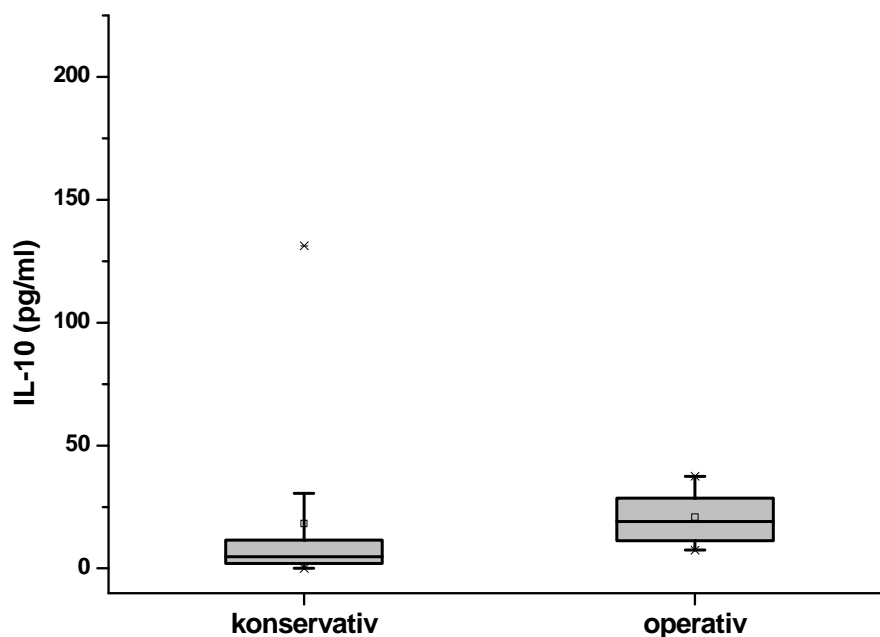
Der Vergleich der beiden Untergruppen bezüglich Interleukin 8 ergab keinen signifikanten Unterschied ( $p=0,141$ ). Der Median betrug bei den konservativ behandelten Patienten 39,06 pg/ml (Interquartilsabstand: 24,65-140,46 pg/ml) und bei den operativ behandelten 76,86 pg/ml (Interquartilsabstand: 48,25-22251,51 pg/ml). Interleukin 8 wurde mit 11/11 und 5/5 bei beiden Gruppen zu 100% exprimiert.



**Abbildung 28: Logarithmische Darstellung mittels Box-and-Whisker-Plot des Interleukin 8 (pg/ml) der Untergruppen**

### 3.4.4.6 Interleukin 10

Für Interleukin 10 ergab der Vergleich der zwei Gruppen keinen signifikanten Unterschied ( $p=0,09$ ). Der mediane Wert lag bei den konservativ behandelten Patienten bei 4,86 pg/ml (Interquartilsabstand: 2,09-11,58 pg/ml) und bei den operativ behandelten bei 19,11 pg/ml (Interquartilsabstand: 9,37-33,05 pg/ml). Eine Expression war bei den operativ behandelten Patienten in 5/5 Fällen und bei den konservativ behandelten Patienten in 9/11 Fällen nachweisbar.



**Abbildung 29: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des Interleukin 10 (pg/ml) der Untergruppen**

### 3.4.4.7 Interleukin 12

Es bestand kein signifikanter Unterschied ( $p=0,55$ ) bei der Interleukin 12-Expression bei NEC-Patienten. Bei beiden Gruppen konnte jeweils nur bei einem einzelnen Patienten eine Expression gemessen werden.

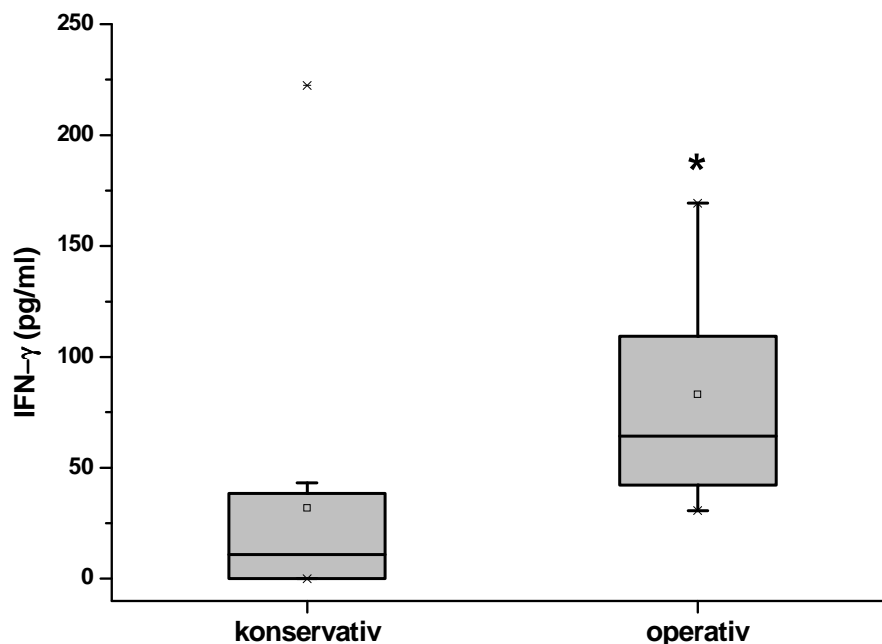
Eine graphische Darstellung war deshalb nicht möglich. Tabelle 8 zeigt die Werte von Interleukin 12.

Gruppe	Minimum	25%-Quantil	Median	75%-Quantil	Maximum
konservativ	0	0	0	0	0,41
operativ	0	0	0	1,58	3,16
p-Wert: 0,55 (Einheit: pg/ml)					

**Tabelle 8: Interleukin 12-Werte**

### 3.4.4.8 Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ )

Bei den Ergebnissen für IFN- $\gamma$  fand sich ein signifikanter Unterschied ( $p=0,031$ ). Für die konservativ behandelten Patienten ergab sich ein medianer Wert von 10,82 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-38,57 pg/ml). Die operativ behandelten Patienten lagen mit 64,31 pg/ml (Interquartilsabstand: 36,56-139,28 pg/ml) signifikant höher. Eine Expression war bei den operativ behandelten Patienten in 5/5 Fällen und bei den konservativ behandelten Patienten in 8/11 Fällen nachweisbar.



**Abbildung 30: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des IFN- $\gamma$  (pg/ml) der Untergruppen (\* $p=0,031$ )**

### 3.4.4.9 Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- $\alpha$ ):

Für TNF- $\alpha$  ergab sich ein signifikant höheres Ergebnis für die operativen Patienten mit 9,98 pg/ml (Interquartilsabstand: 6,84-32,52 pg/ml) im Vergleich zu den konservativ behandelten Patienten mit 1,44 pg/ml (Interquartilsabstand: 0-8 pg/ml) ( $p=0,02$ ). Eine Expression war bei den operativ behandelten Patienten in 5/5 Fällen und bei den konservativ behandelten Patienten in 6/11 Fällen nachweisbar.

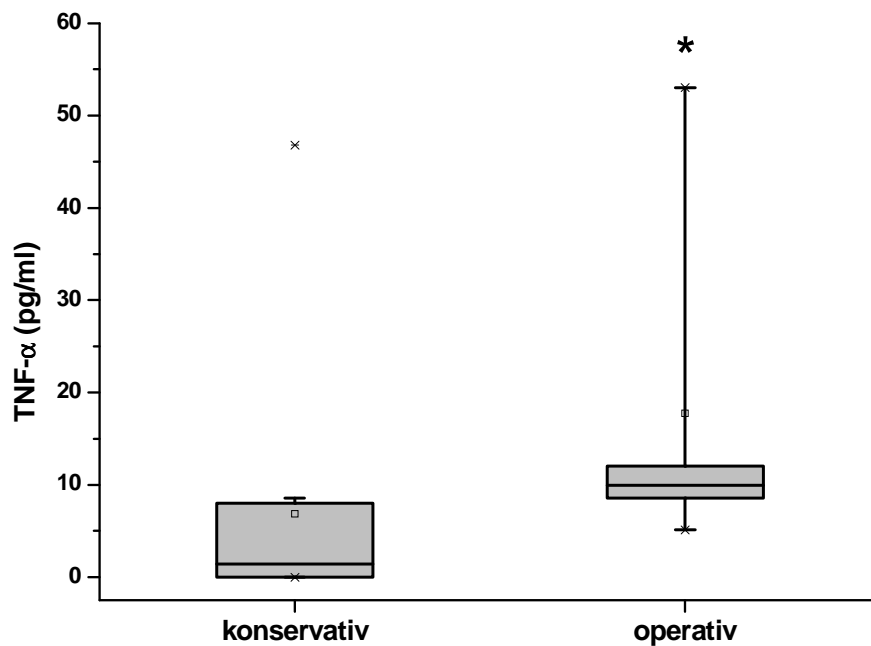
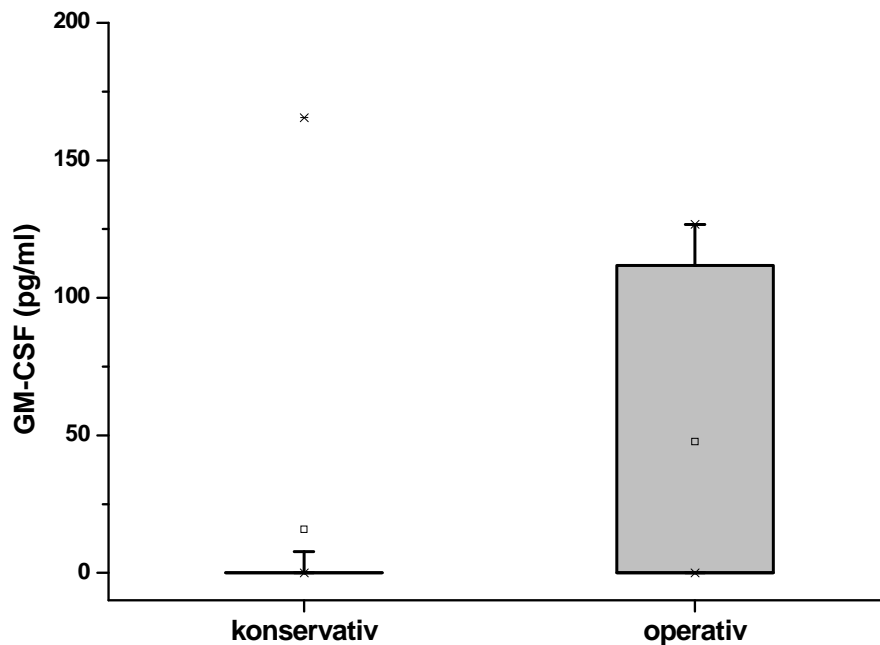


Abbildung 31: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des TNF- $\alpha$  (pg/ml) der Untergruppen (\* $p=0,025$ )

### 3.4.4.10 Granulozyten-Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor (GM-CSF)

Für GM-CSF wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt ( $p=0,41$ ). In der konservativen wie auch in der operativen Untergruppe konnte GM-CSF bei jeweils zwei Patienten gemessen werden (Werte siehe Tabelle 11 im Anhang).

Eine Expression war bei den operativ behandelten Patienten in 2/5 Fällen und bei den konservativ behandelten Patienten in 2/11 Fällen nachweisbar. Zum statistischen Verständnis siehe Tabelle 9.



**Abbildung 32: Box-and-Whisker-Plot zur Darstellung des GM-CSF (pg/ml) der Untergruppen**

Gruppe	Minimum	25%-Quantil	Median	75%-Quantil	Maximum
konservativ	0	0	0	0	165,4
operativ	0	0	0	119,23	127,7
p-Wert = 0,41 (Einheit: pg/ml)					

**Tabelle 9: GM-CSF-Werte zu Abbildung 32**

<b>Laborparameter</b>	<b>konservativ (n=11)</b>	<b>operativ (n=5)</b>	<b>insgesamt (n=16)</b>
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	7	5	12
<b>IL-2</b>	4	5	9
<b>IL-4</b>	6	5	11
<b>IL-6</b>	11	5	16
<b>IL-8</b>	11	5	16
<b>IL10</b>	9	5	14
<b>IL-12</b>	1	1	2
<b>GM-CSF</b>	2	2	4
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	8	5	13
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	6	5	11
<b>CRP</b>	10	4	14
<b>LBP</b>	11	5	16
<b>Leukozyten</b>	11	5	16

**Tabelle 10: Anzahlen der Patienten *mit* Expression der jeweiligen Zytokine**

## **3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse**

### **3.5.1 Klinische Daten der NEC-Gruppe**

Bei den NEC-Patienten waren das durchschnittliche Gestationsalter (32 SSW ( $\pm 4$ )) sowie das durchschnittliche Geburtsgewicht (1708g ( $\pm 675$ )) signifikant niedriger als bei den Patienten der gesunden und inflammatorischen Vergleichsgruppen. Auch zum Zeitpunkt der Studienaufnahme waren durchschnittliches Gewicht (1922g ( $\pm 643$ )) und Größe (43cm ( $\pm 5$ )) im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen signifikant geringer. Bei einer Einteilung in die drei gängigen Kategorien LBW (= Low-birth-weight; <2500), VLBW (= Very-low-birth-weight; <1500g) und ELBW (= Extremely-low-birth-weight; <1.000g) gehörten 50% der Patienten (8/16) zur Gruppe der LBW. 4 NEC-Patienten zählten zu den VLBW und 3 Patienten zu den ELBW. Lediglich ein Patient war mit 3.500g normalgewichtig. Bei 9/16 NEC-Patienten stimmte das Studiengewicht mit dem Geburtsgewicht überein. 14 von 16 NEC-Patienten wurden unterhalb der 37 SSW geboren. Bei Patienten mit NEC dominierte der operative Entbindungsmodus (Sectio cesarea).

### **3.5.2 Patientengruppen**

#### **Vergleich von Gruppe I und Gruppe III**

Gruppe III wies gegenüber Gruppe I eine signifikante Erhöhung von CRP, Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$ , LBP IL-2, IL-6, GM-CSF, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  auf.

Die Laborparameter IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8 und IL-10 zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied. Tendenziell ist jedoch auch bei diesen Parametern eine vermehrte Expression bei den HWI-Patienten der Gruppe III zu beobachten.

#### **Vergleich von Gruppe I und Gruppe II**

Bis auf IL-12 und die Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$  waren alle Laborparameter in Gruppe II signifikant höher als bei Gruppe I. Die Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$  war in Gruppe I signifikant gegenüber Gruppe II erhöht.

### **Vergleich von Gruppe II und Gruppe III**

Beim Vergleich von Gruppe II mit Gruppe III war allein IL-8 bei Gruppe II signifikant erhöht. Die Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$  war hingegen bei Gruppe III signifikant erhöht. Die anderen Laborparameter zeigten keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich dieser beiden Gruppen.

### **Vergleich der NEC-Untergruppen**

Für CRP und Leukozytenzahl/ $\mu\text{l}$  wurden bei den konservativ behandelten Patienten höhere Werte gemessen.

Beim Vergleich der beiden Untergruppen konnte bei den operativ behandelten Patienten eine signifikante Erhöhung von IL-4, IL-6, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  beobachtet werden.

Für LBP, IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den zwei Gruppen festgestellt werden. Eine Tendenz zur verstärkten Expression bei den operativ behandelten Patienten war dennoch erkennbar.



## 4. Diskussion

### 4.1 Allgemeine Diskussion

Die Nekrotisierende Enterokolitis ist die häufigste Erkrankung des Gastrointestinaltraktes des Früh- und Neugeborenen mit hoher Morbidität und Mortalität (10, 23). Obwohl die Pathogenese nicht abschließend geklärt ist, sind einige Risikofaktoren bekannt, welche zur Entwicklung dieser entzündlichen Darmerkrankung führen können.

Zu diesen Risikofaktoren gehören vor allem die Frühgeburtlichkeit und ein niedriges Geburtsgewicht (105, 110, 167). Über 90% der betroffenen Kinder sind vor der 36. Schwangerschaftswoche geboren oder haben ein Geburtsgewicht von unter 1.500g (62, 93). Auch die Gabe von Ersatznahrung prädisponiert für die Entstehung einer NEC (22, 27, 107). Eine verstärkte Kolonisation des Darmes mit gram-negativen Bakterien wie E.coli, Klebsiellen, Salmonellen und Clostridien ist bei Erkrankten nachweisbar (9, 41, 92, 98). Ereignisse wie Schock, Hypothermie oder perinatale Asphyxie (22, 66), die zu einer Hypoperfusion des Darmes führen, spielen eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der NEC (93, 125, 146). Alle genannten Risikofaktoren können einzeln oder kombiniert vorkommen und führen zur Schädigung der Darmmucosa, welche eine Zytokinexpression initiiert und zu einer Permeabilitätsstörung der Mucosa führen kann (82). Die dadurch ermöglichte verstärkte Einwanderung von Bakterien steigert erneut die Zytokinausschüttung, welche eine Vasokonstriktion mit darauffolgender Nekrose zur Folge haben kann. Da die Mortalität mit dem Voranschreiten der Erkrankung steigt (10), ist es von großem Interesse, die Diagnose frühzeitig zu stellen, um rechtzeitig therapeutische Maßnahmen einleiten zu können.

Labordiagnostisch werden die für die Pädiatrie und Sepsisdiagnostik geeigneten Entzündungsparameter (CRP, Leukozytenzahl, Interleukin 6 und 8) herangezogen. Bisher gibt es keine spezifischen Laborparameter, die den Verdacht auf eine Nekrotisierende Enterokolitis eindeutig bestätigen oder vor dem Auftreten klinischer Symptome die Entstehung der Erkrankung andeuten. Es gelingt derzeit nicht, die NEC anhand von Laborparametern im Frühstadium von anderen entzündlichen Erkrankungen abzugrenzen.

Ziel dieser Studie war es aus diesem Grund, eine für die NEC spezifische Zytokinexpression im Serum von betroffenen Kindern zu ermitteln. Dies würde eine frühere und adäquatere Behandlung für die betroffenen Patienten ermöglichen, mit dem Ziel, den Patienten risikoadaptiert zu therapieren.

## 4.2 Diskussion der Ergebnisse

### Entbindungsmodus

Der Einfluss des Entbindungsmodus auf die Pathogenese der NEC wurde in einzelnen Studien untersucht. Der Darm eines Neugeborenen ist pränatal steril und wird postnatal rasch bakteriell besiedelt. Der Entbindungsmodus beeinflusst die Art dieser Keimbesiedelung. Hällström et al. (68) untersuchten die Mikroflora von vaginal und per Sectio cesarea geborenen Neugeborenen: es stellte sich heraus, dass 7 Tage nach der Geburt in beiden Gruppen *Staphylokokkus aureus* die Darmflora dominierte. *Escherichia coli* wurde bei vaginal geborenen signifikant häufiger gefunden. Enterokokken und *Candida albicans* wurden bei NEC-Patienten signifikant häufiger entdeckt. *Bacteroides fragilis* wurde bei Patienten, die per Sectio cesarea entbunden wurden, signifikant seltener nachgewiesen (60). Die Untersuchung von Hällström würde eine vaginale Entbindung als Risikofaktor vermuten lassen, ein signifikanter Zusammenhang konnte jedoch nicht gezeigt werden. Die perinatale Asphyxie im Rahmen des perinatalen Stresses bei einer vaginalen Entbindung würde ebenfalls dafür sprechen, dass eine vaginale Entbindung einen Risikofaktor darstellt. Uauy et al. (170) hingegen beschrieben die Sectio cesarea als signifikanten Risikofaktor für die Entstehung einer NEC. Eine Studie von Siggers et al. (162) zeigte wiederum keinerlei Unterschied bei der Inzidenz der NEC bezüglich vaginaler gegenüber operativer Entbindung. Unabhängig von der Entstehung einer NEC zeigte Berner in einer groß angelegten Studie (13), dass der Entbindungsmodus selbst keinen Einfluss auf die Zytokinexpression bei Neugeborenen hat.

In der vorliegenden Studie konnte bezüglich der Art des Geburtsweges kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen festgestellt werden. Es zeigte sich jedoch, dass die meisten Patienten mit NEC per Sectio cesarea geboren wurden. Dies ist darauf zurückzuführen, dass diese Kinder zu klein waren, um via naturalis geboren zu werden.

## **Einfluss von Gewicht und Alter**

Bei Frühgeborenen mit niedrigem Geburtsgewicht tritt eine Nekrotisierende Enterokolitis häufiger auf als bei reifgeborenen Neugeborenen (166, 170).

Mehrfach wurde ein Zusammenhang zwischen einem niedrigen Geburtsgewicht und Gestationsalter mit der Entstehung einer NEC beschrieben. Dieser Zusammenhang ist wahrscheinlich auf ein schwaches Immunsystem und eine unreife Darmmukosa zurückzuführen. Durch mehrere Faktoren (z.B. Hypoxie) kann es zur Schädigung der Darmmukosa kommen, woraufhin eine Kette von Entzündungsreaktionen ausgelöst wird (62).

Die meisten NEC-Patienten der vorliegenden Studie zählten zu der Gruppe der LBW (= Low-birth-weight; <2500g), VLBW (= Very-low-birth-weight; <1500g) oder ELBW (= Extremely-low-birth-weight; <1000g). Diese gängige Einteilung in gewichtsabhängige Untergruppen zeigt, dass mit sinkendem Geburtsgewicht das Risiko für eine NEC steigt (145, 166). Bei 9/16 NEC-Patienten stimmte das Studiengewicht mit dem Geburtsgewicht überein. Dies lässt darauf schließen, dass die meisten Patienten dieser Studie kurz nach der Geburt erkrankten. Der Großteil der NEC-Patienten wurde vor der 37.SSW geboren. Zahlreiche Studien zeigten, dass die Frühgeburtlichkeit mit den dadurch bedingten Risikofaktoren den einflussreichsten Faktor in der Pathogenese der NEC darstellt (105, 110, 167).

Bei Diagnosestellung und Aufnahme in die Studie wurde die Größe der Patienten gemessen. Sie waren mit einer Größe von 43cm ( $\pm 5$ ) signifikant kleiner als Patienten der Kontrollgruppen, was auf die Frühgeburtlichkeit zurückzuführen war. Da die Größenmessung eines Säuglings oft nicht exakt ist und vom Messenden und der Untersuchungsbereitschaft des Säuglings abhängig ist, sind diese Daten statistisch nur eingeschränkt zu werten.

## **Diagnostik und Therapie**

Es gab keine direkten Zusammenhänge zwischen diagnostischen Merkmalen und der durchgeführten Therapie. 6 von 11 (~54,5%) konservativ behandelten Patienten

wiesen sonographisch Luft in der Pfortader auf, während bei nur 5 von 11 (~45%) wurde radiologisch eine Pneumatosis intestinalis diagnostiziert.

Diese Ergebnisse passen zu den Ergebnissen vorangegangener Studien, welche zeigten, dass radiologische und sonographische Zeichen alleine nicht zu zufriedenstellenden Ergebnissen bei der Diagnosestellung führen (10, 48, 134). Die Pneumatosis intestinalis ist nicht allein spezifisch für die NEC (21). Das intramurale Gas kann schon früh auftreten, jedoch innerhalb von Stunden wieder verschwinden (134) und ist nicht bei jedem NEC-Fall nachzuweisen (119). Bei den operativ behandelten Patienten war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung nur in einem Fall eine Pneumatosis intestinalis nachweisbar, bei den anderen dieser Untergruppe vermutlich teilweise bereits wieder verschwunden.

Breitet sich intramurales Gas in die Bauchwandvenen aus und gelangt in das portale Venensystem, so sieht man in der Abdomensonographie Luft in der Pfortader. Sie kommt häufiger bei Patienten vor, welche im Verlauf einer Operation unterzogen werden, korreliert jedoch nicht mit der Mortalität: 47% der Patienten mit Luft in der Pfortader überleben ohne Operation (157). Dementsprechend hatten lediglich zwei Patienten der vorliegenden Studie nachweisbar Luft in der Pfortader.

Freie Luft als Zeichen einer intestinalen Perforation stellt die einzige absolute OP-Indikation dar (64). In einer Studie von Frey et al. war jedoch zum Zeitpunkt der Perforation in nur 63% der Fälle freie Luft radiologisch nachweisbar (54). Auch in der vorliegenden Studie konnte nur bei zwei der operativ behandelten Patienten freie Luft in der Abdomenübersichtsaufnahme nachgewiesen werden.

Dördelmann berichtet von einer Sensitivität von 45% und einer Spezifität von 86% der Abdomensonographie für eine Diagnosestellung ab einem NEC-Stadium II (39). Dieses Ergebnis ist auch deshalb keinesfalls zufriedenstellend, weil die Patienten mit Stadium I noch schwieriger zu diagnostizieren sind.

Die Fardopplersonographie ermöglicht die sensitive Beurteilung der Perfusion ergänzend zur Bestimmung von Darmwanddicke und Peristaltik (49). Sie ergänzt und verbessert somit die Diagnostik im Rahmen der NEC. Fehlende Peristaltik tritt besonders bei schweren Verläufen auf, wohingegen Darmdilatation unspezifisch in allen

Stadien der NEC beobachtet werden kann. Limitiert wird die sonographische Diagnostik durch Meteorismus (48).

Eine rein radiologische und sonographische Diagnostik erscheint in Anbetracht der aktuellen Aussagekraft dieser beiden Techniken zur frühzeitigen Diagnostik nicht sinnvoll. Bei der Diagnostik der NEC sollten deshalb alle einsetzbaren Diagnostikmöglichkeiten ausgeschöpft und zunehmend verbessert werden. Dazu gehört auch die Labordiagnostik.

### **Laborchemische Diagnostik**

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akut-Phase-Protein, welches im Rahmen von Entzündungen ansteigt und mit dem Grad der Gewebsschädigung korreliert (83, 150). Die Anzahl an Leukozyten im Blut steigt bei bakteriellen Infekten begleitend zum CRP an. Man würde im Rahmen einer ausgeprägten Entzündung wie der Nekrotisierenden Enterokolitis sehr hohe Werte für diese beiden Parameter erwarten, besonders bei Patienten, bei denen eine Operation notwendig wurde. Hällström wies bei Patienten mit Stadium III im Vergleich zu Stadium II eine signifikant erhöhte Leukozytenzahl im Blut nach (69).

In der vorliegenden Studie war jedoch keine Korrelation mit dem Schweregrad der NEC nachweisbar. Gegenüber der gesunden Kontrollgruppe war das CRP, jedoch nicht die Anzahl der Leukozyten signifikant erhöht. Caplan fand bei NEC-Patienten ebenfalls niedrigere Leukozytenzahlen als bei seiner Kontrollgruppe (24).

Grund für die auch in dieser Studie widererwartend niedrig ausgefallenen Werte könnte das bei Frühgeborenen unreife Immunsystem sein (62).

Die signifikant erhöhten Leukozytenanzahlen bei Patienten mit einem HWI weisen auf dessen bakterielle Genese hin. Bei der NEC ist im Gegensatz hierzu die bakterielle Genese nur eine mögliche und nicht in jedem Fall gesicherte Ursache (2, 93). Erhöhte Werte in Gruppe I und III könnten durch das entsprechende höhere Erkrankungsalter mit einem reiferen Immunsystem begründet werden.

Bei rein konservativ behandelten NEC-Patienten zeigten sich im Vergleich zu den operativ behandelten Patienten signifikant erhöhte CRP- und Leukozytenwerte. Die Ursache hierfür bleibt unklar. Diese Beobachtung scheint jedoch nicht als Verlaufsparemeter zur Beurteilung der NEC geeignet zu sein.

Das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP) findet Anwendung in der Sepsisdiagnostik bei Erwachsenen (133). Es schließt die diagnostische Lücke zwischen Zytokinen (Interleukin 6) und CRP (8) und erwies sich in Studien von Berner et al. und Behrendt et al. als geeigneter Sepsisparameter. Entsprechend dieser vorangegangenen Studien (8, 12, 133) stellte LBP auch in der vorliegenden Studie einen guten Infektparameter dar, welcher jedoch keine Differenzierung bezüglich der Infektursache ermöglichte. In Bezug auf das Überleben konnte LBP bisher keine Bedeutung zugeschrieben werden (133).

LBP wurde in der vorliegenden Studie bei operativ behandelten Patienten prozentual häufiger als bei konservativ behandelten exprimiert. LBP steigt erst nach 12 Stunden an und könnte deshalb einen Hinweis auf ein bereits fortgeschrittenes Stadium geben. Da es länger als andere Parameter nachweisbar ist, eignet es sich zur Verlaufskontrolle. Eine Kombination von LBP und Zytokinen wie Interleukin 6 und 8 erschien Behrendt et al. sinnvoll (8).

CRP, Leukozyten spielen den Ergebnissen der vorliegenden Studie nach zu urteilen eine untergeordnete Rolle in der Diagnostik der Nekrotisierenden Enterokolitis, da sie keine Spezifität für diese Erkrankung aufweisen. LBP könnte sich jedoch aufgrund der Signifikanz gegenüber gesunden Patienten und der verstärkten Expression mit Progression der Erkrankung besonders bei schweren Fällen als Verlaufsparemeter eignen.

Im Rahmen von Infektionskrankheiten zeigt sich eine frühere Zytokinexpression im Vergleich zum Anstieg von CRP, LBP und Leukozyten (26, 63, 112). Sie eignen sich zur Sepsisdiagnostik bei Früh- und Neugeborenen. Einige Zytokine wurden bereits bei Patienten mit einer Nekrotisierenden Enterokolitis untersucht und in Zusammenhang mit Pathogenese, Verlauf und Schweregrad gebracht (118, 156). Von besonderem Interesse waren bisher Interleukin 1 $\beta$ , Interleukin 6, Interleukin 8 und TNF- $\alpha$ .

In dieser Studie sollte das untersuchte Zytokinspektrum ausgeweitet werden, um ein mögliches spezifisches Expressionsmuster im Serum von Patienten mit Nekrotisierender Enterokolitis erkennen zu können. Bis auf Interleukin 12 waren alle Zytokine bei den NEC-Patienten signifikant gegenüber der gesunden Kontrollgruppe erhöht.

Viscardi et al. konnten erhöhte IL-1 $\beta$ -Werte in Darmgewebe von betroffenen Kindern nachweisen (172). In der Studie von Edelson et al. ließ sich in 40% der NEC-Fälle kein Interleukin 1 $\beta$  im Serum messen (43). Sheldon et al. konnten keinen Unterschied von IL-1  $\beta$  zwischen Patienten mit oder ohne Infektion vermerken (158). Auch in der vorliegenden Arbeit erwies sich Interleukin 1 $\beta$  als ungeeigneter Parameter in der Diagnostik der NEC.

Interleukin 6 konnte in vorhergehenden Studien in Zusammenhang mit der NEC und deren Schweregrad gebracht werden (76). Sharma et al. wie auch vorangehende Studien fanden signifikant erhöhte Werte bei Patienten mit Stadium III sowie bei Patienten, welche im Rahmen einer Progression verstarben (118, 156). Dementsprechend fiel auch das Ergebnis dieser Studie aus. Interleukin 6 war wiederum mit einem mittleren Wert von 2418,53 pg/ml (Interquartilsabstand: 1183,95-71306,58 pg/ml) bei den operativen Patienten signifikant erhöht ( $p=0,024$ ).

Harris et al. betrachten eine alleinige Bestimmung von Interleukin 6 als nicht sinnvoll, da er signifikante IL-6-Werte nur in Kombination mit positiven Blutkulturen nachweisen konnte (76). In der vorliegenden Studie erwies sich Interleukin 6 als geeigneter Infektparameter ohne Spezifität für die Nekrotisierende Enterokolitis, der jedoch mit dem Schweregrad der NEC zunehmend verstärkt exprimiert wird.

Das einzige bei NEC-Patienten gegenüber der entzündlichen Kontrollgruppe signifikant erhöhte Zytokin war Interleukin 8 ( $p=0,0017$ ). Es ist ein gängiger Marker bei der neonatalen Sepsis (115). Edelson et al. und Martin et al. stellten in ihren Studien signifikant höhere IL-8-Werte bei fortgeschrittenem NEC-Stadium fest (43, 113). Entgegen dieser Studien konnte in der vorliegenden Studie keine signifikant stärkere IL-8-Expression bei den operativ behandelten NEC-Patienten beobachtet werden.

Friedland korrelierte erhöhte IL-8-Werte sogar mit einem schlechteren Outcome (55). Da Interleukin 8 wie auch Interleukin 10 langsamer und später steigen als Interleukin 1 $\beta$  und 6, eignen sich IL-8 und -10 besser zum Erkennen einer signifikanten NEC

(43). Da es sich bei den NEC-Patienten um unreife Frühgeborene handelt, könnte den Ergebnissen von Nanthakumar et al. zufolge ein hohes Interleukin 8 durch eine überschießende Zytokinproduktion der Enterozyten im Rahmen einer Endotoxin-Exposition zugrunde liegen (122).

Interleukin 10, ein in der Literatur als sehr sensitiver und spezifischer beschriebener Marker für eine Nekrotisierende Enterokolitis im Gewebe (43), war in dieser Studie im Rahmen einer Infektion (HWI / NEC) erhöht, zeigte aber keine Möglichkeit zur Differenzierung der Infektursache auf. Lediglich prozentual betrachtet wurde IL-10 bei operativ behandelten Patienten häufiger exprimiert als bei konservativ behandelten. Ramagnoli konnte Interleukin 10 mit Stadium III und einer erhöhten Mortalität korrelieren (141). Interleukin 10 wirkt antiinflammatorisch und senkt die NO-Produktion (96).

Während Halpern et al. einen Zusammenhang zwischen den Fortschreiten der Erkrankung und der Expression von Interleukin 12 im Gewebe von kranken Mäusen fanden (97), konnte in der vorliegenden Studie im Blut erkrankter Patienten keine Überexpression von IL-12 gefunden werden. Interleukin 12 konnte widererwartend keine diagnostische Bedeutung zugeschrieben werden. Ursache hierfür könnten die Unterschiede zwischen murinem und humanem Immunsystem sein.

Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interferon- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) und Granulozyten-Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor (GM-CSF) wurden sowohl bei den NEC- als auch bei den HWI-Patienten signifikant höher exprimiert als in der gesunden Kontrollgruppe. TNF- $\alpha$  und INF- $\gamma$  korrelierten mit der Ausprägung der Erkrankung. TNF- $\alpha$  wurde in der vorliegenden Studie jedoch nicht bei allen NEC-Patienten exprimiert. Dies entspricht den bisher veröffentlichten Studien: Erhöhte Werte an TNF- $\alpha$  wurden zum einen in der Studie von Ford et al. (53) bei nur 50 % der NEC-Patienten gefunden, korrelierten bei Halpern jedoch mit der Progression der NEC (71). Dementsprechende Zusammenhänge wurden für TNF- $\alpha$  bei der Colitis Ulcerosa beobachtet (127). TNF- $\alpha$  wird in Anbetracht der Tatsache, dass Anti-TNF- $\alpha$  protektiv wirkt (70, 155) eine Rolle bei der Nekrotisierenden Enterokolitis zugeschrieben. Die Bedeutung für die laborchemische Diagnostik scheint eingeschränkt (149).



INF- $\gamma$  wird im Rahmen einer physiologischen Entzündung in geringem Maße produziert (40). Hohe Werte führen zu einer unkontrollierten Entzündungsreaktion und wurden in Zusammenhang mit entzündlichen Darmerkrankungen beobachtet (14). Ein Mangel an Interleukin 10, welches die Gap-junctions in der Darmmukosa schützt, führt durch vermehrte Bakterieninvasion zur Schädigung derselben (101, 102, 104). INF- $\gamma$  wurde bei NEC-Patienten häufiger (~81%) gemessen als TNF- $\alpha$  (~69%). Bei der vorliegenden Studie scheint somit eher der erstgenannte Mechanismus mit Überexpression von Interleukin 10 vorzuliegen.

GM-CSF induziert die Sekretion von Zytokinen und rekrutiert Leukozyten bei einer Entzündung (74). Es wurde als sensitiver Parameter einer Bakteriämie und der neonatalen Infektion beschrieben (91). In der vorliegenden Studie konnte GM-CSF im Blut von gesunden Kindern wie erwartet nicht nachgewiesen werden. Ein Unterschied zwischen NEC- und HWI-Patienten wurde jedoch nicht festgestellt. Außerdem konnte GM-CSF nur bei einem Viertel der NEC-Patienten gemessen werden. Diagnostisch ist GM-CSF daher keine große Bedeutung zuzuschreiben.

### **4.3 Schlussfolgerung der Diskussion**

Ziel dieser Studie war eine für die NEC-spezifische Zytokinexpression im Serum von betroffenen Kindern zu ermitteln, um die NEC frühzeitig diagnostizieren zu können und in Hinblick auf die Progression der Erkrankung Hinweise für eine adäquate Therapieentscheidung zu erhalten.

NEC-Patienten unterschieden sich in Geburtsgewicht, Gestationsalter, Entbindungsmodus, sowie Größe und Gewicht bei Aufnahme in die Studie signifikant von den beiden Kontrollgruppen. Diese Ergebnisse stimmten mit früheren Studien überein.

Diagnostik mittels Abdomenübersichtsaufnahme und/oder Abdomensonographie waren bezüglich Therapieentscheidung unzureichend aussagekräftig.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Laborparameter wie CRP, Leukozytenzahl und LBP zwar eine Entzündung bei den untersuchten Neugeborenen anzeigten, jedoch keine direkte Korrelation zur Nekrotisierenden Enterokolitis zu finden war.

LBP könnte sich möglicherweise als Verlaufsparemeter bei besonders schweren Fällen eignen.

Bis auf Interleukin 12 zeigten alle Zytokine eine tendenziell stärkere Expression mit Progression der Erkrankung. Patienten, die operiert werden mussten, zeigten signifikante Erhöhungen von Interleukin 4 und 6 sowie Interferon  $\gamma$  und Tumornekrosefaktor  $\alpha$ .

Interleukin 8 erwies sich als einziger spezifischer, signifikant erhöhter Laborparameter. Daraus schliessen wir in Hinsicht auf vorangegangene Studien, dass besonders Interleukin 8 eine diagnostische Bedeutung bei der Nekrotisierenden Enterokolitis zukommt (35, 122). Aufgrund der zunehmenden Expression von Interleukin 6, Interleukin 10 und TNF- $\alpha$  von könnten durch die Kombination aus diesen Zytokinen diagnostische Lücken geschlossen werden.

Aufgrund der kleinen Fallzahlen konnten keine für die Praxis relevanten Erkenntnisse gewonnen werden. Es wurden lediglich Hinweise auf eine ausgeprägte Zytokinexpression bei Patienten mit NEC gefunden.

Eine Kombinationsdiagnostik aus klinischen, radiologischen und laborchemischen Zeichen der Nekrotisierenden Enterokolitis erschien bisher am sinnvollsten. Bei der laborchemischen Untersuchung könnte sich eine Kombination aus mehreren Laborparametern wie zum Beispiel LBP, Interleukin 6, Interleukin 8, Interleukin 10 und TNF- $\alpha$  als hilfreich erweisen.

Das breite Spektrum an Zytokinen sollte in einer größer angelegten Studie erneut auf spezifische Hinweise für die Entstehung einer Nekrotisierenden Enterokolitis untersucht werden. Es wäre möglich, dass spezielle Grenzwerte für die verschiedenen Laborparameter ermittelt und in Zusammenhang mit den drei verschiedenen NEC-Stadien gebracht werden könnten. Damit würden die Diagnostik und die Entscheidung für den adäquaten Therapieweg erleichtert werden.

## 5. Zusammenfassung

Die Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) ist eine lebensbedrohliche Erkrankung des Gastrointestinaltrakts bei Neugeborenen. Mit Progression der Erkrankung steigen Mortalität und Morbidität drastisch an. Die auf klinischen, laborchemischen und radiologischen Zeichen basierende Diagnostik der Nekrotisierenden Enterokolitis bleibt jedoch bisher unbefriedigend. Da bereits in zahlreichen Studien eine Korrelation mehrerer pro- und antiinflammatorische Zytokine im Gewebe mit der Pathogenese der NEC beschrieben wurde, ist die Zytokinexpression im Rahmen der Erkrankung von großem Interesse.

Ziel dieser Studie war es aus diesem Grund, eine für die NEC spezifische Zytokinexpression im Serum betroffener Kindern zu ermitteln. Dies würde eine frühere und risikoadaptiertere Behandlung für die betroffenen Patienten ermöglichen.

NEC-Patienten wiesen ein signifikant niedrigeres Gestationsalter (32 SSW  $\pm$  4), Geburtsgewicht (1708g  $\pm$  675), Studiengewicht (1922g  $\pm$  643) sowie eine niedrigere Studiengröße (43,5 cm  $\pm$  5) auf als Patienten der Vergleichsgruppen. Nahezu alle NEC-Patienten wurden per Sectio cesarea geboren.

Interleukin 8 war das einzige bei NEC-Patienten spezifisch erhöhte Zytokin. Dies entspricht ungefähr einer 12-fach höheren Expression als bei Patienten der entzündlichen Kontrollgruppe (HWI-Patienten). Interleukin 4, Interleukin 6 ( $p=0,024$ ), IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  wurden bei den operativen Patienten signifikant stärker exprimiert als bei den konservativ behandelten und scheinen somit mit dem Schweregrad der NEC zu korrelieren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Laborparameter wie CRP, Leukozytenzahl/ $\mu$ l und LBP zwar eine Entzündung bei Neugeborenen anzeigen, jedoch keinen spezifischen Hinweis für eine Nekrotisierende Enterokolitis bieten. Jedoch könnte sich das LBP als Parameter im Rahmen von Verlaufskontrollen eignen.

Nahezu alle pro- und antiinflammatorische Zytokine wurden bei der Nekrotisierenden Enterokolitis mit zunehmender Progression stärker exprimiert als bei gesunden Neugeborenen. Interleukin 8 scheint ein geeigneter Akutparameter bei der Labordiagnos-

tik der Nekrotisierenden Enterokolitis zu sein. Sinnvoll erscheint hierbei eine Kombination mit Interleukin 6, Interferon  $\gamma$  und Tumornekrosefaktor  $\alpha$ , da diese mit Voranschreiten der Erkrankung verstärkt exprimiert werden.

Trotz verschiedener Hinweise auf möglicherweise geeignete Parameter konnte in dieser Studie kein speziell für die NEC spezifisches Zytokinexpressionsmuster gefunden werden. Weitere größer angelegte Studien könnten Aufschluss über kritische Grenzwerte der Interleukine oder andere spezifische Laborparameter geben.

## 6. Literaturverzeichnis

- 1 Anand RJ, Leaphardt CL, Mollen KP, Hackam DJ (2007): The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Shock.*, 27(2): 124-133.
- 2 Ballance WA, Dahms BB, Shenker N, Kliegman RM (1990): Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: A ten-year experience. *J Pediatr* 117(1): S6-S13.
- 3 Barlow B, Santulli TV, Heird WC, Pitt J, Blanc W, Schullinger JN (1974): An experimental study of acute necrotizing enterocolitis – the importance of breast milk. *J Pediatr Surg* 9 (5): 587-595.
- 4 Barksdale EM, Stanford A (2002): The surgical management of short-bowel-syndrome. *Curr Gastroenterol Rep* 4(3): 229-237.
- 5 Baud V, Karin M (2001): Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol* 11: 372-377.
- 6 Bauer C , 2001, Blut: ein flüssiges Organsystem. In: Klinke R, Silbernagel S (Hrsg.): *Lehrbuch der Physiologie*, Thieme, Stuttgart, 189-216.
- 7 Beeby PJ, Jeffery H (1992): Risk factors for necrotising enterocolitis: the influence of gestational age. *Arch Dis Child* 67: 432-435.
- 8 Behrendt D, Dembinski J, Heep A, Bartmann P (2004): Lipopolysaccharide binding protein in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 89(6): F551-F554.
- 9 Bell MJ, Shackelford P, Feigin RD, Terberg JL, Brotherton T (1979): Epidemiologic and bacteriologic evaluation of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatric Surg* 14(1):1-4.
- 10 Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Kreating JP Marshall R, Barton L, Brotherton T (1978): Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg* 187 (1): 1-7.
- 11 Bender R (2002): Wichtige Signifikanztests. *Dtsch Med Wochenschr* 127: T1-T3.
- 12 Berner R, Fürll B, Stelter F, Dröse J, Müller HP, Schütt C (2002): Elevated levels of lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in plasma in neonatal early-onset sepsis. *Clin Diagn Lab Immunol* 9(2): 440-445.
- 13 Berner R, Niemeyer CM, Letitis JU, Funke A, Schwab C, Rau U, Richter K, Tawfeek MS, Clad A, Brandis M(1998): Plasma levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor-[alpha], interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, and soluble Intercellular adhesion molecule-1 in neonatal early onset sepsis. *Pediatr Res* 44(4): 469-477.
- 14 Bisping G, Lügering N, Lütke-Brintrup S, Pauels HG, Schürmann G, Domschke W, Kucharzik T (2001): Patients with inflammatory bowel disease (IBD) reveal increased induction capacity of intracellular interferon-gamma (IFN-gamma) in periph-

eral CD8+ lymphocytes cultured with intestinal epithelial cells. *Clin Exp Immunol* 123(1): 15-22.

15 Blakely ML, Lally KP, McDonald S, Brown RL, Barnhart DC, Ricketts RR, Thompson WR, Scherer LR, Klein MD, Letton RW, Chwals WJ, Touloukian RJ, Kurkchubasche AG, Skinner MA, Moss RL, Hilfiker ML (2005): Postoperative outcomes of extremely low birth-weight infants with necrotizing enterocolitis or isolated intestinal perforation: a prospective cohort study by the NICHD Neonatal Research Network. *Ann Surg* 241 (6): 984–989.

16 Blakely ML, Tyson JE, Lally KP, McDonald S, Stoll BJ, Stevenson DK, Poole WK, Jobe AH, Wright LL, Higgins RD; NICHD Neonatal Research Network (2006): Laparotomy versus peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis or isolated intestinal perforation in extremely low birth weight infants: outcomes through 18 months adjusted age. *Pediatrics*. 117(4): 680-687.

17 Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC (1997): Cellular responses to interferon- $\gamma$ . *Annu Rev Immunol* 15: 749-795.

18 Bolisetty S, Lui K, Oei J, Wojtulewicz J (2000): A regional study of underlying congenital diseases in term neonates with necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr* 89(10): 1226-12230.

19 Boujoukos AJ, Martich GD, Supinski E, Suffredini AF (1993): Compartmentalization of the acute cytokine response in humans after intravenous endotoxin administration. *J Appl Physiol* 74(6):3027-3033.

20 Burgess AW, Metcalf D (1980): The nature and action of granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Blood* 56: 947-958.

21 Cañellas CB, Irastorza CM, Olivé T, Montero AM, Burrieza GG, Gaethe JA, Rocal JL, Martínez-Ibáñez (2008): Conservative Treatment of pneumatosis intestinales and pneumoperitoneum after bone marrow transplantation. *Cir Paediatr* 21(4): 219-222.

22 Caplan MS, Hedlund E, Adler L, Hsueh W (1994): Role of asphyxia and feeding in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis. *Pediatric Pathology* 14(6): 1017-1028.

23 Caplan MS, Jilling T, (2001): New concepts in necrotising enterocolitis. *Pediatr* 13: 111-115.

24 Caplan MS, Sun XM Hsueh W, Hageman JR (1990): Role of platelet activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis. *J Paediatr* 116(6): 960-964.

25 Carter BM, Holditch-Davis D (2008): Risk factors for necrotizing enterocolitis in preterm infants: how race, gender and health status contribute. *Adv Neonatal Care* 8 (5):285-290.

- 26 Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R, Fabra R, Heinrich PC (1989): Interleukin 6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett* 242(2): 237-9.
- 27 Chauhan M, Henderson G, McGuire W (2008): Enteral feeding for very low birth weight infants: reducing the risk of necrotizing enterocolitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 93: F162-166.
- 28 Cheu HW, Sukarochana K, Lloyd DA (1988): Peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 23(6): 557-561.
- 29 Chung DH, Ethridge RT, Sunghoon K, Owens-Stovall, S, Hernandez A, Kelly DR, Evers BM. (2001): Molecular Mechanisms Contributing to Necrotizing Enterocolitis. *Ann Surg* 233(6):835-842.
- 30 Chwals WJ, Blakely ML, Cheng A, Neville HL, Jaksic T, Cox CS Jr, Lally KP (2001): Surgery-associated complications in necrotizing enterocolitis: A multiinstitutional study. *J Pediatr Surg* 36(11):1722-1724.
- 31 Clark JA, Doelle SM, Halpern MD, Saunders TA, Holubec H, Dvorak K, Boitano SA, Dvorak B (2006): Intestinal barrier failure during experimental necrotizing enterocolitis: protective effect of EGF treatment. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291(5):G938-949.
- 32 Coit AK, 1999): Necrotizing Enterocolitis. *J Perinat Neonat Nurs* 12(4): 53-66.
- 33 Dagan R, Ben-Yakov O, Moses SW, Bar-Ziv J (1984): Necrotizing enterocolitis beyond the neonatal period. *Eur J Pediatr* 142: 56-58.
- 34 De Jager W, te Velthuis H, Prakken BJ, Kuis W. Rijkers GT (2003): Simultaneous detection of 15 human cytokines in a single sample of stimulated peripheral blood mononuclear cells. *Clin Diagn Lab Immunol* 10(1):133-139.
- 35 Dembowski J, Behrendt D, Heep A, Dorn C, Reinsberg J, Bartmann P (2002): Cell-associated interleukin-8 in cord blood of term and preterm infants. *Clin Diagn Lab Immunol* 9(2):320-303.
- 36 De Vries EGE, Biesma B, Willemse PHB, Mulder NH, Stern AC, Aalders JG, Vellenga E (1991): A double-blind placebo-controlled study with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor during chemotherapy for ovarian carcinoma. *Cancer Research* 51: 116-122.
- 37 De Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Fogdor CG, de Vries JE (1991): Interleukin-10 (Il-10) inhibites cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of Il-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 174: 1209-1220.
- 38 Dinarello CA (2000): Proinflammatory cytokines. *Chest* 118: 503-508.
- 39 Dördelmann M, Rau G, Bartels D, Linke M, Derichs N, Behrens C, Bohnhorst B (2008): Evaluation of portal venous gas detected by ultrasound examination for diagnosis of NEC. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, published online 11 Sep 2008; doi:10.1136/adc.2007.132019: 1-15.

- 40 Dotan I, Allez M, Nakazawa A, Brimnes J, Schulder-Katz M, Mayer L (2007): Intestinal epithelial cells from inflammatory bowel disease patients preferentially stimulate CD4+ T cells to proliferate and secrete interferon-gamma. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292(6): G1630-1640.
- 41 Duffy LC, Zielzezny MA, Carrion V, Griffith E, Dryja D, Hilty M, Cummings J, Morin F (2001): Bacterial toxins and enteral feeding of premature infants at risk for necrotizing enterocolitis. *Adv Exp Med Biol* 501: 519-527.
- 42 Dvorak B, Halpern MD, Holubec H, Dvorakova K, Dominguez JA, Williams CS, Meza YG, Kozakova H, McCuskey RS (2003): Maternal Milk reduces Severity of necrotizing enterocolitis and increases intestinal IL-10 in a neonatal rat model. *Pediatr Res* 53: 426-433.
- 43 Edelson MB, Bagwell CE, Rozycki HJ (1999): Circulation of pro- and counterregulatory cytokine levels and severity in Necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 103: 766-770.
- 44 Ehl S, Gehring B, Pohlandt F (1999): A detailed analysis of changes in serum C-reactive protein levels in neonates treated for bacterial infection. *Eur J Pediatr* 158: 238-242.
- 45 Eibl M, Wolf H, Furnkranz H, Rosenkranz A (1988): Prevention of necrotizing enterocolitis in low birth weight infants by IgA-IgG feeding. *New Engl J Med* 319: 1-7.
- 46 Ein SH, Marshall DG, Girvan D (1977): Peritoneal drainage under local anesthesia for perforations from necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 12(6):963-967.
- 47 Ellison VJ, Mocatta TJ, Winterbourn CC, Darlow BA, Volpe JJ, Inder TE (2005): The relationship of CSF and plasma cytokine levels to cerebral white matter injury in the premature newborn. *Pediatr Res* 57(2): 282-286.
- 48 Epelman M, Daneman A, Navarro OM, Morag I, Moore AM, Kim JH, Faingold R, Taylor G, Gerstle T (2007): Necrotizing enterocolitis: Review of State-of-the art imaging findings with pathologic correlation. *RadioGraphics* 27: 285-305.
- 49 Faingold R, Daneman A, Tomlinson G, Babyn PS, Manson DE, Mohanta A, Moore A, Hellmann J, Smith C, Gerstle T, Kim JH (2005): Necrotizing enterocolitis: assessment of Bowel viability with color doppler us. *Radiology* 235: 587-594.
- 50 Fast C, Rosegger H.(1994): Necrotizing enterocolitis prophylaxis: oral antibiotics and lyophilized enterobacteria vs oral immunoglobulins. *Acta Paediatr Suppl* 396: 86-90.
- 51 Fleetwood AJ, Lawrence T, Hamilton JA, Cook AD (2007): Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF) and macrophage CSF-dependent macrophage phenotypes display differences in cytokine profiles and transcription factor activities: implications for CSF Blockade in inflammation.
- 52 Ford HR (2006): Mechanism of nitric oxide-mediated intestinal barrier failure: insight into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 41(2): 294-299.



- 53 Ford H, Watkins S, Reblock K, Rowe M (1997): The role of inflammatory cytokines and nitric oxide in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 32 (2): 275-282.
- 54 Frey EE, Smith W, Franken EA, Wintermeyer KA (1987): Analysis of bowel perforation in necrotizing enterocolitis. *Pediatr Radiol* 17(5): 380-382.
- 55 Friedland JS, Porter JC, Daryanani S, Bland JM, Screatton NJ, Vesely MJ, Griffin GE, Bennett ED, Remick DG (1996): Plasma proinflammatory cytokine concentrations, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) III scores and survival in patients in an intensive care unit. *Crit Care Med* 24(11): 1775 - 1781.
- 56 Gibbs K, Lin J, Holzman IR (2007): Necrotizing enterocolitis: The state of the science. *Indian J Pediatr* 74(1): 67-72.
- 57 Gonzalez-Crussi F, Hsueh W (1983): Experimental model of ischemic bowel necrosis. The role of platelet-activating factor and endotoxin. *Am J Pathol* 112(1): 127-135.
- 58 Goulet O, Ruemmele F (2006): Causes and management of intestinal failure in children. *Gastroenterology* 130(2 Suppl1): S16-S28.
- 59 Goulet O, Sauvat F (2006): Short bowel syndrome and intestinal transplantation in children. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 9(3): 304-313.
- 60 Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P (1999): Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after caesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 28: 19-25.
- 61 Grosfeld JL, Chaet M, Molinari F, Engle W, Engum SA, West KW, Rescorla FJ, Scherer RL (1996): Increased Risk of Necrotizing enterocolitis in premature infants with patent ductus arteriosus treated with indomethacin. *Annals of Surgery* 224(3): 350-357.
- 62 Grosfeld JL, Cheu H, Schlatter M, West KW, Rescorla, FJ (1991): Changing trends in necrotizing enterocolitis. *Ann Surg* 214 (3): 300-306.
- 63 Grube BJ, Cochane CG, Ye RD, Green CE, McPhail ME, Ulevitch RJ, Tobias PS (1994): Lipopolysaccharide binding protein expression in primary human hepatocytes and HepG2 hepatoma cells. *269(11): 8477-8482.*
- 64 Guner YS, Chokshi N, Petrosyan M, Uppermann JS, Ford HR, Grikscheit TC (2008): Necrotizing enterocolitis – bench to bedside: novel and emerging strategies. *Semin Pediatr. Surg* 17: 55-265.
- 65 Haberlik A, Höllwarth ME, Windhager U, Schober PH (1994): Problems of ileostomy in necrotizing enterocolitis. *Acta Pediatr Suppl* 396: 74-76.
- 66 Hackett GA, Campbell S, Gamsu H, Cohen-Overbeek T, Pearce JM (1987): Doppler studies in the growth retarded fetus and prediction of neonatal necro-

tising enterocolitis, haemorrhage, and neonatal morbidity. *Br Med J (Clin Res Ed)* 294(6563): 13-16.

67 Hall NJ, Curry J, Drake DP, Spitz L, Kiely EM, Pierro A (2005): Resection and Primary Anastomosis Is a Valid Surgical Option for Infants With Necrotizing Enterocolitis Who Weigh Less Than 1000 g. *Arch Surg* 140: 1149-1151.

68 Hällström M, Eerola E, Vuento R, Janas M (2004): Effects of mode of delivery and necrotizing enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23: 463-470.

69 Hällström M, Koivisto AM, Janas M, Tammela O (2006): Laboratory parameters predictive of developing necrotizing enterocolitis in infants born before 33 weeks of gestation. *J Pediatr Surg* 41(4): 792-798.

70 Halpern MD, Clark JA, Saunders TA, Doelle SM, Hosseini DM, Stagner AM, Dvorak B (2006): Reduction of experimental necrotizing enterocolitis with anti-TNF-alpha. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290 (4): G 757-764.

71 Halpern MD, Holubec H, Dominguez JA, Meza YG, Williams CS, Ruth MC, McCuskey RS, Dvorak B (2003): Hepatic inflammatory mediators contribute to intestinal damage in necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284(4): G 695-702.

72 Halpern MD, Holubec H, Dominguez JA, Williams CS, Meza YG, McWilliam DL, Payne CM, McCuskey RS, Besselsen DG, Dvorak B (2002): Up-regulation of Il-18 and Il-12 in the ileum of neonatal rats with necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res* 51(6): 733-739.

73 Halpern MD, Khailova L, Molla Hosseini D, Arganbright KM, Reynolds CA, Yajima M, Hoshiba J, Dvorak B (2007): Decreased Development of Necrotizing Enterocolitis in IL-18 Deficient Mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 294: G20-G26.

74 Hamilton JA (1993): Colony stimulating factors, cytokines and monocyte-macrophages – some controversies. *Immunol Today* 14: 18-24.

75 Hamilton JA (2002): GM-CSF in inflammation and autoimmunity. *Trends in Immunology* 23(8): 403-408.

76 Harris MC, Costarino AT, Sullivan JS, Dulkerian S, McCawel L, Corcoran L, Butler S, Kilpatrick L (1994): Cytokine elevations in critically ill infants with sepsis and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 124: 105-111.

77 Henry MCW , Moss RL (2008): Neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 17: 98-109.

78 Holman RC, Stoll BJ, Clarke MJ, Glass RI (1997): The epidemiology of necrotizing enterocolitis infant mortality in the united states. *Am J Public Health* 87(12): 2026-2031.

- 79 Horn M, Vollandt R (1995): Multiple Tests und Auswahlverfahren: Das Prinzip des Abschlusstests. Fischer Verlag, Stuttgart: 19-22.
- 80 Horwitz JR, Lally KP, Cheu HW, Vazquez WD, Grosfeld JL, Ziegler MM (1995): Complications after surgical intervention for necrotizing enterocolitis: a multicenter review. *J Pediatr Surg* 30(7): 994-998.
- 81 Hsueh W, Caplan MS, Tan X, MacKendrick W, Gonzales-Crussi F (1998): Necrotizing enterocolitis of the newborn: Pathogenetic concepts in perspective. *Pediatr Dev Pathol* 1: 2-16.
- 82 Hsueh W, Caplan MS, Qu XW, Tan XD, De Plean IG, Gonzalez-Crussi F (2002): Neonatal Necrotizing enterocolitis: Clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatr Dev Pathol* 6: 6-23.
- 83 Imöhl M (2005): Proteine, Metaboliten – CRP (C - reaktives Protein). In: Labormedizin pocket, 2. Auflage, Börm Bruckmeier Verlag, Grünwald, 57.
- 84 Jansen JH, Fibbe WE, Willemze R, Kluin-nelemans JC (1990): Interleukin-4: a regulatory protein. *Blut* 60(5): 269-274.
- 85 Jansen JH, Wientjens GHM, Fibbe WE, Willemze R, Kluin-Nelemans HC (1989): Inhibition of human macrophage colony formation by interleukin 4. *J Exp Med* 170: 577-582.
- 86 Jurgens ES, Henderson DC (1996): Inflammatory and immunological markers in preterm infants: correlation with disease. *Clin Exp Immunol* 105: 551-555.
- 87 Kanto WP, Hunter JE, Stoll BJ (1994): Recognition and medical management of necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 21: 335-345.
- 88 Karow T , Lang-Roth R, 2006, Arzneimittel in der Dermatologie. In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 960.
- 89 Kashiwamura S, Ueda H, Okamura H (2002): Roles of interleukin-18 in tissue destruction and compensatory reactions. *J Immunother* 25 Suppl 1: S4-11.
- 90 Kato T, Mittal N, Nishida S, Levi D, Yamashiki N, Miller B, Gonzalez M, Ruiz P, Madariaga J, Nery J, Gelman B, Thompson J, Gyamfi A, Tzakis A (2003): The role of intestinal transplantation in the management of babies with extensive gut resection. *Pediatr Surg* 38(2): 145-149.
- 91 Kennon C, Overturf G, Bessman S, Sierra E, Smith KJ, Bran B (1996): Granulocyte colony-stimulating factor as a marker for bacterial infection in neonates. *J Pediatr* 128: 765-769.
- 92 Kliegman RM (1979): Necrotizing enterocolitis: implications for an infectious disease. *Pediatr Clin North Am* 26: 327-344.
- 93 Kliegman RM (1990): Models of the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 117(1): S2-S4.

- 94 Kliegman RM, Fanaroff AA (1981): Neonatal necrotizing enterocolitis: a nine-year experience. *Am J Dis Child* 135(7): 603-607.
- 95 Kliegman RM, Pittard WB, Fanaroff AA (1979): Necrotizing enterocolitis in neonates fed human milk. *J Pediatr* 95 (3): 450-453.
- 96 Kling KM, Kirby L, Kwan KY, Kim F, McFadden DW (1999): Interleukin-10 inhibits inducible nitric oxide synthase in an animal model of necrotizing enterocolitis. *Int J Surg Investig* 1(4): 337-342.
- 97 Koloske AM (1994): Epidemiology of necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr suppl* 396: 2-7.
- 98 Koloske AM, Ball WS, Umland E, Skipper B (1985): Clostridial necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 50: 155-159.
- 99 Koloske AM, Papile LA, Burstein J (1980): Indications for operation in acute necrotizing enterocolitis of the neonate. *Surgery* 87 (5): 502-508.
- 100 Krediet TG, van Lelyveld N, Vijlbrief DC, Brouwers HA, Kramer WL, Fleer A, Gerards LJ (2003): Microbiological factors associated with neonatal necrotizing enterocolitis: protective effect of early antibiotic treatment. *Acta Paediatr* 92(10):1180-1182.
- 101 Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W (1993): Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 75(2): 263-274.
- 102 Lane JS, Todd KE, Lewis MP, Gloor B, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW, Chandler CF (1997): Interleukin-10 reduces the systemic inflammatory response in a murine model of intestinal ischemia/reperfusion. *Surgery* 122(2): 288-294.
- 103 Larsen CG, Anderson AO, Oppenheim JJ, Matsushima K (1989): Production of interleukin-8 by human dermal fibroblasts and keratinocytes in response to interleukin-1 or tumour necrosis factor. *Immunology* 68(1): 31-36.
- 104 Leaphart CL, Qureshi F, Cetin S, Li, J, Dubowski T, Baty C, Beer-Stolz D, Guo F, Murray SA, Hackam DJ (2007): Interferon-gamma inhibits intestinal restitution by preventing gap junction communication between enterocytes. *Gastroenterology* 132(7): 2395-2411.
- 105 Lemons JA, Bauer CR, Oh W, Korones SB, Papile LA, Stoll BJ, Verter J, Temprowa M, Wright LL, Ehrenkranz RA, Fanaroff AA, Stark A, Tyson JE, Donovan EF, Shankaran S, Stevenson DK (2001): Very low birth weight outcomes of the national Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, January 1995 through December 1996. *Pediatrics* 107: 1.
- 106 Lopez SL (1995): Time of onset of necrotizing enterocolitis in newborn infants with known prenatal cocaine exposure. *Clinical Pediatrics* 34(8): 424-429.
- 107 Lucas A, Cole TC (1990): Breast milk and neonatal necrotizing enterocolitis. *Lancet* 336: 1519-1523.

- 108 Lugo B, Ford HR, Grishin A (2007): Molecular signalling in necrotizing enterocolitis: regulation of intestinal COX-2 expression. *J Pediatr Surg* 42(7): 1165-1171.
- 109 Maayan-Metzger A, Itzchak A, Mazkereth R, Kuint J (2004): Necrotizing enterocolitis in full-term infants: case-control study and review of the literature. *J Perinatol* 24(8): 494-499.
- 110 Manogura AC, Turan O, Kush ML, Berg C, Bhide A, Turan S, Moyano D, Bower S, Nicolaides KH, Galan HL, Müller T, Thilaganathan B, Gembruch U, Harman CR, Baschat AA (2008): Predictors of necrotizing enterocolitis in preterm growth-restricted neonates. *Am J Obstet Gynecol* 198(6):638.e1-5.
- 111 Markel TA, Crisostomo PR, Wairiuko GM, Pitcher J, Tsai BM, Meldrum DR (2006): Cytokines in necrotizing enterokolitis. *Shock* 25(4): 329-337.
- 112 Martich GD, Danner RL, Ceska M, Suffredini AF (1991): Detection of interleukin 8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of antiinflammatory agents. *J Exp Med* 173(4):1021-1024.
- 113 Martin CR, Walker WA (2006): Intestinal immune defences and the inflammatory response in necrotising enterocolitis. *Semin Fetal Neonatal Med* 11(5): 369-377.
- 114 McElhinney DB, Hedrick HL, Bush DM, Pereira GR, Stafford PW, Gaynor JW, Spray TL, Wernovsky G (2000): Necrotizing Enterocolitis in Neonates With Congenital Heart Disease: Risk Factors and Outcomes. *Pediatrics* 106: 1080-1087.
- 115 Mehr SS, Doyle LW, Rice GE, Vervaart P, Henschke P (2001): Interleukin-6 and interleukin-8 in newborn bacterial infection. *Am J Perinatol* 18(6): 313-324.
- 116 Melgar S, Yeung MM, Bas A, Forsberg G, Suhr O, Oberg A, Hammarstrom S, Danielsson A, Hammarstrom ML (2003): Overexpression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* 134 (1): 127-137.
- 117 Michalk D, 2007, Erkrankungen des Urogenitalsystems. In: Sitzmann FC (Hrsg.): *Duale Reihe - Pädiatrie*, Thieme, Stuttgart, 420-422.
- 118 Morecroft JA, Spitz L, Hamilton PA, Holmes SJ (1994): Plasma Interleukin-6 and tumor necrosis factor levels as predictors of disease and severity and outcome in necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 29: 798-800.
- 119 Moss RL, Dimmitt RA, Barnhart DC, Sylvester KG, Brown RL, Powell DM, Islam S, Langer JC, Sato TT, Brandt LL, Lee H, Blakely ML, Lazar EL, Hirschl RB, Kenney BD, Hackam DJ, Zelterman D, Silverman BL (2006): Laparotomy versus peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med* 354: 2225-2234.
- 120 Musemeche CA Reynolds M (1991): Necrotizing enterocolitis following intrauterine blood transfusion. *J Pediatr Surg* 26 (12): 1411-1412.
- 121 Nadler EP, Dickinson E, Kinsley A, Zhang XR, Boyle P, Beer-Stolz B, Wathkins SC, Ford HR (2000): Expression of inducible nitric oxide synthase and interleukin-12 in experimental necrotizing enterocolitis. *J Surg Research* 92(1): 71-77.

- 122 Nanthakumar NN, Fusunyan RD, Sanderson I, Walker WA (2000): Inflammation in the developing human intestine: A possible pathophysiologic contribution to necrotizing enterocolitis. *PNAS*. 97 (11): 6043-6048.
- 123 Neu J, Chen M, Beierle E (2005): Intestinal initiate immunity: how does it relate to the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 14: 137-144.
- 124 NN (2001): LBP – Differentialdiagnose der bakteriellen Sepsis. *DPC-Biermann N&V Intensive Care* 2: 1-4.
- 125 Nowicki PT (2005): Ischemia and necrotizing enterocolitis: where, when, and how. *Semin Pediatr Surg* 14: 152-158.
- 126 Okamura H, Kashiwamura S, Tsutsui H, Yoshimoto T, Nakanishi K (1998): Regulation of Interferon-gamma production by Il-12 and Il-18. *Curr Opin Immunol* 10(3): 259-264.
- 127 Olsen T, Goll R, Cui G, Husebekk A, Vonen B, Birketvedt GS, Florholmen J (2007): Tissue levels of tumor necrosis factor-alpha correlates with grade of inflammation in untreated ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 42(11):1312-1320.
- 128 Opal SM, Scannon PJ, Vincent JL, Golenbock DT, Teti G, Vogel SN, Espevik T (1999): Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J Infect Dis* 180: 1584-1589.
- 129 Orlikowsky TW, Trüg C, Neunhoeffler F, Deperschmidt M, Eichner M, Poets CF (2006): Lipopolysaccharide-binding protein in noninfected neonates and those with suspected early-onset bacterial infection. *J Perinatol* 26: 115–119.
- 130 Parker LA (1995): Necrotizing enterocolitis. *Neonatal Netw* 14 (6): 17-26.
- 131 Petty JK, Ziegler MM (2005): Operative strategies for necrotizing enterocolitis: the prevention and treatment of short-bowel syndrome. *Semin Pediatr Surg* 14(3): 191-198.
- 132 Pierro A, Hall N (2003): Surgical treatments of infants with necrotizing enterocolitis. *Semin Neonatol* 8(3) 223-232.
- 133 Prucha M, Herold I, Zazula R, Dubska L, Dostal M, Hildebrandt T, Hyanek J (2003): Significance of lipopolysaccharide-binding protein (an acute phase protein) in monitoring critically ill patients. *Critical Care* 7: R154-R159.
- 134 Rabinowitz JG, Siegle RL (1976): Changing clinical and roentgenographic patterns of necrotizing enterocolitis. *Am J Roentgenol* 126(3): 250-256.
- 135 Raddatz D, Bockemühl M, Ramadori G. (2005): Quantitative measurement of cytokine mRNA in inflammatory bowel disease: relation to clinical and endoscopic activity and outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 17(5):547-557.
- 136 Ramadori G, Van Damme J, Rieder H, Meyer zum Buschenfelde KH (1988): Interleukin 6, the third mediator of acute phase reaction, modulates hepatic protein

synthesis in human and mouse. Comparison with interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha. *Eur J Immunol* 18(8): 1259-1264.

137 Rees CM, Eaton S., Kiely EM, Wade AM, McHugh K, Pierro A(2008): Peritoneal drainage or laparotomy for neonatal bowel perforation? A randomized controlled trial. *Ann Surg* 248(1): 44-51.

138 Rees CM, Pierro A, Eaton S (2007): Neurodevelopmental outcomes of necrotizing enterocolitis with medical and surgical treated necrotizing enterocolitis. *Arch Dis Fetal Child Neonatal Ed* 92: 193-198.

139 Rescorla FJ (1995): Surgical management of pediatric necrotizing enterocolitis. *Curr Opin Pediatr* 7(3): 335- 341.

140 Ricketts RR (1994): Surgical treatment of the necrotizing enterocolitis and the short bowel syndrome. *Clin Perinatol* 21: 365-387.

141 Romagnoli C, Frezza S, Cingolani A, De Luca A, Puopolo M, De Carolis MP, Vento G, Antinori A, Tortorolo G (2001): Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *Eur J Pediatr* 160: 345-350.

142 Roos R, 2007, Bakterielle Infektionen des Neugeborenen. In: Sitzmann FC (Hrsg.): *Duale Reihe - Pädiatrie*, Thieme, Stuttgart, 119-120.

143 Roos R, 2007, Bakterielle Infektionen des Neugeborenen. In: Sitzmann FC (Hrsg.): *Duale Reihe - Pädiatrie*, Thieme, Stuttgart, 122-123.

144 Rouangtrakool R, Laohapensang M, Sathornkich C, Talalak P (2001): Necrotizing enterocolitis: a comparison between full-term and preterm neonates. *J Med Assoc Thai* 84(3): 323-313.

145 Rowe MI, Reblock KK, Kurkchubasche AG, Haley PJ (1994): Necrotizing Enterocolitis in the extremely low birth weight infants. *J Pediatr Surg* 29(8): 987-991.

146 Santulli TV, Schullinger JN, Heird WD, Gongaware RD, Wigger J, Barlow B, Blanc B, Berdon WE (1975): Acute necrotizing enterocolitis in Infancy: a review of 64 cases. *Pediatrics* 55: 376-387.

147 Scheifele DW, Ginter GL, Olsen E, Fussell S, Pendray M (1987): Comparison of two antibiotic regimens for neonatal necrotizing enteocolitis. *J Antimicrob Chemother* 20: 421-429.

148 Schmitt D (2006): Il-6 und Il-8 in der Neonatologie: Infektions- und Sepsisdiagnostik. *DPC Biermann, N&V Zytokine* 5: 1-8.

149 Schnabl KL, Van Aerde JE, Thomson ABR, Clandinin MT (2008): Necrotizing enterocolitis: A multifactorial disease with no cure. *World J Gastroenterol* 14(14): 2142-2161.

150 Schober PH, Nassiri J (1994): Risk factors and severity indices in necrotizing enterocolitis. *Acta Pediatr Suppl* 396: 49-52.

- 151 Schreiber S, Heinig T, Panzer U, Reinking R, Bouchard A, Stahl PD, Raedler A (1995): Impaired response of activated mononuclear phagocytes to interleukin-4 in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 108: 21-33.
- 152 Schürmann G, Betzler M, Post S, Herfarth C, Meurer S (1992): Soluble interleukin-2 receptor, interleukin-6 and interleukin-1 $\beta$  in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis: preoperative levels and postoperative changes of serum concentrations. *Digestion* 51(1): 51-59.
- 153 Schulzke SM, Desphande GC, Patole SK (2007): Neurodevelopmental outcomes of very low-birth-weight infants with necrotizing enterocolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med* 161: 583-590.
- 154 Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ (1990): Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 249 (4975): 1429-31.
- 155 Seitz G, Warmann SW, Guglielmetti A, Heitmann H, Ruck P, Kreis ME, Fuchs J (2005): Protective effect of tumor necrosis factor alpha antibody on experimental necrotizing enterocolitis in the rat. *J Pediatr Surg*. 40 (9): 1440-1445.
- 156 Sharma R, Tepas JJ, Hudak ML, Mollitt DL, Wludyka PS, Teng RJ, Premachandra BR (2007): Neonatal gut barrier and multiple organ failure: role of endotoxin and proinflammatory cytokines in sepsis and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 42: 454-461.
- 157 Sharma R, Tepas JJ, Hudak ML, Wludyka PS, Mollitt DL, Garrison RD, Bradshaw JA, Sharma M (2005): Portal venous gas and surgical outcome of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 40(2): 371-376.
- 158 Sheldon J, Riches P, Gooding R, Soni N, Hobbs JR (1993): C-Reactive Protein and Its Cytokine Mediators in Intensive-Care Patients. *Clin Chem* 39(1): 147-150.
- 159 Sheldon J, Riches P, Soni N, Jorges E, Gore M, Dadian G, Hobbs JR (1991): Serum neopterin as an adjunct to C-reactive protein in assessment of infection. *Clin Chem* 37: 2038-2040.
- 160 Shin CE, Falcone RA Jr, Stuart L, Erwin CR, Warner BW (2000): Diminished epidermal growth factor levels in infants with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 35(2): 173-176.
- 161 Shine B, Gould J, Campbell C, Hindocha P, Pritcher RW, Wood CBS (1985): Serum C-reactive protein in normal and infected neonates. *Clinica Chimica Acta* 148: 97-103.
- 162 Siggers RH, Thymann T, Jensen BB, Mølbak L, Heegaard PM, Schmidt M, Buddington RK, Sangild PT (2008): Elective cesarean delivery affects gut maturation and delays microbial colonization but does not increase necrotizing enterocolitis in preterm pigs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294(3): R 929-938.



- 163 Singh M, Owen A, Gull S, Morabito A, Bianchi A (2006): Surgery for intestinal perforation in preterm neonates: anastomosis vs stoma. *J Pediatr Surg* 41(4): 725-729.
- 164 Sisk PM, Lovelady CA, Dillard RG, Gruber KJ, O'Shea TM (2007): Early human feeding is associated with a lower risk of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *J Perinatol* 27 (7): 428-433.
- 165 Snyder F (1990): Platelet-activating factor and related acetylated lipids as potent biologically active cellular mediators. *Am J Physiol* 259 (5): C697-708.
- 166 Stoll BJ (1994): Epidemiology of necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 21: 205-218.
- 167 Stoll BJ, Kanto WP, Glass RI, Nahmias AJ, Brann AW (1980): Epidemiology of necrotizing enterocolitis: A case control study. *J Pediatr* 96 (3):447-451.
- 168 Telsey AM, Merritt TA, Dixon SD (1988): Cocaine exposure in a term neonate. *Clin Pediatr* 27: 547-550.
- 169 Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A (1987): Anti cchectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during bacterial bacteremia. *Nature* 330: 662-664.
- 170 Uauy RD, Fanaroff AA, Korones SB, Phillips EA, Phillips JB, Wright LL (1991): Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: biodemographic and clinical correlates. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 119(4):630-638.
- 171 Vaughan WG, Grosfeld JL, West K, Scherer LR 3rd, Villamizar E, Rescorla FJ (1996): Avoidance of stomas and delayed anastomosis for bowel necrosis: the 'clip and drop-back' technique. *J Pediatr Surg* (4): 542-545.
- 172 Viscardi RM, Lyon NH, Sun CC, Hebel JR, Hasday JD (1997): Inflammatory cytokine mRNAs in surgical specimens of necrotizing enterocolitis and normal newborn intestine. *Pediatr Pathol Lab Med* 17(4): 547-559.
- 173 Vohr BR, Wright LL, Dusick AM, Meleparallel L, Verterparallel J, Steichen JJ, Simon NP, Wilson DC, Broyles S, Bauer CR, Delaney-Black V, Yolton KA, Fleisher BE, Papile LA, Kaplan MD (2000): Neurodevelopmental and functional outcomes of of extremely low birth weight infants in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 1993-1994. *Pediatrics* 105 (6): 1216-1226.
- 174 Vreugdenhil ACE, Dentener MA, Snoek AMP, Greve JWM, Buurman WA (1999): Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J Immunol* 163: 2792-2798.
- 175 Warner BW, Vanderhoof JA, Reyes JD (2000): What's new in the management of short gut syndrome in children. *J Am Coll Surg* 190(6): 725-736.

176 Whetton AD, Dexter TM (1989): Myeloid hemopoietic growth factors. *Biochem Biophys Acta* 989: 111-132.

177 Yeh TC, Chang YH, Kao HA, Hsu CH, Hung HY, Peng CC (2004): Necrotizing enterocolitis in infants: clinical outcome and influence on growth and neurodevelopment. *J Formos Med Assoc* 103(10): 761-766.

## 7. Anhang

Therapie	CRP (mg/dl)	Leukozyten/ $\mu$ l	LBP ( $\mu$ g/ml)	IL-1 $\beta$ (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	IL-12 (pg/ml)	GM-CSF (pg/ml)	IFN- $\gamma$ (pg/ml)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)
K	2,7	23690	14,2	0	0	0	69,74	5,94	0	0	0	0	0
K	0	10600	112	8,18	43831	24,01	863,33	39,06	4,76	0,4	0	15,84	3,2
K	1,9	10400	43,9	4,39	0	49,16	2841,16	703,2	30,61	0	0	43,21	8,56
K	22	1050	47,2	0	0	0	278,62	140,5	7,95	0	0	14,65	8
K	12	11900	16,6	40,34	26,64	240,2	248416,3	810,5	131,3	0	165,5	222,4	46,8
K	4	9880	71,7	0,57	0	0	280,9	54,59	2,57	0	0	0	0
K	3,6	8300	2,7	0	0	0	18,57	24,65	4,86	0	0	4,72	0
K	9,8	7700	46	0,39	0,22	8,92	382,05	64,36	5,13	0	0	1,54	1,44
K	5,3	6,67	3,3	0	0	0,91	22,29	25,64	0	0	7,7	10,82	0
K	1,1	8300	18,8	0,57	0	0	150,17	17,71	2,09	0	0	0	0
K	2,1	6200	109	3,57	2,2	38,82	1950	37,47	11,58	0	0	38,57	7,4
O	0	12400	159	0,76	4,22	29,56	861,8	56,95	7,48	0	0	30,79	5,12
O	3,6	4000	86,4	613,2	19,74	198,5	139507	44258	28,52	0	126,7	169,3	53
O	29	6460	70,1	0,78	4,52	66,56	3106,15	76,86	37,58	0	0	64,31	12
O	7	1600	104	0,52	2,66	46,26	2418,53	245	19,11	0	0	42,32	8,56
O	0,4	6000	36,7	7,07	21,82	115	1506,1	39,54	11,26	3,2	111,7	109,3	9,98

K = konservativ, O = operativ

**Tabelle 11: Zytokinwerte der konservativ und operativ behandelten NEC-Patienten**

Legende: Entbindungsmodus: 1 = vaginal, 2 = Sectio cesarea

SSW	Entbindungsmodus	Geburtsgewicht (g)	Studiengewicht (g)	Studiengröße (cm)	CRP (mg/dl)	Leukozyten/µl	LBP (µg/ml)	IL-1β (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	IL-12 (pg/ml)	IFN-γ (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	GM-CSF (pg/ml)
32	2	1500	3700	51	0,2	5680	15	2,91	0	0,92	316,12	61,57	0,3	0	0	0	0
36	1	2330	3100	48	0,1	11560	18,4	0	0	0	105,57	5,43	0,99	0	0	0	0
36	1	3000	3950	53	0,1	10620	7,9	0	0	0	27,9	4,47	0,3	0	0	0	0
41	1	3300	3600	56	0,2	18120	20,1	0	0	0	39,58	3,52	0,3	0	0	0	0
40	1	3020	3400	52	0	8310	5,5	0,33	0	0	0	3,1	1,36	0	0	0	0
32	2	1670	2410	47	0	8370	9	0	0	0	0	5,85	0,77	0	0	0	0
33	2	2270	2230	46	0,5	9100	5,6	0,09	0	0	12,61	4,9	4,61	0	0	0	0
37	1	3200	6450	66	0,5	11800	143	0	0	0	210,68	4,7	4,68	0	0	0	0
39	n.d.	4025	5000	54	0,5	14500	5,8	0	0	0	22,91	2,19	0,2	0	0	0	0
40	1	3400	4390	55	0,5	7100	3,4	0	0	0	14,19	4,84	1,2	0	0	0	0
38	2	2520	4170	52	0,5	16900	39,95	0	0	0	160,39	3,43	1,03	0	0	0	0
30	2	1650	3740	50	0	20510	7,5	0	0	0	20,11	3,75	2,64	0	0	0	0
40	1	3500	4180	57	0	12310	7,2	0,57	0	14,06	23,96	2,6	2,41	0	15,84	0,83	0
36	2	3220	5170	59	0,5	7200	3,9	0,03	0	0	24,98	8	1,45	0	0	0	0
41	2	3890	4910	55	0	9490	12	0	0	0	2,19	4,08	0	0	0	0	0
30	2	1480	2500	45	0	6430	11,5	0	0	0	29,74	2,86	0,68	0	0	0	0
36	1	3120	4510	55	0,5	9300	5,3	0	0	0	0	3,59	0,68	0	0	0	0
36	1	3040	3640	50	0,5	9000	4,5	0	0	0	2,19	3,81	0	0	0	0	0
39	2	2690	5080	58	0,5	11300	14	0	0	0	47,81	10,42	7,34	0	0	0	0
39	1	3500	5780	58	0,5	11600	5,5	0	0	0	0	8,9	0	0	0	0	0
38	2	1940	2660	51	0,5	9600	5,3	0	0	0	0	5,18	1,2	0	0	0	0
40	1	3300	5100	60	0,5	3600	7	0	0	0	0	6,04	0	0	0	0	0
36	1	2140	4000	53	0,5	8500	15	0	0	0	25,98	5,41	1,03	0	0	0	0
40	n.d.	2420	3700	51	0,5	10400	10,8	0	0	0	22,37	4,42	2,72	0	0	0	0
39	1	3640	5500	58	0,5	7200	6,5	0	0	0	17,01	5,06	0,68	0	0	0	0
36	1	2920	4660	56	0,5	8800	5,3	0	0	0	8,85	2,71	2,8	0	0	0	0
36	2	2890	3510	50	0,5	11200	3,6	0	0	0	29,74	3,45	1,61	0	0	0	0
36	2	2540	4650	55	0,5	13400	4,2	0	0	0	12,61	3,03	1,11	0	0	0	0
39	2	3670	4835	60	n.d.	n.d.	5,3	0	0	0	10,86	5,37	1,2	0	0	0	0
36	2	2430	3690	52	0,5	12700	10,9	0	0	0	28,83	5,48	4,76	0	0	0	0
37	2	3140	4130	55	0,5	10900	6,9	0,01	0	0	28,83	3,9	1,93	0	0	0	0
35	2	1500	2890	51	0,5	7900	9	0,21	0	0	14,19	2,23	0	0	0	0	0
40	1	3000	3230	50	21	11600	12,3	0,57	0	0	60,58	7,01	3,18	0	0	0	0

**Tabelle 12: Klinische Daten und Laborwerte der Patientengruppe 1**

Legende: Entbindungsmodus: 1 = vaginal, 2 = Sectio cesarea

SSW	Entbindungsmodus	Geburtsgewicht (g)	Studiengewicht (g)	Studiengröße (cm)	Therapie	CRP (mg/dl)	Leukozyten/µl	LBP (µg/ml)	IL-1β (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	IL-12 (pg/ml)	IFI-γ (pg/ml)	THF-α (pg/ml)	GM-CSF (pg/ml)
33	2	1480	2530	44	konservativ	2,68	23690	14,2	0	0	0	69,74	5,94	0	0	0	0	0
33	2	1530	1530	43	konservativ	0	10600	112,4	8,18	43831	24,01	863,33	39,06	4,76	0,41	15,84	3,2	0
31	2	1490	2130	46	konservativ	1,9	10400	43,9	4,39	0	49,16	2841,16	703,17	30,61	0	43,21	8,56	0
31	2	1740	1740	39	konservativ	22	1050	47,2	0	0	0	278,62	140,46	7,95	0	14,65	8	0
25	2	790	2205	44	operativ	0,4	6000	36,7	7,07	21,82	114,96	1506,1	39,54	11,26	3,16	109,29	9,98	111,73
31	2	1950	1950	46	konservativ	3,6	8300	2,7	0	0	0	18,57	24,65	4,86	0	4,72	0	0
40	2	3500	3500	53	operativ	28,5	6460	70,1	0,78	4,52	66,56	3106,15	76,86	37,58	0	64,31	12,04	0
27	2	990	1200	37	operativ	7	1600	103,9	0,52	2,66	46,26	2418,53	245,02	19,11	0	42,32	8,56	0
27	2	800	800	32	konservativ	1,1	8300	18,8	0,57	0	0	150,17	17,71	2,09	0	0	0	0
34	1	1860	1860	43	konservativ	2,1	6200	108,8	3,57	2,2	38,82	1950	37,47	11,58	0	38,57	7,4	0
36	2	2400	2400	45	operativ	0	12400	159	0,76	4,22	29,56	861,8	56,95	7,48	0	30,79	5,12	0
32	2	1420	1420	40	konservativ	9,8	7700	46	0,39	0,22	8,92	382,05	64,36	5,13	0	1,54	1,44	0
31	2	1490	1490	42	konservativ	5,28	6,67	3,3	0	0	0,91	22,29	25,64	0	0	10,82	0	7,7
32	1	1880	1790	44	operativ	3,6	4000	86,4	613,21	19,74	198,45	139507	44258	28,52	0	169,26	53,01	126,73
37	1	2460	2600	50	konservativ	12	11900	16,6	40,34	26,64	240,2	248416,34	810,47	131,25	0	222,41	46,81	165,47
32	2	1550	1600	40	konservativ	4,04	9880	71,7	0,57	0	0	280,9	54,59	2,57	0	0	0	0

Tabelle 13: Klinische Daten und Laborwerte der Patientengruppe 2

Legende: Entbindungsmodus: 1 = vaginal, 2 = Sectio cesarea

SSW	Entbindungsmodus	Geburtsgewicht (g)	Studiengewicht (g)	Studiengröße (cm)	CRP (mg/dl)	Leukozyten/µl	LBP (µg/ml)	IL-1β (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	IL-12 (pg/ml)	IFI-γ (pg/ml)	THF-α (pg/ml)	GM-CSF (pg/ml)
37	2	4010	4000	n.d.	23,8	20420	71,4	10,05	28,35	263,53	234757,34	188,06	3996,75	3,79	237,61	54,17	171,6
40	1	3850	3850	55	4,9	10900	61,5	0	0	0	106,07	3,01	0,85	0	0	0	0
39	1	3300	3450	53	1,7	13600	37	0	0	0	33,21	2,93	0	0	0	0	0
41	1	3540	3600	54	9,4	21600	138	1,34	0	0	234,74	4,24	1,2	0	5,1	0	0
40	1	2970	4910	57	6,1	26000	200	0,19	0	0	481,44	4,56	8,87	0	11,64	2,06	0
40	1	3490	5370	56	8,9	9400	97	0	0	0	222,85	3,81	0,81	0	0	0	0
40	1	3470	3480	57	32	15800	74	0	0	0	78,41	5,39	8,23	0	0	0	0
40	1	4505	5200	58	11	18400	n.d.	0	0	0	85,23	25,59	3,82	0	0	0	0
39	2	3130	5140	58	13,9	18560	n.d.	0	27,15	10,35	68,29	16,16	7,24	0	44,58	8	59,17

Tabelle 14: Klinische Daten und Laborwerte der Patientengruppe 3

## 8. Lebenslauf

Name: Schumacher  
Vorname: Beate  
Geburtsdatum: 31.10.1983  
Geburtsort: Tübingen

### Schule

1990-1994 Grundschule in Reutlingen-Oferdingen  
1994-2003 Gymnasium des Bildungszentrums-Nord in Reutlingen,  
Allgemeine Hochschulreife 2003

### Studium

Seit Oktober 2003 Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls Universität  
Tübingen  
August 2005 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
  
2008-2009 Praktisches Jahr  
1. Tertial: Chirurgie, Stadtspital Waid, CH-Zürich  
2. Tertial: Innere Medizin, GZO Spital Wetzikon, CH-Wetzikon  
3. Tertial: Dermatologie, Universitätsklinik Tübingen  
  
Dezember 2009 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung am 03.12.2009

### Famulaturen

März 2006 Allgemein- und Visceralchirurgie, Klinikum Kirchheim-  
Nürtingen  
  
September 2006 Innere Medizin, Klinikum am Steinenberg, Reutlingen  
  
Februar 2007 Chirurgische Praxis, Dr. Nonnenmacher/Fuhrer/Astfalk/Fauser,  
Reutlingen  
  
August 2007 Gynäkologie und Geburtshilfe, Klinikum Kirchheim-Nürtingen

## **9. Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Fuchs danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes und der Patientendaten.

Mein Dank gilt besonders Herrn PD Dr. med. Guido Seitz für die fortwährende, freundliche und zuverlässige Betreuung der Arbeit. Ich danke ihm herzlichst für seine guten Ratschläge, die Unterstützung bei meiner Arbeit und seine Geduld.

Desweiteren danke ich Herrn Dr. med. Blumenstock für die statistische Betreuung und seinen fachkundigen Beistand bei allen statistischen Fragestellungen.

Abschliessend möchte ich mich aufrichtig bei meinen Eltern für die Unterstützung während meines gesamten Studiums bedanken.