



universität
wien

MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

„Veränderung des Bilirubin Spiegel im Rahmen eines ein-
jährigen Lebensstilintervention - Programmes“

verfasst von / submitted by

Veronika Wimmer, BSc

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Master of Science (MSc)

Wien, 2017 / Vienna 2017

Studienkennzahl lt. Studienblatt/
degree programme code as it appears on the
student record sheet:

A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on the stu-
dent record sheet:

Masterstudium Ernährungswissenschaften

Betreut von / Supervisor:

Univ.-Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner

Danksagung

Ein herzliches Dankeschön richte ich an Nazlisadat Seyed Khoei, MSc, die mir durch Ihr fachliches Wissen und Ihre Hilfsbereitschaft stets weitergeholfen hat.

Ein besonderer Dank geht ebenso an Univ. Prof. Mag. Dr. Karl-Heinz Wagner für die freundliche und geduldige Betreuung meiner Masterarbeit.

Weiters möchte ich mich bei allen Personen, die mir in Bezug auf meine Masterarbeit in theoretischen und praktischen Fragen geholfen haben, recht herzlich bedanken.

Mein Dank gilt auch allen Freunden die jederzeit ein offenes Ohr und großes Verständnis während meiner gesamten Studienzeit für mich hatten.

Außerdem möchte ich mich bei meinem Kollegen Nico Fleck für die gemeinschaftliche lange und intensive Laborzeit und für seine Hilfsbereitschaft bedanken.

Insbesondere danke ich meiner Familie, die mich während des gesamten Studiums unterstützten und auch in schwierigen Zeiten viel Geduld und Verständnis für mich aufbrachten.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meinem Mann Jürgen bedanken, der immer für mich da ist und jederzeit zu mir gehalten hat und mir somit auch meinen Studienabschluss ermöglichte.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	VI
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Stoffwechsel des Bilirubins	3
2.1.1 Struktur	3
2.1.2 Bildung	3
2.1.3 Bilirubin im Plasma und die antioxidative Wirkung	4
2.1.4 Transport	5
2.1.5 Ausscheidung von Bilirubin	5
2.1.6 Tägliche Bildung und Plasmaspiegel	6
2.1.7 Löslichkeit	7
2.2 Hyperbilirubinämien	9
Zu den angeborene Hyperbilirubinämien zählen:	9
2.3 Effekte von Bilirubin	11
2.3.1 Oxidativer Stress	11
2.3.2 Bilirubin – antioxidative Wirkung	12
2.3.3 Anti-inflammatorische Wirkung	14
2.4 Übergewicht	18
2.4.1 Prävalenz Übergewicht weltweit	19
2.4.2 Bedeutung von Übergewicht in Österreich	19
2.4.3 Gesundheitliche Konsequenzen von Übergewicht und Adipositas	21
2.4.4 Therapeutische Intervention von Übergewicht und Adipositas	22
2.5 Zusammenhang Gewichtsabnahme und Bilirubin	24
2.6 Hypothesen der vorliegenden Masterarbeit	27
3 Material und Methoden	28
3.1 Material	28
3.1.1 Studiendesign	28
3.1.2 Studienpopulation	29
3.1.2.1 Einschluss, - und Ausschlusskriterien	29

3.1.3	Probennahme.....	30
3.2	Methoden.....	31
3.2.1	HPLC	31
3.2.2	Herstellung der mobilen Phase (Laufmittel)	33
3.2.3	Herstellung der Stocklösung (S1).....	36
3.2.4	Herstellung der Standardlösungen.....	36
3.2.5	Probenaufbereitung.....	39
3.2.6	Erstellen der Standardgerade	39
3.2.7	Berechnung der UCB-Konzentrationen der Proben/Kontrollen:	40
3.2.8	Reproduzierbarkeit.....	40
3.2.9	Statistische Auswertung.....	41
4	Ergebnisse und Diskussion	42
4.1	Runde 1 und 2	42
4.1.1	Unkonjugiertes Bilirubin	43
4.1.2	Anthropometrische Daten.....	45
4.1.3	Lipidparameter	47
4.1.4	Korrelationen.....	48
4.2	Vergleich Runde 1 und 2	53
4.2.1	Unkonjugiertes Bilirubin	54
4.2.2	Anthropometrische Daten.....	54
4.2.3	Lipidparameter	56
4.2.4	Korrelationen.....	58
5	Schlussbetrachtung	59
6	Zusammenfassung	61
7	Summary	63
8	Literaturverzeichnis.....	65

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: BMI Klassifikationstabelle [modifiziert nach WHO, 2000]	18
Tabelle 2: Prävalenz von Übergewicht und Adipositas getrennt nach Geschlecht [modifiziert nach STATISTIK AUSTRIA, 2014]	20
Tabelle 3: Folge- und Begleiterkrankungen der Adipositas [modifiziert nach WIRTH, 2000]	22
Tabelle 4: Technische Details der verwendeten HPLC	32
Tabelle 5: Verwendete Reagenzien	33
Tabelle 6: Equipment für Proben- und Standardaufbereitung	33
Tabelle 7: Pipettierschema für die Herstellung der Standardverdünnungsreihe	36
Tabelle 8: Deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs, MW ± Stdabw.; n=34	42
Tabelle 9: Unterschiede der UCB-Konzentrationen zu ZP 1-3.....	43
Tabelle 10: UCB-Konzentrationen nach Alterseinteilung zu ZP 1 – ZP 3	44
Tabelle 11: Korrelationstabelle UCB – Gewicht/BMI/BU/HüftU.....	48
Tabelle 12: Korrelationstabelle UCB – LDL/HDL/Gesamt-C	49
Tabelle 13: Korrelationstabelle UCB – LDL/HDL – Quotient $p < 0,05^*$, $p <$ $0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$	51
Tabelle 14: Korrelationstabelle UCB – LDL/HDL - Quotient.....	52
Tabelle 15: Deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs aufgeteilt in Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15), MW ± Stdabw.	53

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel von Bilirubin [FEVERY, 2008].....	3
Abbildung 2: Struktur eines Häm Moleküls [STOCKER, 2004].....	3
Abbildung 3: Angriffsstellen für die Bilirubin-Glucuronierung [RYTHER & TYRELL, 2000]	5
Abbildung 4: Metabolismus der Gallenpigmente [modifiziert nach WAGNER et al., 2015].....	6
Abbildung 5: Struktur des Bilirubins IXa - (I) planare Anordnung und (II) Bildung interner Wasserstoffbindungen [modifiziert nach VITEK und OSTROW, 2009]..	7
Abbildung 6: Anti-oxidative Eigenschaften von UCB, modifiziert nach Bergmann et al., 2015	12
Abbildung 7: Prävalenz von Untergewicht, Normalgewicht, Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen (18–64 Jahre), getrennt nach Geschlecht [ELMADFA et al., 2012]	20
Abbildung 8: Messzeitpunkte Runde 1 und 2.....	30
Abbildung 9: Darstellung der Funktionsweise einer High-Performance Liquid Chromatography	32
Abbildung 10: Schematische Darstellung der Herstellung der mobilen Phase .	35
Abbildung 11: Pipettierschema der Bilirubinstandardlösungen	38
Abbildung 12: Standardgerade	40
Abbildung 13: UCB-Konzentration des Gesamtkollektivs zu ZP 1-3.....	43
Abbildung 14: UCB-Konzentrationen in Abhängigkeit der Alterskategorien: <50 und >50Jahre zu ZP 1 – 3, MW ± Stdabw.	44
Abbildung 15: Körpergewicht des Gesamtkollektivs (n=34) zu ZP1-3, MW ± Stdabw. ***ZP1 > ZP2 > ZP 3; p=0,000.....	45
Abbildung 16: Darstellung des BMI der Gesamtpopulation (n=34), MW ± Stdabw.....	46
Abbildung 17: Signifikante Korrelation zwischen UCB und LDL/Gesamtcholesterin zu ZP2 p < 0.05*, p < 0.01**, p < 0.001***	50
Abbildung 18: Signifikante Korrelation zwischen UCB und LDL/Gesamtcholesterin zu ZP1 p < 0.05*, p < 0.01**, p < 0.001***	50
Abbildung 19: Korrelation zwischen UCB und LDL/HLD - Quotient, ZP1 – ZP3 p < 0.05*, p < 0.01**, p < 0.001***	51
Abbildung 20: Korrelation zwischen UCB und Gesamt, -/HDL-C Verhältnis, ZP 1 – ZP 3 p < 0.05*, p < 0.01**, p < 0.001***	52
Abbildung 21: Darstellung der UCB-Konzentration getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW ± Stdabw. **ZP1 > ZP3; p=0,002	54

Abbildung 22: Gewichtsverlauf getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 0 - 5, MW \pm Stdabw. ***ZP0 > ZP3; p=0,000	54
Abbildung 23: Darstellung des BMI getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 0 - 5, MW \pm Stdabw. ***ZP0 > ZP3; p=0,000	55
Abbildung 24: Vergleich von HDL getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW \pm Stdabw. ***ZP0 > ZP3; p=0,000	56
Abbildung 25: Darstellung LDL getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW \pm Stdabw. ***ZP0 > ZP3; p=0,000	56
Abbildung 26: Darstellung Gesamtcholesterin getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW \pm Stdabw. ***ZP0 > ZP3; p=0,000	57
Abbildung 27: Darstellung Triglyzeride getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW \pm Stdabw. ***ZP0 > ZP3; p=0,001	57

Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area under the curve
BMI	Body Mass Index
BR	Bilirubin
BU	Bauchumfang
Chol	Cholesterin
DMSO	Dimethylsulfoxid
Gesamt-C	Gesamtcholesterin Konzentration
GS	Gilbert Syndrom
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfide
HDL-C	High Density Lipoprotein Konzentration
HKE	Herz-Kreislauf-Erkrankung
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HüftU	Hüftumfang
KHK	Koronare-Herz-Krankheit
LDL-C	Low Density Lipoprotein Konzentration
Mmol	Mikromol
MW	Mittelwert
Stdabw	Standardabweichung
TG	Triglyzeride
UCB	Unkonjugiertes Bilirubin
UGT 1A1	Uridin Diphosphat Glukuronosyl Transferase 1A1
ZP	Zeitpunkt

1 Einleitung

In den letzten Jahrzehnten ist die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas kontinuierlich gestiegen, einhergehend mit dem Anstieg von chronischen Erkrankungen. Adipositas betrifft lang nicht mehr nur wohlhabenden Gesellschaften, sondern auch zunehmend Schwellen- und Entwicklungsländer. Die Zahl der Adipösen hat sich in den letzten 20-25 Jahren in Europa verdreifacht. Übergewicht und Adipositas bringen viele gesundheitliche Risiken mit sich, und verursachen dadurch hohe Kosten im Gesundheitswesen [WHO, 2006].

Eine Gewichtsreduktion steht daher im Fokus vieler nationaler und internationaler Programme, und bringt eine Verbesserung der Lebensqualität mit sich. Das Risiko an assoziierten Begleit- und Folgeerkrankungen zu erkranken sinkt [WHO, 2006].

Ein weiterer interessanter, noch nicht ausreichend erforschter Aspekt, stellt der Zusammenhang von Bilirubin mit einer Gewichtsreduktion dar. Bisher konnte eine lineare Steigerung des Bilirubin Spiegels mit sinkendem Gewicht gefunden werden, der Mechanismus dahinter ist jedoch noch nicht aufgeklärt.

Man weiß bereits, dass Bilirubin negativ mit LDL-Cholesterin (LDL-C) und den Triglyceriden korreliert sowie positiv mit HDL-Cholesterin (HDL-C). Es spielt somit eine wichtige Rolle für die Risikoreduktion von kardiovaskuläre Erkrankungen [BERGMANN et al., 2015].

Im Allgemeinen gehört Bilirubin zu den Gallenfarbstoffe, diese wurden in unseren Breiten lange Zeit als toxische Abbauprodukte des menschlichen Organismus gesehen, und waren eher im Kontext mit der Behandlung angeborener Stoffwechselerkrankungen wie beispielsweise dem Gilbert's Syndrom und damit verbundenen Hyperbilirubinämien von Interesse [BULMER et al., 2008].

Gegensätzlich zu früheren gesundheitsschädlichen Ansätzen spricht man heute von einer Änderung des Images von Bilirubin und sagt dem Tetrapyrrol gesundheitsfördernde Wirkungen bei Erwachsenen nach [WAGNER et al., 2015]. Man weiß, dass Bilirubin v.a. einen antioxidativen [BULMER et al., 2008], antimutagenen [ARIMOTO et al., 1995 und BULMER et al., 2008], antiapoptischen [DUDNIK et al., 2001] und antiviralen [MCPHEE et al., 1996] Effekt hat. Die grundlegenden Mechanismen dahinter sind noch nicht genau erforscht und gelten als Gegenstand aktueller Arbeiten.

Diese vorliegende Arbeit entstand im Zuge eines einjährigen multidisziplinären Interventionsprogrammes der Oberösterreichischen Lehrer- Kranken- und Unfallfürsorge (LKUF). Ein Themenbereich der Studie und gleichzeitig Thema dieser Masterarbeit war die Veränderung des Bilirubins im Blut im Rahmen eines einjährigen Lebensstilinterventions – Programmes, bei 34 Teilnehmerinnen und Teilnehmern. In anderen Arbeiten wurden bereits Auswirkungen auf Körpergewicht, BMI, anthropometrische Indizes, Körperzusammensetzung und Stoffwechselfparameter eruiert. All diese Daten standen für diese Arbeit zur Verfügung und erlaubten mögliche Zusammenhänge zwischen Bilirubin und anderen Parameter zu erkennen.

Das Ziel dieser Arbeit ist es daher zu erforschen, ob es signifikante Veränderungen der Bilirubinplasmakonzentration oder Spiegel während bzw. nach einer Gewichtsabnahme gibt und ob es signifikante Zusammenhänge von Bilirubinkonzentrationen mit anderen Stoffwechselfparametern gibt.

2 Literaturübersicht

2.1 Stoffwechsel des Bilirubins

2.1.1 Struktur

Bilirubin zählt zu den Gallenpigmenten, welche durch eine Porphyrinstruktur mit 4 offenen Pyrrolringen gekennzeichnet sind [HEIRWEGH et al.,1989] die durch Methanbrücken zusammenhängen [WANG et al., 2006].

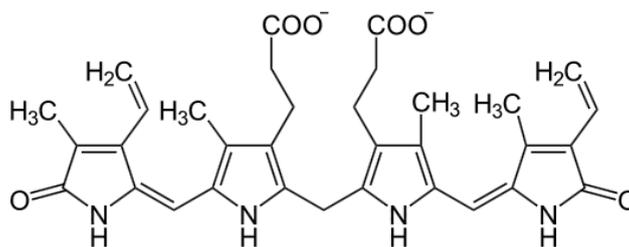


Abbildung 1: Strukturformel von Bilirubin [FEVERY, 2008]

2.1.2 Bildung

Bilirubin IXa entsteht durch die Öffnung des Häm-Rings an der alpha Methenbrücke. Diese wird durch die mikrosomale Hämoxygenase katalysiert. Es gibt zwei Isoformen der Hämoxygenase: HMOX1 und HMOX2, welche im endoplasmatischen Retikulum, in den Mitochondrien, in den Plasmamembranen und im Zellkern aktiviert werden [BULMER et al., 2013].

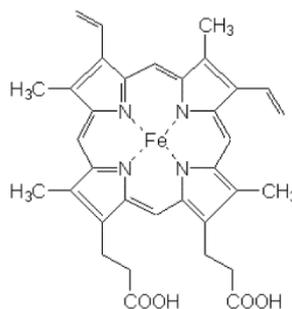


Abbildung 2: Struktur eines Häm Moleküls [STOCKER, 2004]

Durch den Abbau von Hämoglobin wird je ein Molekül Eisen, Kohlenstoff und Biliverdin freigesetzt [FEVERY, 2008].

Im Anschluss wird Biliverdin unter Verbrauch von NADPH durch die Biliverdinreduktase zu Bilirubin reduziert [KAPITULNIK, 2004]. Dabei wird die Methingruppe zu einer Methylengruppe, was am Kohlenstoffatom 10 ersichtlich ist. Biliverdin besitzt dort im Vergleich zu Bilirubin eine zusätzliche Doppelbindung [LÖFFLER und PETRIDES, 2007].

Das UCB IXa 4Z, 15Z Molekül ist das natürliche Bilirubin beim Menschen [VITEK und OSTROW, 2009], Bilirubin hat jedoch 2 weitere Isomere – IIIa und XIIIa, diese können jedoch im Menschen nicht nachgewiesen werden [HEIRWEGH et al., 1989].

2.1.3 Bilirubin im Plasma und die antioxidative Wirkung

Im menschlichen Plasma liegen zwei „Arten“ von Bilirubin vor. Hauptsächlich ist es unkonjugiert, wobei es nicht an die Glucuronsäure, sondern an Albumin gebunden ist [HEIRWEGH et al., 1989]. Albumin-gebundenes BR dient grundsätzlich als Schutz vor Oxidation für alle Albumin-Liganden. Hierzu zählen v.a. die an Albumin-gebundenen Fettsäuren [HUNT et al., 2001].

Zusätzlich gibt es noch eine freie unkonjugierte Form. In dieser ist Bilirubin fähig Superoxyl- und Peroxylanionen zu binden und freie O₂- Radikale abzufangen [STOCKER und AMES, 1987].

Die direkte oder konjugierte Form stellt das glucuronidierte Bilirubin dar [LÖFFLER et al., 2007]. In der konjugierten Form ist Bilirubin wasserlöslich und zirkuliert frei im Blut. Es schützt Lipide vor der Oxidation [STOCKER et al., 1990].

Das unkonjugierte Bilirubin macht ca. 80-90% und das konjugierte etwa 10-20% des Gesamtbilirubins aus [LÖFFLER et al., 2007].

2.1.4 Transport

Bilirubin wird im Körper an Albumin gebunden zur Leber transportiert da es wasserunlöslich ist [HEIRWEGH et al.,1989]. Dadurch werden seine toxischen Effekte neutralisiert [WANG et al., 2006].

Im Endoplasmatischen Retikulum der Hepatozyten wird unkonjugiertes Bilirubin konjugiert. Eine oder beide -COOH-Gruppen werden durch die Uridindiphosphoglucuronat-Glucuronosyltransferase mit Glucuronsäure verestert. Es entstehen Mono- bzw. Dikonjugate je nachdem ob eine oder beide der Carboxethylseitenketten verestert werden. In der Regel liegen bei Erwachsenen über 80% der Konjugate in Form von Diglucuroniden vor. Und nur bei erhöhten Konzentrationen ($>17,1 \mu\text{mol/l}$) von UCB vermehrt Monoglucuronide [VITEK und OSTROW, 2009].

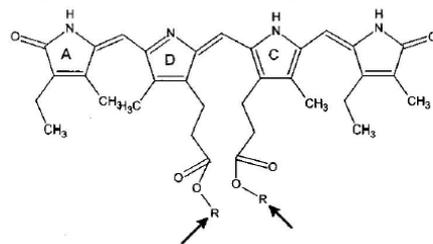


Abbildung 3: Angriffsstellen für die Bilirubin-Glucuronierung [RYTHER & TYRELL, 2000]

2.1.5 Ausscheidung von Bilirubin

Die gebildeten wasserlöslichen Bilirubinmono- bzw. diglucuronide können über die Galle ausgeschieden werden. Im Darm wird Bilirubin durch die β -Glucuronidasen und anaerobe Bakterien weiter zu Urobilinogen und Sterkobilinogen abgebaut. Die beiden Verbindungen werden mittels Dehydrierung in Urobilin in der Niere und Sterkobilin im Dickdarm metabolisiert und dann größtenteils mit dem Stuhl ausgeschieden. Dies ist auch der Grund für die gelb-braune Färbung des Fäzes.

Die im Darm aus Bilirubin entstehenden Verbindungen werden bis zu 20% reabsorbiert. Sie gelangen über den enterohepatischen Kreislauf zurück zur Leber und werden erneut über die Galle in den Darm abgegeben. Ein sehr kleiner Teil gelangt davon über das Blut zu den Nieren, wo es dann als Urobilin oder Urobilinogen bei starkem Häm Abbau unter pathologischen Bedingungen mit dem Harn ausgeschieden wird [KOOLMAN und RÖHM, 2002].

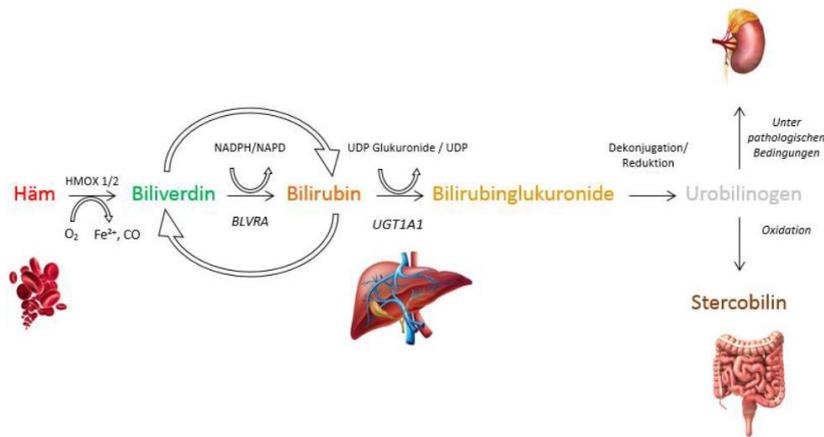


Abbildung 4: Metabolismus der Gallenpigmente [modifiziert nach WAGNER et al., 2015]

Durch die Veränderung des konjugierten Doppelbindungssystems im Molekül ergeben sich unterschiedliche Färbungen. Zuerst blaurot (Häm) dann grün (Biliverdin) und schließlich gelb (Bilirubin). Diese Abbauschritte finden in Zellen von Milz, Leber und Knochenmark statt [KOOLMAN und RÖHM, 2002].

2.1.6 Tägliche Bildung und Plasmaspiegel

Täglich werden im menschlichen Körper etwa 4mg/kg Körpergewicht an UCB produziert. Aus 1g Hämoglobin entstehen etwa 35mg Bilirubin, durch den täglichen Hämoglobinabbau entstehen ungefähr 220mg Bilirubin [WANG ET AL., 2005], das entspricht ca. 75-80% der täglich gebildeten Menge an Bilirubin [VITEK und OSTROW, 2009].

Der Rest stammt von anderen Hämproteinen wie Myoglobin oder Cytochromen, sowie auch von Nebenprodukten der Hämbiosynthese. Die Gesamtproduktion von Gallenfarbstoffen beim Menschen beträgt insgesamt etwa 300mg [KOOLMAN und RÖHM, 2002].

Durch diese Produktion liegt der Plasmaspiegel des an Albumin gebundenen Bilirubins zwischen 1,7 und 17,1 $\mu\text{mol/l}$ (0,1-1,0 mg/dl).

Der Spiegel richtet sich nach der Hämoglobinmenge [LÖFFLER und PETRIDES, 2007], weshalb es für Kinder und Erwachsene und auch für weiße und farbige Bevölkerungsgruppen unterschiedliche Plasmaspiegel geben kann. Frauen weisen in der Regel einen höheren Plasmaspiegel auf als Männer und jüngere Menschen einen niedrigeren als ältere [MADHAVAN et al, 1997; YAO et al, 2000].

Eine erhöhte Konzentration von gebundenem und freiem Bilirubin kann auch durch krankheitsbedingte Zustände im Körper entstehen. Die Konjugation von Bilirubin sowie dessen Ausscheidung kann z.B. durch Hepatitis beeinträchtigt sein [BULMER et al., 2013].

2.1.7 Löslichkeit

Bilirubin ist eine apolare und lipophile Substanz, und ist kaum in apolaren Lösungsmitteln (wie zB. n-Hexane, Methanol) lösbar [BLANCKAERT, 1981]. Die Unlöslichkeit entsteht durch die intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen (siehe Abbildung 5).

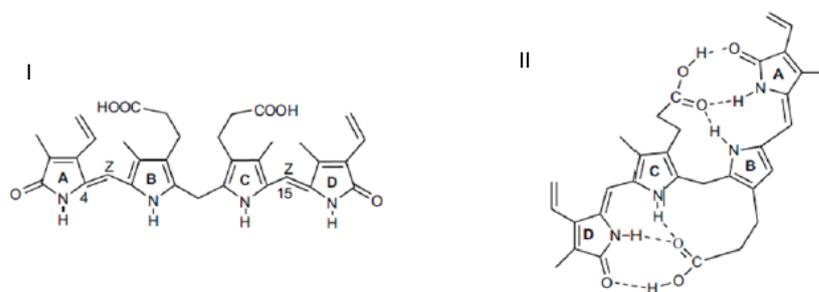


Abbildung 5: Struktur des Bilirubins IXa - (I) planare Anordnung und (II) Bildung interner Wasserstoffbindungen [modifiziert nach VITEK und OSTROW, 2009]

Diese werden durch die zwei polaren Carboxylgruppen in den Propionat Seitenketten, den NH-Gruppen und dem in Lactamkonfiguration vorliegenden Sauerstoff der Pyrrolringe gebildet [LÖFFLER und PETRIDES, 2007].

Da sich die inneren Ringe B und C frei bewegen können ist es möglich, dass ihre COOH-Gruppen Wasserstoffbindungen mit den polaren Ringgruppen >NH und –CO-NH- der anderen Ringhälfte eingehen. Die Ionisierung der zwei -COOH-Gruppen wird durch Wasserstoffbindungen verhindert und dadurch auch die Fähigkeit, dass diese mit Wasser in Wechselwirkung treten. Bilirubin ist auch aus diesem Grund schlecht wasserlöslich [VITEK und OSTROW, 2009].

Die Löslichkeit steigt sowohl mit der Polarität des Lösungsmittels, als auch mit dem pH-Wert. Es löst sich daher am Besten in Dimethylsulfoxide (DMSO). In Körperflüssigkeiten ist unkonjugiertes Bilirubin an Proteine gebunden, in Plasma an Albumin und im Cytoplasma an Ligandin [BLANCKAERT, 1981; BULMER et al.,2008b].

2.2 Hyperbilirubinämien

Eine hohe Bilirubin Konzentration im Blut kann aufgrund der hohen Toxizität viele negative Auswirkungen haben. Leicht erhöhte Konzentrationen von Bilirubin im Serum können auch harmlos verlaufen und bedürfen keiner weiteren, medizinischen Behandlung.

Konzentrationen über 1,8mg/dl (30µmol/L) können unter Umständen zu gesundheitlichen Risiken, vorrangig zu neurologischen Schäden im Gehirn führen. Diese erhöhten BR Spiegel äußern sich als Gelbfärbung der Haut und der Skleren, was als Gelbsucht oder Ikterus bezeichnet wird [SILBERNAGL und DESPOPOULOS, 2003].

Es wird zwischen prä-, intra- und posthepatischen Ikterus unterschieden.

Zu den erworbenen Hyperbilirubinämien zählen:

- *Hämolytischer (prähepatischer) Ikterus*
- *Hepatozellulärer (intrahepatischer) Ikterus*
- *Physiologischer und Pathologischer Neugeborenenikterus*
- *Verschlußikterus (posthepatischer Ikterus)*

Zu den angeborenen Hyperbilirubinämien zählen:

- *Dubin-Johnson-Syndrom*
- *Rotor-Syndrom*
- *Crigler-Najjar-Syndrom*
- *Hyperbilirubinämien aufgrund einer Mutation des UGT1 – Genlocus*

Die einzige UGT-Isoform, die für die Glucuronidierung von Bilirubin verantwortlich ist, ist UGT1A1. Eine verminderte Aktivität dieses Enzyms führt zu unterschiedlichen Schweregraden der unkonjugierten Hyperbilirubinämie [WANG et al, 2006].

Es wird zwischen dem Gilbert-Syndrom und dem Crigler-Najjar-Syndrom unterschieden welche beide autosomal-rezessiv vererbt werden, dabei kommt es zu einem Gendefekt des UGT1A1-Gens. Die Folge ist eine verminderte oder gänzlich fehlende UGT1A1-Aktivität [CHOWDHURY et al., 2009].

- *Gilbert's Syndrome*

Dies ist die häufigste Form der unkonjugierten Hyperbilirubinämie. Der Bilirubin Spiegel im Blut liegt leicht erhöht bei 17.1 - 51.3µmol/L, was von einer leichten Gelbsucht begleitet sein kann. Der Wert kann stark durch Stress wie Fasten, körperliche Betätigung, Krankheit oder Menstruation ansteigen. Die stark ausgeprägte Erhöhung (bis zu 100%) kann als Diagnosekriterium dienen, da sie typisch für diese Hyperbilirubinämie ist. Das Gilbert's Syndrome tritt bei 3-10% der Bevölkerung auf, Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Personen die das Gilbert's Syndrome aufweisen, haben im Durchschnitt eine um 70% niedrigere Enzymaktivität der UGT1A1. Der genetische Mechanismus und die genaue Ursache sind noch nicht zur Gänze geklärt. Bei betroffenen Personen wurden häufig homozygote Ausprägungen der zusätzlichen Basen (TA) in der Promotorregion (Polymorphismus) des UGT1A1-Gens beobachtet. Dies führte zu einer verminderten Expression des Gens [STRASSBURG, 2010; KRAEMER und SCHEURLIN, 2002].

Als weitere Diagnosekriterien gelten erhöhte Plasmakonzentrationen des unkonjugierten Bilirubins ohne Hämolyse und veränderten Leberenzymen [KAMISKAO, 2004].

2.3 Effekte von Bilirubin

Wagner et al. beschreiben die Effekte von Bilirubin in der biologischen Vielfalt des Tetrapyrrols, weshalb Bilirubin zu einem aufkommenden Biomarker in Zusammenhang mit Krankheitsresistenzen zählt [WAGNER et al., 2015].

2.3.1 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress entsteht durch eine Ungleichheit zwischen Pro- und Antioxidantien, das heißt, wenn zu viele freie Radikale gebildet werden und für deren Abbau nicht genügend Antioxidantien zur Verfügung sind. Prooxidantien (z.B. Licht, Strahlung, metallische Ionen) fördern die Entstehung freier Sauerstoffradikale oder hemmen das antioxidative System. Freie Sauerstoffradikale sind sehr reaktiv, da sie großen Schaden anrichten können, indem sie unkontrolliert chemische Reaktionen eingehen. Zu den bekanntesten Radikale zählen das Superoxid Anion ($O_2^{\cdot-}$), das Hydroxylradikal ($OH^{\cdot-}$) und das Hydrogenperoxid ($H_2O_2^{\cdot}$) [BERGAMINI et al., 2004]. Sie verursachen aufgrund ihrer Instabilität eine nicht enzymatische Oxidation von anderen Biomolekülen wie zB. Proteinen, Kohlenhydraten, Lipiden und Nukleinsäuren [CANNIZZO et al., 2011]. Dies führt zu oxidativen Stress und kann verschiedene Krankheiten – wie zB. Parkinson, Alzheimer, Diabetes und Krebs induzieren [HALLIWELL und GUTTERRIDGE, 1999].

2.3.2 Bilirubin – antioxidative Wirkung

Der Abbau von Häm sowie die daraus resultierende Bilirubinsynthese stellen wichtige Elemente in Bezug auf die anti-oxidativen Abwehrfunktionen der Zellen dar, wie in der Abbildung 6 dargestellt ist [BERGMAN et al., 2015].

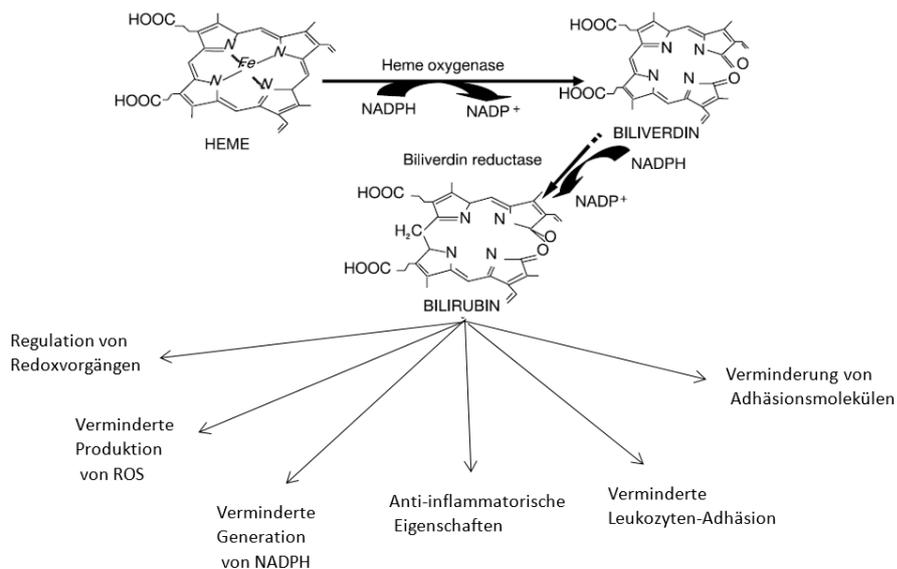


Abbildung 6: Anti-oxidative Eigenschaften von UCB, modifiziert nach Bergmann et al., 2015

Die antioxidative Wirkung von Bilirubin resultiert demnach aus der chemischen Struktur. Sowohl das freie, als auch das Albumin-gebundene und das konjugierte Bilirubin besitzen ein konjugiertes Doppelbindungssystem und 2 reaktive Wasserstoffatome. Speziell diese reaktiven Wasserstoffatome „machen“ das Bilirubin zum Antioxidans, da ein freies H-Atom Radikale binden kann [STOCKER et al., 2004].

1953 publizierte Bernhard et al. das erste Mal die antioxidative Aktivität von Gallenpigmenten. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Oxidation von Vitamin A durch die Anwesenheit von unkonjugiertem Bilirubin bzw. Biliverdin reduziert werden kann [BERNHARD et al., 1953].

Die Gruppe rund um Stocker konnte schon sehr früh zeigen, dass Bilirubin die Oxidation von Phosphatidylcholin in Liposomen effizienter hemmt als äquimolare Konzentrationen an Vitamin E [STOCKER et al., 1987].

In einer Studie von Vitek et al. wurde gezeigt, dass Personen mit Gilbert-Syndrom höhere Werte bei der totalen antioxidativen Kapazität sowie bei HDL-C gegenüber der Kontrollgruppe aufweisen. Dadurch konnte auch eine niedrigere Prävalenz für koronare Herzerkrankungen bei Betroffenen beobachtet werden [VITEK et al., 2002].

Vitek und Schwertner konnten weiter in einer Auswertung der NHANES Studie zeigen, dass die Prävalenz für periphere Gefäßerkrankungen bei moderat erhöhtem Bilirubin erniedrigt ist, und Bilirubin bei der Prävention von Arteriosklerose eine Rolle spielt [VITEK und SCHWERTNER., 2008].

Bergmann et al. untersuchten ob es einen Zusammenhang von Bilirubin und Risiken an CVD zu erkranken bei Gesunden besteht. Die Probanden waren Nichtraucher und nicht übergewichtig. Sie wurden in 2 Gruppen eingeteilt – spezifiziert mit einem niedrigen Risiko an CVD zu erkranken (Bilirubinkonzentration $\geq 13,7\mu\text{mol/l}$) und erhöhtem Risiko (BR $<13,7\mu\text{mol/l}$). Bilirubin korrelierte negativ mit non-HDL-C, LDL-C, TC und TC:HDL. Eine schwache positive Korrelation konnte zwischen Bilirubin und HDL-C gezeigt werden. Die Autoren vermuten dahinter eine wichtige Rolle in der Verminderung der Risiken für CVD [BERGMANN et al., 2015].

Tapan et al. untersuchten, ob es unterschiedliche Konzentrationen bei Personen mit und ohne GS bezüglich oxidiertem LDL, small dense LDL (sd-LDL-C) und hs-CRP gibt. Es waren dabei alle niedriger bei Personen mit GS verglichen mit Personen ohne GS ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$).

UCB korreliert negativ mit sd-LDL-C, ox. LDL und hs-CRP ($r=-0,594$, $p<0,001$; $r=-0,249$, $p<0,001$; $r=0,307$, $p<0,003$) [TAPAN et al., 2011].

Die antioxidative Wirkung von Gallenpigmenten insbesondere auch Bilirubin wurde bisher in vielen Studien bestätigt und nachgewiesen.

2.3.3 Anti-inflammatorische Wirkung

Besonders die an Albumin gebundenen Form zeigt eine anti-inflammatorische Wirkung im Gewebe. Es kommt zur Hemmung entzündungsbedingter Schädigungen durch die komplement-hemmende Aktivität [VITEK et al, 2002].

Viele Studien zeigten, dass der Serumbilirubinspiegel negativ mit der Entwicklung einer Atherosklerose assoziiert ist. Personen mit einer koronaren und peripheren atherosklerotischen Erkrankung weisen einen signifikant niedrigeren Plasmabilirubinspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe auf [YANG et al., 2009; ÖLLINGER et al., 2007].

Vitek et al. konnten ebenfalls die anti-inflammatorische Eigenschaften von Bilirubin zeigen, da Bilirubin entzündungsfördernde Prozesse auf mehreren Ebenen ihrer Entstehung beeinflusst. Dies führt zu einem verringerten Auftreten und zum Schutz vor Arteriosklerose [VITEK et al., 2010].

Temme et al. beschrieben 2001 Ergebnisse ihrer 10jährigen Studie, in der der Zusammenhang des Serumbilirubins mit Gesamtmortalität, sowie Krebs und die Mortalität durch kardiovaskuläre Ereignisse untersucht wurden. Männer wiesen dabei mit einem erhöhten Plasmabilirubin ($\geq 0,6$ mg/dL; $10,3$ $\mu\text{mol/L}$) ein geringeres Risiko für Gesamt- als auch Krebsmortalität ($\text{RR}=0,73$ und $\text{RR}=0,43$) im Vergleich zur Gruppe mit niedrigem Plasmabilirubin ($\leq 0,2$ mg/dL; $3,4$ $\mu\text{mol/L}$) auf. Mit ansteigender Bilirubinkonzentrationen im Blut fiel das Risiko linear für die Krebsmortalität [TEMME et al., 2001].

Der inverse Zusammenhang zwischen der Mortalität und dem Plasmabilirubinspiegel wurde auch in der NHANES Studie (U.S. National Health and Nutrition Examination Survey) bestätigt.

Dabei konnte beobachtet werden, dass die Teilnehmer mit einer Konzentration von 0,1 – 0,4 mg/dl die höchste Mortalitätsrate hatten verglichen mit Teilnehmern mit Plasmaspiegeln von 0,5 – 0,7 mg/dl [ONG et al., 2014].

Die anti-oxidativen und anti-inflammatorischen Eigenschaften von Bilirubin bei Personen mit und ohne metabolischem Syndrom wurde von Deetman et al. untersucht. Das Ziel war einen Zusammenhang zwischen Serum Amyloid A (SAA) sowie dem hoch-sensitiven C-reaktivem Peptid (hs-CRP) zu beschreiben.

Sie fanden heraus, dass die UCB-Konzentrationen bei Personen mit metabolischem Syndrom im Vergleich zu den Kontrollpersonen erniedrigt waren (MetS UCB= 9 $\mu\text{mol/L}$ vs nonMetS UCB= 11 $\mu\text{mol/L}$; $p= 0,013$). Weiters wiesen die Studienteilnehmer mit Metabolischem Syndrom erhöhte Werte von hs-CRP (MetS 1,97 mg/mL vs nonMetS 1,03 mg/mL; $p= 0,001$) sowie SAA (MetS 1,76 mg/L vs nonMetS 1,25 mg/L; $p= 0,002$) auf. Es gab eine negative Korrelation zwischen UCB und hs-CRP ($r = -0,203$, $p= 0,008$), unabhängig vom Vorhandensein des metabolischen Syndroms oder Typ 2 Diabetes. Die Autoren kamen zum Schluss, dass eine niedrige UCB-Konzentration mit dem vermehrten Auftreten von leichtgradigen Entzündungsreaktionen einhergeht [DEETMAN et al., 2013].

Bisht et al. beschrieben in ihrer Studie von 2014 Bilirubin als Immunmodulator, der die Entzündungsreaktion in Anwesenheit von Entzündungsmediatoren erhöht. Sie kamen zu dem Schluss, dass Bilirubin im Zusammenhang mit einer erhöhten Entzündungsreaktion gegenüber Lipopolysaccherriden (LPS), die für die Produktion von entzündungsfördernde Zytokine verantwortlich sind, steht. Bilirubin ist dabei positiv assoziiert mit dem Auftreten des IL-1 Rezeptor

Antagonist und der Interferon γ Gene Expression der Leukozyten [BISTH et al., 2014].

Da eine telomere Fehlfunktion mit höherem CVD Risiko assoziiert ist, haben Tosevska et al. in ihrer in vivo Fall-Kontroll Studie den Zusammenhang zwischen Telomerlänge und erhöhtem UCB untersucht

Die Telomerlänge war höher in der GS Gruppe als in der Kontrollgruppe ($p=0,033$), dieser Unterschied war offensichtlicher nur in der männlichen Gruppe ersichtlich, und ist mit fortschreitenden Alter stärker zu erkennen.

Im Tierversuch mit Ratten gab es keine geschlechterspezifischen Unterschiede in der Telomerlänge.

Serum UCB Spiegel korreliert stark mit der Eisen-reduzierenden Fähigkeit von Plasma bei Männer und Frauen ($p<0,001$), aber nicht mit anderen oxidativen Markern wie GSH/GSSG. Endzündungsmarker im Serum wie CRP und SAA haben nur einen schwach inversen Zusammenhang mit UCB, jedoch zeigten IL-6 und IL-1 β in Monozyten eine stärkere inverse Korrelation [TOSEVKA et al., 2015].

Ein erhöhtes Serum BR Level ist assoziiert mit einer Reduktion von peripheren arteriellen Krankheiten. Vitek et al. untersuchten die Hypothese, dass BR vor peripheren arteriellen Krankheiten schützt. Sie fanden dabei heraus, dass eine um 0,1mg/dl Erhöhung vom BR im Plasma mit einer 6%igen Reduktionswahrscheinlichkeit von peripheren arteriellen Krankheiten einherging. Die Tendenz war bei Männern und Rauchern höher [VITEK et al., 2008].

Mölzer et al. hatten in ihrer Studie das Ziel, die Unterschiede betreffend verbesserter Entzündungen, Körperzusammensetzung und allgemeine Stoffwechselgesundheit bei Personen mit GS und ohne GS aufzuzeigen. Als Entzündungsmarker wurden Intrazelluläre Interleukine (IL-6, IL-1 β , TNF α),

Kreislauf-C-reaktives Protein (CRP), Serum-Amyloid A (SAA) und Haptoglobin (Hpt) analysiert.

Zur Beurteilung der intrazellulären Häm-Oxygenase 1 (HO-1) wurden isolierte Zellen (mononukleäre des peripheren Blutes) verwendet.

In der GS-Gruppe waren gegenüber der Kontrollgruppe die Entzündungsmarker signifikant verringert, obwohl alle Probanden gesund waren und keine vorliegende chronische Krankheiten bekannt waren.

Die Senkung des Entzündungsgrades wurde durch einen veränderten Häm-Katabolismus unterstützt, wobei dieser indirekt durch erhöhtes unkonjugiertes Bilirubin und Eisen, vermindertem Hämopexin und Haptoglobin und ebenfalls von hochregulierter Biliverdin-Reduktase (BLVRA) Genexpression reflektiert wurde.

Mölzer et al. konnten somit die bereits bekannten phänotypischen Besonderheiten, die aus der Literatur für GS-Individuen bekannt sind, über die Entzündung und die alltägliche Stoffwechselgesundheit bestätigen.

Dies könnte die Erklärung der niedrigen Prävalenz und des späten Beginns von chronischen, durch oxidativen Stress bedingte Krankheiten bei GS-Personen sein [MÖLZER et al., 2017].

2.4 Übergewicht

Die WHO definiert Adipositas folgendermaßen: „Adipositas ist eine Erkrankung, die durch einen erhöhten Körperfettanteil bedingt ist und erhebliche Auswirkungen auf die Gesundheit hat. Sie ist das Ergebnis einer unerwünschten Gewichtszunahme, die entsteht, wenn die Energieaufnahme den Energieverbrauch übersteigt. Bei adipösen Personen wird mehr Fett im Fettgewebe abgelagert, was mit einem steigenden Risiko bestimmter Erkrankungen verbunden ist“ (WHO, 2000).

Zur Bestimmung des Übergewichts wird der Body-Maß-Index (kurz BMI) herangezogen um das Gewicht einer Person einzuordnen. Dabei werden Größe und Gewicht und deren Verhältnis zueinander verwendet. Das Körpergewicht steht in enger Verbindung zur Fettmasse, das heißt, verändert sich beim Erwachsenen das Körpergewicht, so verändert sich auch die Fettmasse. Der BMI für Erwachsene wurde mit festen Grenzwerten zur Definition von Übergewicht (BMI 25 – 29,9 kg/m²) und bei Adipositas (BMI ab 30 kg/m²) etabliert. In nachstehender Tabelle werden die Grenzwerte und deren Einteilung abgebildet [WHO, 2000].

Klassifikation	BMI
Untergewicht	<18,5
Normalgewicht	18,5 – 24,9
Übergewicht	>25
Präadipositas	25 – 29,9
Adipositas I	30 – 34,9
Adipositas II	35 – 39,9
Adipositas III	≥ 40

Tabelle 1: BMI Klassifikationstabelle [modifiziert nach WHO, 2000]

Eine weitere Methode die Fettverteilung zu ermitteln ist die Waist-To-Hip-Ratio (WHR). Hierbei wird der Taillenumfang mit dem Hüftumfang verglichen. Diese sollte lt. WHO >0.8 bei Frauen und >0.9 bei Männer sein. Der Taillenumfang sollte bei Frauen zwischen 80.0cm – 87.9cm und bei Männer zwischen 94.0cm – 101.9cm liegen. Ein erhöhtes Risiko für metabolisches Syndrom und für kardiovaskuläre Krankheiten sowie für andere chronische Erkrankungen besteht bei einem Waist-To-Hip-Ratio ≥ 88 cm bei Frauen und ≥ 102 cm bei Männern [WHO, 2000].

2.4.1 Prävalenz Übergewicht weltweit

Weltweit gesehen hat sich die Zahl der Übergewichtigen seit den 80er Jahren verdoppelt. Im Jahr 2014 waren 39% der Erwachsenen übergewichtig und 13% adipös. Auch bei den Kindern gibt es dramatische Erhöhungen des Übergewichts – 2014 waren 41 Millionen Kinder unter 5 Jahren übergewichtig. Die WHO gibt an, dass 2030 noch viel mehr Menschen mit Adipositas zu kämpfen haben werden als bisher [WHO, 2016].

2.4.2 Bedeutung von Übergewicht in Österreich

In den letzten Jahrzehnten ist die Anzahl der Übergewichtigen auch in Österreich kontinuierlich gestiegen, es ist daher wichtig über die Krankheit Adipositas zu informieren und aufzuklären.

Laut österreichischem Ernährungsbericht 2012, ist die Ernährung bei Erwachsenen und Kindern verbesserungswürdig. Die Österreicher essen zu viel Fett, zu wenig Ballaststoffe und bewegen sich nicht ausreichend. In allen untersuchten Altersgruppen ist der Anteil an übergewichtigen Personen hoch. Etwa 40% der Erwachsenen (52% Männer und 28% Frauen) sind übergewichtig, davon sind 12% adipös (15% Männer und 10% Frauen). Weiters zeigte sich, dass mehr als zwei Drittel der 51-64-jährigen Männer übergewichtig bzw. adipös waren, bei den Frauen waren nur rund jede zweite 51-64-jährige übergewichtig bzw. adipös [ELMADFA et al., 2012].

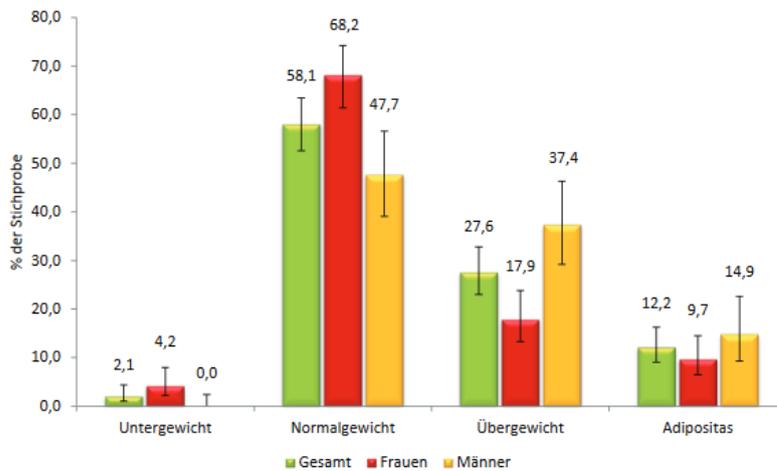


Abbildung 7: Prävalenz von Untergewicht, Normalgewicht, Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen (18–64 Jahre), getrennt nach Geschlecht [ELMADFA et al., 2012]

Die Ergebnisse der Österreichischen Gesundheitsbefragung 2014 zeigen folgende Daten:

Jahre	Übergewicht		Adipositas	
	Männer	Frauen	Männer	Frauen
15-29 Jahre	25%	13%	9%	6%
60-74 Jahre	47%	39%	22%	20%
< 70 Jahre	40%	36%	17%	18%

Tabelle 2: Prävalenz von Übergewicht und Adipositas getrennt nach Geschlecht [modifiziert nach STATISTIK AUSTRIA, 2014]

Vergleicht man diese Werte sind der Anteil an Übergewichtigen und Adipösen an der Gesamtbevölkerung von 49% (2006/07) auf 47% (2014) gesunken. Es kam dabei zu einer Abnahme der Personen mit Übergewicht um 3,3 Prozentpunkte, der Anteil der Personen mit Adipositas stieg leicht um 1,6 Prozentpunkte an [STATISTIK AUSTRIA, 2014].

2.4.3 Gesundheitliche Konsequenzen von Übergewicht und Adipositas

Das Risiko an oft langwieriger und chronischer Erkrankungen zu leiden ist im Vergleich zu Normalgewichtigen erhöht, und treten häufig mit Übergewicht und Adipositas in Verbindung auf [WHO, 2010].

Es werden vier chronische Gesundheitsprobleme von der WHO benannt, die ein besonderes Lebensrisiko bedeuten:

- kardiovaskuläre Erkrankungen,
- Erkrankungen entstehend durch Insulinresistenz,
- verschiedene Krebsarten und
- Gallensteinprobleme [WHO, 2010]

Eine entscheidende Rolle spielt die Form der Fettverteilung, wobei zwischen der androiden (stammbezogene Fettansammlung im Bauchbereich „Apfeltyp“) und der gynoiden (Fettansammlung an Gesäß, Hüften und Oberschenkel „Birnentyp“) unterschieden wird [ELMADFA, et al. 2009].

Ein erhöhtes Risiko für Herz-Kreislauf- Erkrankungen (HKEs) besteht bei der androiden Fettverteilungsform, die sowohl bei Frauen als auch bei Männern vermehrt zu koronaren Herzkrankheiten und Diabetes mellitus Typ 2 führen [WIRTH und HAUNER, 2008].

Zu den Risikofaktoren die HKEs auslösen zählen modifizierbare wie überhöhte Plasmalipidwerte, Diabetes mellitus, erhöhter Blutdruck, Rauchen und körperliche Inaktivität, aber auch nicht modifizierbare Risiken wie Alter, Geschlecht und die Genetik. Zu den wichtigsten Ursachen zählen erhöhte Plasmalipidwerte und der erhöhte Blutdruck [RIESEN, 2006].

Nachfolgend sind einige der wichtigsten Folge- und Begleiterkrankungen der Adipositas aufgeführt:

Systembereiche	Folge- und Begleiterkrankungen
Kardiovaskuläres System	<ul style="list-style-type: none"> • Hypertonie, • Koronare Herzkrankheit, • Linksventrikuläre Hypertrophie • Herzinsuffizienz • venöse Insuffizienz, Apoplex
Metabolische und hormonelle Funktion	<ul style="list-style-type: none"> • Diabetes mellitus Typ 2 • Dyslipidämien • Hyperurikämie
Hämostase	<ul style="list-style-type: none"> • Hyperfibrinogenämie • erhöhter Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
Respiratorisches System	<ul style="list-style-type: none"> • Schlafapnoe • Pickwick-Syndrom
Gastrointestinales System	<ul style="list-style-type: none"> • Cholezystolithiasis • Fettleber • Refluxösophagitis
Bewegungsapparat	<ul style="list-style-type: none"> • Koxarthrose, • Gonarthrose, • Fersensporn, • Wirbelsäulensyndrome
Verschiedenes	<ul style="list-style-type: none"> • erhöhtes Operations- und Narkoserisiko • erhöhte Verletzungsgefahr • erschwerte Untersuchungsbedingungen • verminderte Beweglichkeit und Ausdauer

Tabelle 3: Folge- und Begleiterkrankungen der Adipositas [modifiziert nach WIRTH, 2000]

Das metabolische Syndrom symbolisiert das Zusammenwirken der vier Faktoren – der androgenen Fettverteilung, dem Bluthochdruck, der Hypertriglyzeridämie und der Glukoseintoleranz [WIRTH, 2000].

2.4.4 Therapeutische Intervention von Übergewicht und Adipositas

Adipositas und Übergewicht stellen eine große Herausforderung für die Gesundheitspolitik dar [WHO, 2006], da sie die schnellsten wachsenden Gesundheitsrisiken weltweit sind und als eines der Hauptgesundheitsprobleme unserer Zeit gesehen werden [ELMADFA et al., 2011].

Der Adipositas liegt ein Ungleichgewicht zwischen Energieaufnahme und Energieverbrauch zugrunde [MÜHLBACHER et al., 2011], bei der Gewichtsabnahme ist deshalb nicht nur die Abnahme, sondern auch die

langfristige Stabilisierung des Gewichtes wichtig. Als Erfolg ist nur eine über längeren Zeitraum gehaltene Abnahme zu sehen.

Das Ziel einer Gewichtssenkung ist die Steigerung der Lebensqualität und eine Verbesserung von adipositasassoziierten Risikofaktoren wie z.B. Hypertonie und Diabetes mellitus Typ II [PUDEL, 2003].

Für eine Gewichtsabnahme ist die Umstellung der Ernährungsgewohnheiten unabdingbar, dies kann durch eine Reduzierung der Energieaufnahme durch gesündere Lebensmittel, durch eine Ernährungsumstellung mit kleineren Portionsgrößen, Vermeidung von Snacking essen und geregelten Mahlzeiten erreicht werden. Zusätzlich werden 150 Minuten/Woche moderate Bewegung empfohlen und 30 Minuten/Woche Kraftübungen. Nur durch eine negative Energiebilanz kann eine Gewichtsreduktion erzielt werden, und zusätzlich eine Reduktion der Lipidparameter [YUMUK et al., 2015].

So stellt die Reduktion des LDL-Cholesterin einen wesentlichen Faktor in der Prävention von HKEs dar [REINER et al., 2011].

2.5 Zusammenhang Gewichtsabnahme und Bilirubin

Andersson et al. befassten sich mit dem noch sehr unbekanntem Zusammenhang zwischen Körpergewichtsverlust und Bilirubin. Eine Gewichtsreduktion senkt kardiovaskuläre Risikofaktoren, dieselben positiven Veränderungen könnten auch dem Bilirubinstoffwechsel nachgewiesen werden. Aufgrund dieser Tatsachen vermutet die Gruppe um Andersson eine Erhöhung der Bilirubinkonzentration nach einem Gewichtsverlust, und haben diese Hypothese anhand der SCOUT Studie untersucht.

Bei der Studienpopulation handelte es sich um Personen die entweder an Herzkreislauf Erkrankungen, arteriellen Verschlusskrankungen, Schlaganfall, oder Diabetes Typ II litten. Die Probanden mussten Sibutramine (Appetitzügler) nehmen, Sport betreiben und Diät halten.

Probanden welche Gewicht verloren haben, hatten eine signifikante Erhöhung der Bilirubinkonzentration. Probanden die an Gewicht zunahmen, hatten eine signifikante Senkung der Bilirubinkonzentration. Männer hatten dabei einen signifikant besseren Anstieg der Bilirubinkonzentration als Frauen. Weiters hatten Personen mit Diabetes einen signifikant geringeren Anstieg der Bilirubinkonzentration als Personen ohne Diabetes.

Der Mechanismus hinter der Erhöhung des Bilirubinspiegels bei einem Gewichtsverlust ist bis heute nicht geklärt [ANDERSSON et al., 2009].

Weitaus mehr Ergebnisse fand man im Zusammenhang zwischen Bilirubin und dem Lipidprofil. Die Plasmakonzentration von Gesamtcholesterin, Triglyzeriden und VLDL Cholesterin zeigten einen inversen Zusammenhang mit der Plasma Bilirubinkonzentration. Es konnte eine signifikante Senkung der Plasmalipide bei steigender Bilirubinkonzentration gezeigt werden [VERMA et al., 2005].

Yesilova et al. (2008) untersuchten, ob ein hoher Serumbilirubinspiegel LDL vor Oxidation schützen kann. Es wurden 17 Personen mit Gilbert Syndrom mit einer Kontrollgruppe, welche 15 gesunde Personen beinhaltete, verglichen. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen gefunden. Im Vergleich

zur Kontrollgruppe wurde beobachtet, dass die Lag-Phase durch Oxidation bei Gilbert Syndrom Patienten verlängert ist [YESILOVA et al., 2008].

In der Studie von Tapan et al. (2011) wurden 42 männliche Probanden mit GS mit 52 männlichen gesunden Personen verglichen. LDL-C, oxidiertes LDL und C-reaktives Protein wurden untersucht und alle 3 Werte waren signifikant niedriger in der Gilbert Syndrom Gruppe als in der Kontrollgruppe. Oxidiertes LDL ist an der Entwicklung von Atherosklerose beteiligt, deshalb wurde angenommen, dass erhöhtes Bilirubin das Risiko von Atherosklerose verringern könnte.

In einer weiteren Studie wurde ebenfalls die antioxidative und antiarteriogene Wirkung von Bilirubin bestätigt. Diese Wirkung scheint darauf zu beruhen, dass eine Oxidation von LDL-Cholesterin und anderer Fette reduziert wird und zusätzlich Sauerstoffradikale abgefangen werden können. Bei der Induktion der Hämoxxygenase 1 zeigen sich ähnliche Wirkungen, neben der Erhöhung des Biliverdin und Bilirubin entsteht bei dieser Reaktion auch Kohlenmonoxid, das antiproliferativ und vasodilatatorisch wirkt. Um die Lipoproteine vor Oxidation zu schützen, wird das Häm entfernt. Diese Faktoren sind an dem schützenden Effekt beteiligt [TAPAN et al., 2011].

In der Studie von Wallner et al. 2013 konnte gezeigt werden, dass Personen mit GS eine erniedrigte LDL-C, TG und LDL Konzentration als die Kontrollgruppe aufweisen [WALLNER et al., 2013a].

Boon et al. beschrieben dieselbe Beobachtung hinsichtlich LDL-C bei Personen mit GS [BOON et al., 2012].

Zu anderen Ergebnissen kamen Bulmer et al., sie konnten in ihrer Studie 2008 keine Unterschiede zwischen der GS Gruppe und Kontrollgruppe hinsichtlich LDL-C beschreiben [BULMER et al., 2008a].

Mit steigender UCB-Konzentration im Blut sinkt die Konzentration an pro-atherogenem OxLDL [STOCKER, 2004; VITEK UND SCHWERTNER, 2009]. Darüber hinaus könnten Veränderungen hinsichtlich des Lipid-Metabolismus eine Rolle des Bilirubins oder der UGT1A1 bezugnehmend auf die Modifikation des Fettstoffwechsels bedeuten [BULMER et al., 2013].

2.6 Hypothesen der vorliegenden Masterarbeit

- Es gibt eine signifikante Erhöhung der UCB Konzentration von Beginn bis zum Ende der Lebensstilinterventionsstudie
- UCB und Gewichtsverlust: UCB [$\mu\text{mol/l}$] steigt mit sinkendem Gewicht
- UCB und Lipidprofil: UCB [$\mu\text{mol/l}$] steigt mit Änderung des Lipidprofils (LDL-C /HDL-C/Triglyzeride [mg/dl])

3 Material und Methoden

3.1 Material

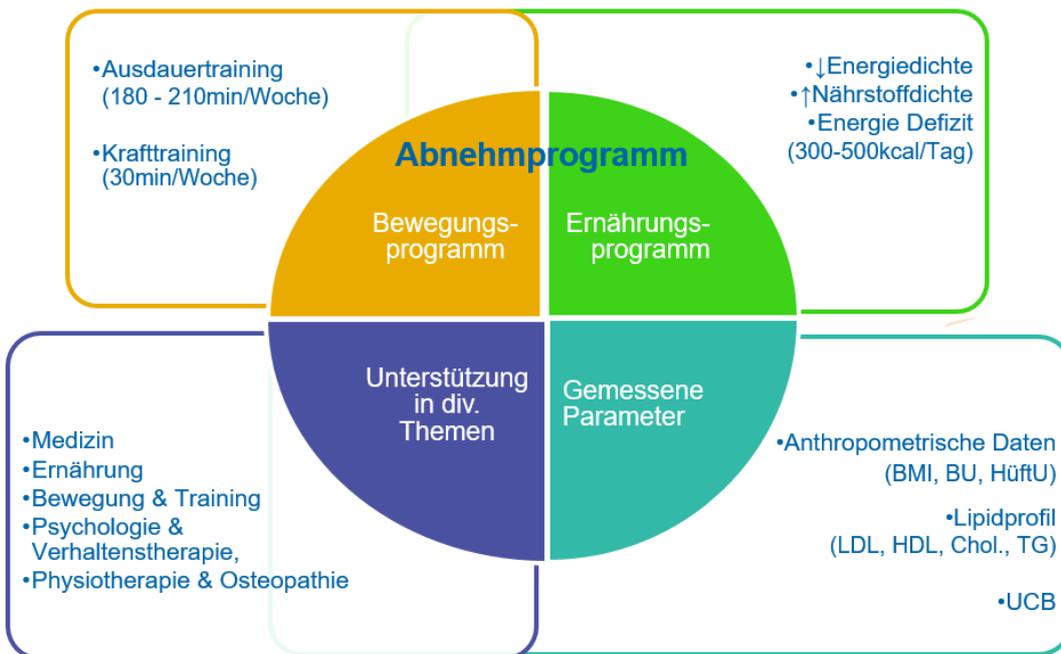
3.1.1 Studiendesign

Das LKUF – Gewichtsreduktionsprogramm ist eine 12-monatige Lebensstilintervention für oberösterreichische LehrerInnen. Der Fokus der Intervention lag auf Sport, Ernährung und Verhaltenstherapie. Die Intervention passierte auf der „interdisziplinären Leitlinie der Qualität S3 zur Prävention und Therapie der Adipositas“ welche im April 2014 veröffentlicht wurde.

Den Studienteilnehmern standen Spezialisten zu den verschiedenen Themengebieten zur Seite, ebenso wurden sie innerhalb der einjährigen Intervention für 20 Tage unterstützt. Diese waren aufgeteilt in 12 Einzelberatungstagen, ein Beratungswochenende und eine Woche in einem Gesundheitsresort.

Da der erste Zyklus sehr erfolgreich war, wurde die Studie erneut durchgeführt.

In nachfolgender Abbildung ist das Studiendesign zusammengefasst.



3.1.2 Studienpopulation

Im Rahmen dieser Masterarbeit gab es 2 unabhängige Runden. Es wurden Serumproben, die im Zuge eines einjährigen Lebensstilinterventions-Programmes gesammelt wurden, auf den Gehalt des unkonjugierten Bilirubins mittels HPLC untersucht.

Runde 1

Es nahmen 19 (16 Frauen und 3 Männer) übergewichtige oder adipöse (BMI $34,7 \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$) LehrerInnen teil ($51,2 \pm 5,3$ Jahre). Die Blutproben wurden zu Beginn des Programmes, nach 17, 33 und 46 Wochen entnommen. Zusätzlich gab es noch eine fünfte Abnahme nach 104 Wochen, diese erfolgte 1 Jahr nach dem Ende der Intervention.

Runde 2

In Runde 2 waren 15 (13 Frauen und 2 Männer) übergewichtige oder adipöse (BMI $35,0 \pm 2,7 \text{ kg/m}^2$) Personen involviert ($51,1 \pm 5,7$ Jahre).

Es gab insgesamt 3 Blutabnahmen. Die letzte Abnahme stand für diese Arbeit leider noch nicht zur Verfügung.

In dieser Arbeit wird besonderes Augenmerk auf die gemessenen Bilirubin Konzentrationen aus dem Plasma gelegt.

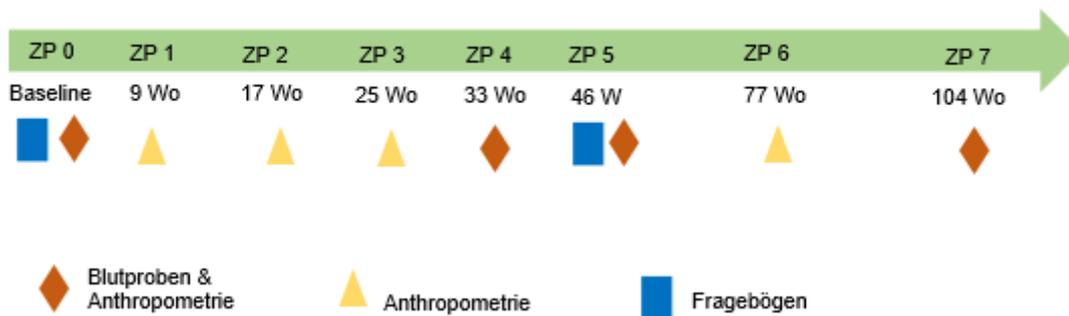
3.1.2.1 Einschluss, - und Ausschlusskriterien

Für die Intervention konnten nur gesunde LehrerInnen mit einer aktiven LKUF - Versicherung und einem BMI zwischen $25 - 40 \text{ kg/m}^2$ teilnehmen. Jeder potentielle Proband musste sich einer medizinischen Untersuchung unterziehen in der bestimmt wurde ob eine Teilnahme in Frage kommt oder nicht. Ausschlusskriterien waren Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Tumorerkrankungen, Diabetes Typ 2 und andere schwere Erkrankungen.

3.1.3 Probennahme

Die Messung der Parameter erfolgte zu Beginn und nach vorgegebenen Zeitpunkten während und nach der Intervention. Es wurde die Körperzusammensetzung mittels Bioimpedanzanalyse (BIA) gemessen und Blutproben entnommen. Zusätzlich mussten die StudienteilnehmerInnen in der ersten Interventionswoche und nach einem Jahr 3 Fragebögen ausfüllen. Die Ernährungsgewohnheiten wurden mittels Food Frequency Questionnaire (FFQ) ermittelt. Zusätzlich wurde eine Erhebung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität durch einen Short Form (36) Gesundheitsfragebogen durchgeführt, und das Beck-Depressions-Inventar (BDI) angewendet. Das BDI erlaubt es die Schwere depressiver Symptome zu erfassen. Die Zeitpunkte der verschiedenen Messungen sind in Abbildung 8 dargestellt.

Runde 1



Runde 2

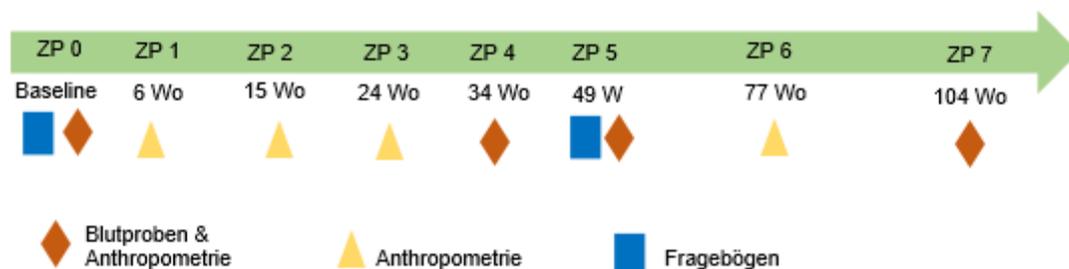


Abbildung 8: Messzeitpunkte Runde 1 und 2

Bilirubin stand mir in Runde 1 und 2 nur zu ZP0, ZP4 und ZP5 zur Verfügung. Deshalb werden nachfolgend die ZP0, ZP4 und ZP5 zu ZP1(Beginn der Studie), ZP2 (Mitte der Studie) und ZP3 (Ende der Studie) zusammengefasst.

3.2 Methoden

Als Nachweismethode von unkonjugiertem Bilirubin wurde die HPLC (High Pressure Liquid Chromatographie) verwendet. Die HPLC Bestimmung ist eine sehr sensitive Methode und schließt Sauerstoff und Licht aus. Sie kann verschiedene Gallenpigmente detektieren – somit auch die Bilirubin Isomere IIIa, IXa und XIIIa. Nachteil dieser Methode ist ihre zeitintensive Verwendung, wobei der Vorteil zu anderen Methoden klar auf der Hand liegt – sie kann auch physiologische Konzentrationsbereiche detektieren [ZELENKA et al., 2008].

3.2.1 HPLC

Prinzip und Aufbau (high pressure liquid chromatography)

Die HPLC ist eine Methode für Trennung, Identifizierung und Quantifizierung von Komponenten in einem Stoffgemisch. Bei der verwendeten Methode handelt es sich um eine Umkehrphasen HPLC (Reverse Phase; RP) Das Prinzip ist dabei die Auftrennung der Stoffe in zwei Phasen, zum einem der polaren mobilen Phase und zum anderen der unpolaren stationären Phase. Die Probe wird in der mobilen Phase gelöst und danach über die stationäre Phase, die sich in einer Säule befindet, unter hohem Druck bewegt. Es kommt danach zu einer Wechselwirkung mit dem Säulenfüllmaterial wobei die einzelnen Komponenten der Probe unterschiedlich schnell wandern. Die einzelnen Stoffe werden dann mit einem Detektor beim Austritt nachgewiesen und in Form einer Kurve wiedergegeben [OTTO, 2000].

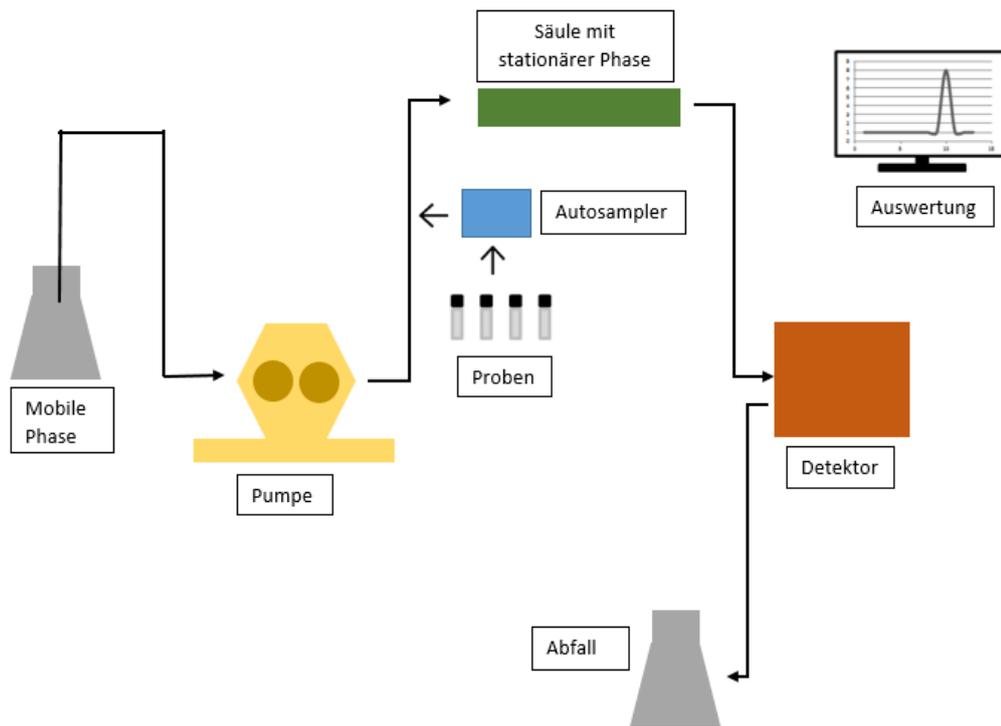


Abbildung 9: Darstellung der Funktionsweise einer High-Performance Liquid Chromatography

Die für die verwendete Methodik notwendigen Geräte sowie Chemikalien sind in den nachfolgenden Tabellen aufgelistet:

High-Pressure Liquid Chromatography	
Pumpe	LaChrom Elite, Hitachi L-2130
Probennehmer	LaChrom Elite, Hitachi L-2200, Auto-Sampler 5 °C, Injection Volumen: 2x20 µL
Ofen	LaChrom Elite, Hitachi L-2300 Säulenofen, Temperatur: 35 °C
Detektor	SPD-M20A, Shimadzu, Photodiodenzeile
Wellenlänge	450 nm. Zelltemperatur: 35 °C
Säule	Fortis F18-050703 HPLC Säule, 4.6 x 150 mm, 3 µm
Durchflussrate	1.0 ml/min
Druck	140-160 bar
Software	EZ Chrome, Hitachi

Tabelle 4: Technische Details der verwendeten HPLC

In den unten angeführten Tabellen sind alle für die HPLC benötigten Chemikalien und weiteren Gebrauchsgegenstände angeführt:

Name	Hersteller	Werknummer
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma Aldrich	D 4540-1 L
Eisessig (Essigsäure, AcOH)	Sigma Aldrich	320099-2,5 L
HPLC Grade Methanol (99,9% Reinheit)	Merck	106007-2,5 L
HPLC grade water	Roth	A511.2-2,5L
Bilirubin (alpha) ($\geq 98\%$; Pulver)	Frontier Scientific	B 4126-1 G
N-dioctylamin (97%)	Sigma Aldrich	D 20 1146-100 G

Tabelle 5: Verwendete Reagenzien

Name	Hersteller
Reaktionsgefäß 1.6ml amber	Biozym Biotech Trading GmbH
Zentrifuge	Eppendorf 5417R
Ultraschallbad	Bandelin Sonorex RK 100

Tabelle 6: Equipment für Proben- und Standardaufbereitung

3.2.2 Herstellung der mobilen Phase (Laufmittel)

Die Herstellung der mobilen Phase wird im folgenden Teil beschrieben. Die hergestellte mobile Phase setzt sich aus 3,5% HPLC Grade Water in 96,5% HPLC Grade Methanol zusammen.

200ml *HPLC Grade Methanol* werden in einen Erlenmeyerkolben überführt und auf einer Waage austariert. Der nächste Schritt muss möglichst rasch erfolgen, da das verwendete *N-Dioctylamin* sehr schnell mit Luft reagieren kann und ausfällt. Es werden 48.4g zum Methanol gemischt. Der Erlenmeyerkolben muss sofort mit Parafilm geschlossen werden, da das Methanol sehr leicht verdampft. Anschließend wird der Erlenmeyerkolben leicht geschwenkt und für 5 Minuten auf Eis gestellt, da es sich hierbei um eine exotherme Reaktion handelt.

Nun wird zum Methanol 12.02 g Eisessig hinzugegeben. Der Kolben wird sofort mit Parafilm verschlossen und noch mal vorsichtig gemischt.

Zu dem Methanol/Dioctylamin/Eisessig Gemisch kommen ca. 500ml Methanol bis zu einem Volumen von etwa 800ml dazu, dieses wird dann in einen 1L Messzylinder überführt. Der Messzylinder sollte bis 930 ml mit Methanol aufgefüllt werden, der Rest sind 72ml *HPLC Grade Water*. Der Messzylinder wird mit einem Stopfen versetzt und 2mal auf den Kopf gedreht, um die Substanzen zu vermischen.

Die hergestellte mobile Phase und ein Liter des reinen HPLC Grade Methanol wird anschließend filtriert, um größere Partikel zu entfernen und in eine Vorratsflasche abgefüllt.

In der nachfolgenden Abbildung wird nochmals die Herstellung der mobilen Phase abgebildet.

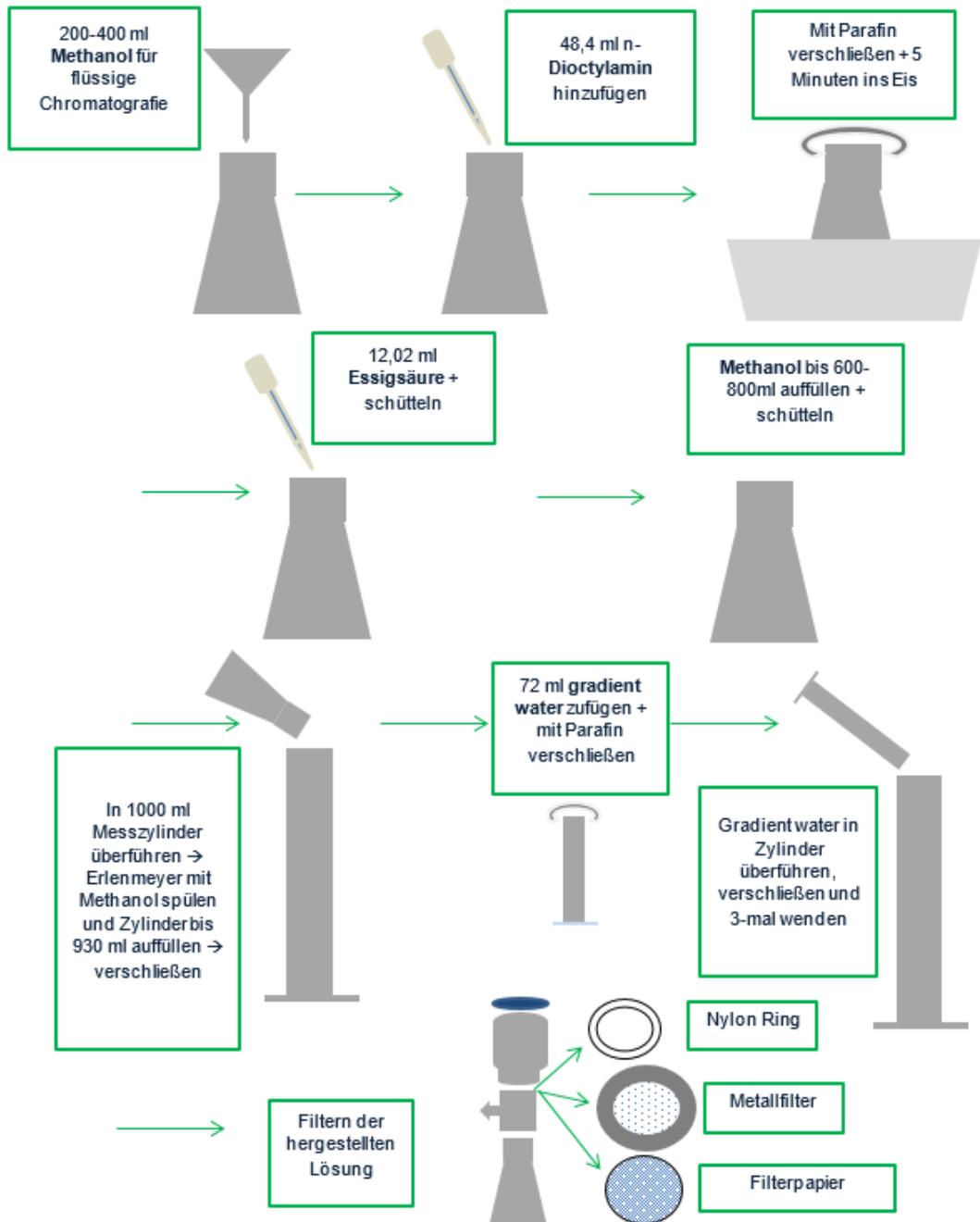


Abbildung 10: Schematische Darstellung der Herstellung der mobilen Phase

3.2.3 Herstellung der Stocklösung (S1)

Um eine 10 millimolare Stocklösung herzustellen werden 3-5 mg Bilirubinpulver (Bilirubin alpha) mit einer Spatel in ein braunes Epi transferiert und abgewogen.

Die genaue Menge wird notiert, um danach über Quick Calcs (<http://graphpad.com/quickcalcs/molarityform.cbm/>) die benötigte DMSO Menge zu berechnen. Nachdem die erforderte Menge DMSO zum Bilirubin Pulver pipettiert wurde, wird dieses für 5min ins Wasserbad (70°C) gestellt und danach für 1min in das Ultraschallbad. Zum Schluss wird der Standard für 30 Sekunden bei 4° und 14000 RPM zentrifugiert. Es werden 2.5µl des Standards in mehrere braune Epi's pipettiert und beschriftet und bei -80°C eingefroren. Um Qualitätsverluste zu vermeiden wurden regelmäßig neue Stocklösungen hergestellt.

3.2.4 Herstellung der Standardlösungen

Die Standardlösungen werden ausgehend der Stocklösung hergestellt.

Verwendete Materialien:

- DMSO (Dimethylsulfoxid)
- mobile Phase
- Standard (S0) 100µl/10mM

Es werden fünf verschiedene UCB-Konzentrationen (50, 25, 12.5, 1.25, 0.75 µmol/L), entsprechend der nachfolgenden Tabelle (Tabelle 8), hergestellt.

Standardverdünnung	Ausgangslösungen	Volumen DMSO (µl)	Konzentration (µmol/L)
S0		-	10000
S1	2.5 µL S0	497,5	50
S2	250 µL S1	250	25
S3	250 µL S2	250	12.5
S4	60 µL S3	440	1.25
S5	250 µL S4	250	0.75

Tabelle 7: Pipettierschema für die Herstellung der Standardverdünnungsreihe

Mit der Formel $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$ kann man nun berechnen wieviel μl notwendig sind um auf eine gewünschte Konzentration zu kommen.

S0 stellt in diesem Falle die Ausgangs- bzw. Stocklösung dar. Um aus dieser (10000 $\mu\text{mol/L}$) eine Verdünnung (S1) mit der Konzentration von 50 $\mu\text{mol/L}$ bei einem erwünschten Volumen von 500 μL zu erhalten, ist folgender Rechengang notwendig:

$$\begin{aligned} 50 \mu\text{mol/L} \cdot 500 \mu\text{L} &= 10000 \mu\text{mol/L} \cdot V_2 \\ V_2 &= (50 \mu\text{mol/L} \cdot 500 \mu\text{L}) / (10000 \mu\text{mol/L}) \\ V_2 &= 2,5 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Um die Standardreihe herzustellen wird zuerst das DMSO lt. Abb. 12 in den braunen Epis vorgelegt, danach werden 2.5 μl der Ausgangslösung in S3 pipettiert und gevortext. Analog dazu gilt für die weiteren Schritte der oben angeführte Rechengang.

In weiteren 5 Epis wird die mobile Phase lt. Schema vorgelegt und jeweils 40 μl von S3 in M3 usw. pipettiert. Es muss dazwischen immer gevortext werden, um die Bilirubin Lösung ideal mit dem Lösungsmittel zu mischen.

Nach Fertigstellung der gewünschten Standards werden je 120 μl von diesen in ein Vial (HPLC Glas) pipettiert und in den Autosampler der HPLC Maschine platziert.

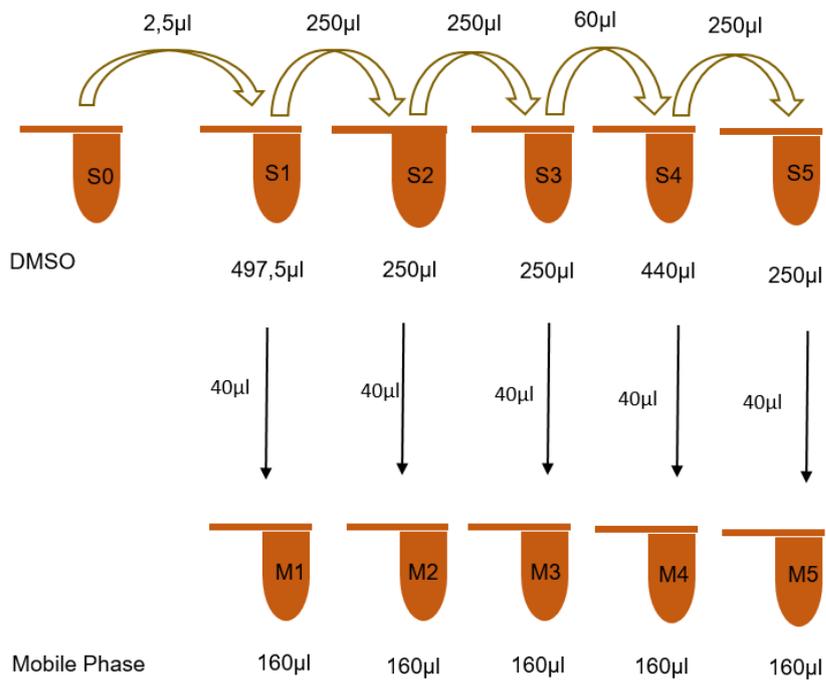


Abbildung 11: Pipettierschema der Bilirubinstandardlösungen

3.2.5 Probenaufbereitung

Bilirubin ist stark licht- und sauerstoffempfindlich, sowie sensitiv gegenüber saurem und alkalischem Milieu, weshalb die Bilirubinbestimmung eine komplizierte Aufgabe ist [Zelenka et al, 2008].

Diese Tatsache macht es notwendig, dass alle Aufbereitungsschritte so schnell wie möglich unter Lichtschutz gemacht werden müssen. Es wurden dazu nur braune Epi's verwendet und immer sofort verschlossen. Die fertigen Proben wurden so schnell wie möglich bei 5°C in den Autosampler der HPLC gestellt.

Bei den Proben handelte es sich um 80µl Serumproben, welche in braunen Epis im Tiefkühlschrank bei -80°C aufbewahrt wurden. 80µl Probe wurden mit 320µl mobiler Phase gemischt. Das Lösungsverhältnis Laufmittel zu den zu analysierenden Proben sollte bei 4:1 liegen. Es wird danach für 30 Sekunden gevortext und 10 Minuten bei 14000 RPM zentrifugiert. Nach dem zentrifugieren bildet sich ein Pellet und es werden 120µl vom Überstand in Vials pipettiert, dabei darf das Pellet nicht zerstört und mit in die Vials übertragen werden.

In weiterer Folge wurden Qualitätskontrollen aus Humanserum erstellt (QC), um konstante Resultate zu gewährleisten. Die QC werden genauso wie die Proben aufbereitet.

3.2.6 Erstellen der Standardgerade

Für die Berechnung der Probenkonzentration wird die AUC der Standards ermittelt und in Excel mit der bekannten Konzentration eine Standardgerade erstellt.

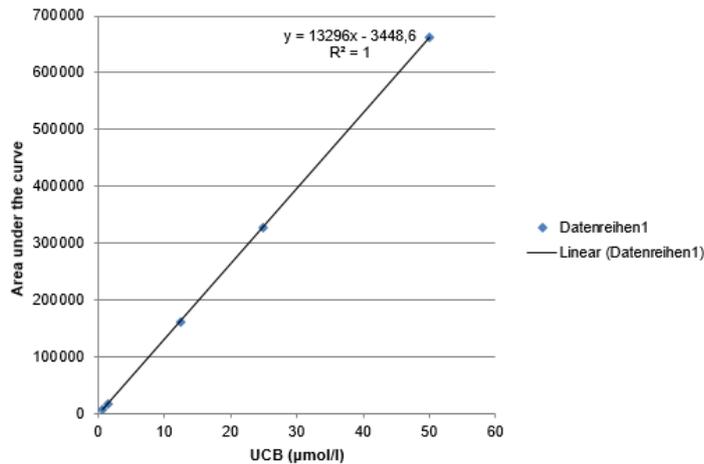


Abbildung 12: Standardgerade

3.2.7 Berechnung der UCB-Konzentrationen der Proben/Kontrollen:

Die AUCs aller Proben/Kontrollen wurden in die Geradengleichung ($y = kx + d$) der Standardgerade im Excel eingesetzt und durch Umformen der Gleichung auf x deren UCB-Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] berechnet.

$$\text{Konzentration } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{AUC IX}\alpha\text{Bilirubin} - \text{Achsenabschnitt}}{\text{Steigung}}$$

3.2.8 Reproduzierbarkeit

Um die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten werden zwei Maße des Variationskoeffizienten (VK) angegeben: den VK innerhalb (Intra) und zwischen (Inter) den einzelnen Analyseergebnissen.

Der VK ist eine Kennzahl, die die Streuung eines Merkmals beschreibt. Man berechnet ihn indem man die Standardabweichung der Messungen einer Probenreihe durch ihren Mittelwert teilt.

Die VKs innerhalb und zwischen den einzelnen Analyseergebnissen betragen 0,94% und 3,70%.

3.2.9 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde mit der IBM SPSS Statistics Version 23 gearbeitet. Zu Beginn wurde eine Prüfung auf Normalverteilung gemacht mittels Kolmogorow-Smirnow Test. Waren die Daten nicht normalverteilt wird der Median angegeben, bei normalverteilten Daten der Mittelwert sowie die Standardabweichung.

Testen auf Unterschied zwischen zwei oder mehr als zwei Gruppen

Da die meisten Daten normalverteilt sind, wurde der T-Test zwischen zwei Gruppen verwendet und um Unterschiede zwischen mehreren Messungen zu überprüfen *die ANOVA mit Messwiederholung*. Bei nicht normalverteilten Daten wurden der *Mann-Whitney-U-*, *Kruskal Wallis-*, *Wilcoxon-* sowie der *Friedman-Test* eingesetzt.

Für alle ermittelten Ergebnisse wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***) gewählt.

Um Zusammenhänge (Korrelationen) zwischen den Daten zu finden wurde bei normalverteilten Daten Pearson-Korrelationskoeffizienten und bei nicht-normalverteilten Daten der Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman verwendet.

Das Signifikanzniveau war bei 95% festgelegt und signifikante Unterschiede sind mit $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***) gekennzeichnet.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Runde 1 und 2

Das Ziel dieser Masterarbeit war zu testen, ob nach einer einjährigen Änderung des Lebensstils eine Veränderung von anthropometrischen Parametern und Lipidparametern, andererseits des Bilirubin Spiegels zu erkennen ist

Da die Auswertung mancher Parameter noch nicht abgeschlossen ist, fehlten für diese Arbeit einige Daten, speziell von den vor kurzen gemessenen Zeitpunkten.

Generell ist zu erwähnen, dass aufgrund der geringen Anzahl an männlichen Teilnehmern in allen weiteren statistischen Auswertungen geschlechtsspezifische Unterschiede nicht behandelt werden.

Nachfolgend sind die deskriptiven Kennwerte aller Parameter wie auf Seite 29 beschrieben zu Beginn der Studie (ZP 1) nach 33 Wochen (ZP 2) und am Ende der Studie (ZP 3) zusammengefasst.

Parameter	ZP 1	ZP 2	ZP 3
Alter	51,2 ± 5,4		
Gewicht*** (kg)	98 ± 11,5	88 ± 11,1	87 ± 12
BMI*** (kg/m ²)	34,8 ± 3,3	31,3 ± 4,1	31 ± 4,4
Bauchumfang*** (cm)	112 ± 7,7	100 ± 10,3	101 ± 11
Hüftumfang*** (cm)	119 ± 9,6	112 ± 8,7 ^a	111 ± 9,1
Triglyceride** (mg/dl)	115 ± 52,9	105 ± 83,7	92 ± 37,3
LDL C* (mg/dl)	159 ± 59,6	154 ± 63,4	153,6 ± 63,4
HDL C** (mg/dl)	54,3 ± 15,7	59,3 ± 15,7	57,2 ± 12,5
Gesamt C* (mg/dl)	236 ± 64,9	234 ± 70,7	224 ± 68,9
HbA1C (%)	5,8 ± 0,5	5,4 ± 0,4	5,6 ± 0,3
UCB* (µmol/l)	8,0 ± 4	5,7 ± 3	7,1 ± 3,5

Tabelle 8: Deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs, MW ± Stdabw.; n=34

*** Gewicht: ZP1 > ZP2 > ZP3; p=0,000, BMI: ZP1 > ZP2 > ZP3; p=0,000, BU: ZP1 > ZP2; p=0,000, Hüftumfang: ZP1 > ZP2; p=0,000

** Triglyceride: ZP1 > ZP3; p=0,010, HDL C: ZP1 < ZP2; p=0,007, UCB: ZP1 > P2; p=0,007

* LDL C: ZP1 > ZP3; p=0,044, Gesamt C: ZP1 > ZP3; p=0,030, UCB: ZP1 > ZP3; p=0,036

^a nur Runde 2

Nachfolgend werden im Ergebnisteil einige Boxplots gezeigt. Die dunkle Linie in der Mitte der Box steht für den Median. Die Ausdehnung der Box entspricht dem Interquartilsabstand. Die Ausdehnung der T-Balken (Whisker) entspricht dem 1,5 fachen Interquartilsabstand. Extremwerte werden mit Punkten, und Ausreißer mit Sternen dargestellt.

4.1.1 Unkonjugiertes Bilirubin

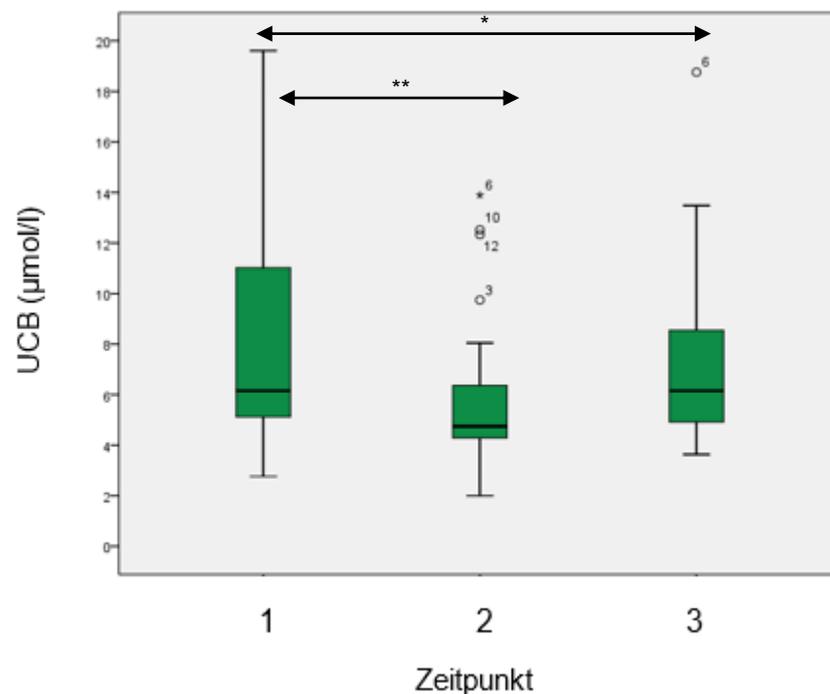


Abbildung 13: UCB-Konzentration des Gesamtkollektivs zu ZP 1-3

**ZP1 > ZP2; p=0007, *ZP1 > ZP3; p=0,036

	Anzahl (n)	UCB Median (µmol/l)	UCB Min - Max (µmol/l)	IQR	25. Perzentile	75. Perzentile
ZP 1	33	6,27	2,76 - 19,61	4,27	5,43	9,70
ZP 2	27	4,73	2,00 - 13,89	2,07	4,73	6,36
ZP 3	30	6,16	3,63 - 18,76	4,04	6,16	8,60

Tabelle 9: Unterschiede der UCB-Konzentrationen zu ZP 1-3

In Abbildung 13 wird die Veränderung der UCB Konzentration im Vergleich Zeitpunkt 1 bis 3 dargestellt. Die UCB Konzentration sank um 1,75% was 0,11µmol/l entspricht. Die Veränderung der Bilirubinkonzentration war signifikant (p=0,036).

Weiters wurde die Studienpopulation in Alterskategorien eingeteilt, und die Gruppen zu den jeweiligen Zeitpunkten auf signifikante Unterschiede getestet.

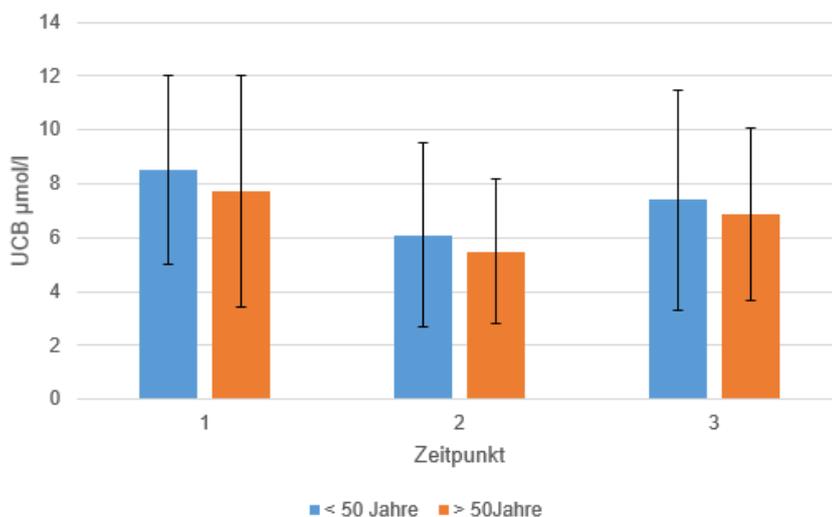


Abbildung 14: UCB-Konzentrationen in Abhängigkeit der Alterskategorien: <50 und >50Jahre zu ZP 1 – 3, MW ± Stdabw.

Zeitpunkt	Alterskategorie	Anzahl	UCB (µmol/l) MW ± Stdabw	p-wert
1	<50	12	8,5 ± 3,5	0,331
	>50	21	7,7 ± 4,3	
2	<50	12	6,1 ± 3,4	0,262
	>50	15	5,5 ± 2,7	
3	<50	12	7,4 ± 4,1	0,553
	>50	18	6,9 ± 3,2	

Tabelle 10: UCB-Konzentrationen nach Alterseinteilung zu ZP 1 – ZP 3

In Tabelle 12 ist ein leichter Trend bezüglich des Verlaufs der UCB-Konzentration zwischen den Altersgruppen erkennbar: die UCB-Konzentrationen der <50jährigen sind leicht höher als der der >50jährigen - der Unterschied war aber zu keinem Zeitpunkt signifikant.

Im Endeffekt ergab die Lebensstilintervention keine signifikante Veränderung der UCB Werte im gesamten Studienkollektiv.

4.1.2 Anthropometrische Daten

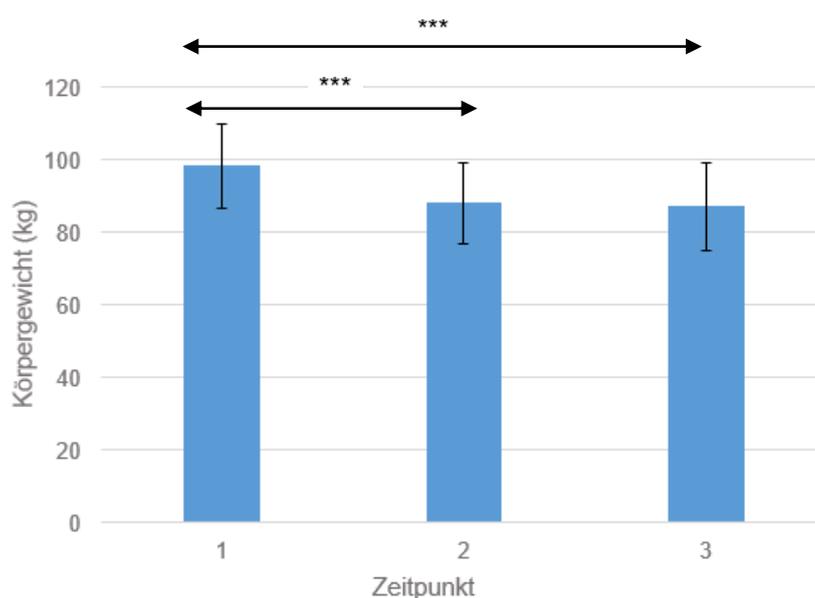


Abbildung 15: Körpergewicht des Gesamtkollektivs (n=34) zu ZP1-3, MW ± Stdbw.
***ZP1 > ZP2 > ZP 3; p=0,000

In Abbildung 14 wird der Körpergewichtsverlauf der Gesamtpopulation vom Beginn der Studie (ZP 1) bis zum Ende der Studie (ZP 3) gezeigt. Die Abnahme des Körpergewichtes von ZP 1 bis ZP 3 ist signifikant (p=0,001). Das Gewicht sank im Durchschnitt um 11kg was einer prozentuellen Abnahme von 11,3% entspricht. Weiterführend wurde ermittelt, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen dem ersten und allen anderen Zeitpunkten hinsichtlich des Körpergewichts innerhalb der gesamten Studienpopulation gab.

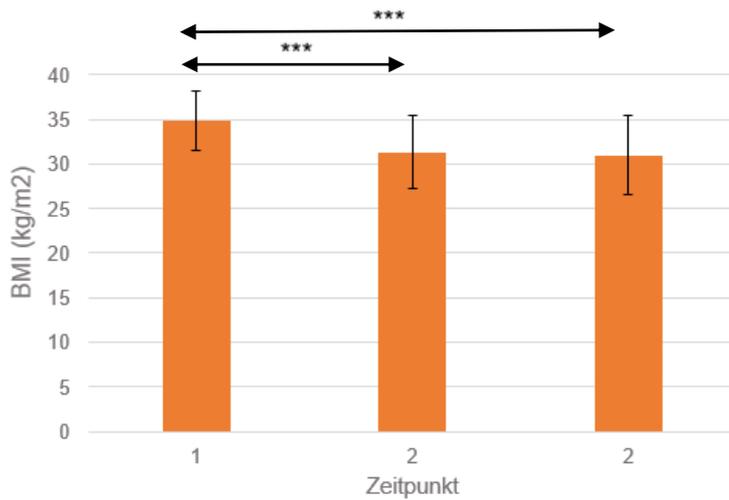


Abbildung 16: Darstellung des BMI der Gesamtpopulation (n=34), MW ± Stdabw.

***ZP1 > ZP2 > ZP 3; p=0,000

Wie beim Gewicht bereits gezeigt, gibt es auch beim BMI eine signifikante Änderung vom Beginn bis zum Ende der Studie, ($p=0,001$) und ebenfalls gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen dem ersten und allen anderen Zeitpunkten hinsichtlich des BMI innerhalb der gesamten Studienpopulation. Die Probanden nahmen im Durchschnitt 4 BMI - Einheiten ab. Das bedeutet, dass sie am Ende der Intervention eher zu Präadipositas tendieren als zu Adipositas Typ 1.

4.1.3 Lipidparameter

In der vorliegenden Studienpopulation sank der LDL-C Spiegel von 159 auf 154 mg/dl. Diese Senkung zwischen den Messungen ist statistisch signifikant ($p=0,044$), und zeigt eine Verbesserung des Lipidprofils. Der Referenzwert für LDL-C in dieser Bevölkerungsgruppe entspricht einer Konzentration bis zu 150 mg/dl [STONE et al., 2014]. Die vorliegende Studienpopulation liegt gesamt betrachtet über diesem Referenzwert.

Das HDL-C stieg leicht an und ist danach wieder von ZP 2 auf ZP 3 gesunken, der Unterschied zwischen ZP1 und ZP2 ist signifikant ($p=0,007$). In der Literatur wird von einem Referenzwert bei Frauen von 35mg/dl und bei Männern von 45mg/dl berichtet [STONE et al., 2014]. Zu Studienende lag das HDL-C bei 57mg/dl und somit deutlich über dem Referenzwert.

Weiterführend wurde ermittelt, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen dem ersten und dem letzten Zeitpunkt hinsichtlich Gesamtcholesterin-C innerhalb der gesamten Studienpopulation gab ($p=0,030$). Es kam insgesamt zu einer Senkung von 12,3mg/dl. Diese Senkung kann nur als positiv gesehen werden, da der Referenzwert von Gesamtcholesterin bei max. 200mg/dl liegt [STONE et al., 2014].

4.1.4 Korrelationen

Tabelle 13 zeigt, dass das Gewicht zu keinem Zeitpunkt signifikant mit der UCB Konzentration korreliert. Hier unterscheiden sich die Ergebnisse mit denen von Anderson et al. – da keine Steigerung der UCB Konzentration mit sinkendem Gewicht bei fortschreitender Intervention gezeigt werden konnte [ANDERSSON et al., 2009].

Es konnte zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Korrelation zwischen UCB und dem BMI beobachtet werden. Der Zusammenhang zwischen dem BMI und der UCB-Konzentration wurde schon in mehreren Forschungsarbeiten beschrieben [WALLNER et al., 2013a; WALLNER et al., 2013b; JENKO-PRAZNIKAR et al., 2013; CHOI et al., 2011]. Dabei konnte auch eine negative Korrelation zwischen BMI und der UCB-Konzentration gezeigt werden [BULMER et al., 2008a, WALLNER et al., 2013c, BOLAND et al., 2014], und ein signifikant niedriger BMI bei Personen mit GS im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne GS [MÖLZER et al., 2016].

Eine signifikante Korrelation zwischen UCB und Bauchumfang und zwischen UCB und dem Hüftumfang konnte zu keinem Zeitpunkt gezeigt werden.

In der nachfolgenden Tabelle werden die Korrelationskoeffizienten zwischen UCB und den anthropometrischen Parametern gezeigt.

	ZP	Gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)	BU (cm)	HüftU (cm)	Signifikanz
UCB (µmol/l)	1	r= 0,260	r= 0,254	r= 0,242	r= -0,147	n.s.
	2	r= 0,074	r= -0,007	r= -0,171	r= -0,084	n.s.
	3	r= 0,039	r= -0,267	r= -0,487	r= 0,618	n.s.

Tabelle 11: Korrelationstabelle UCB – Gewicht/BMI/BU/HüftU

Zu Zeitpunkt 1 und 2 konnte eine signifikant negative Korrelation zwischen der Bilirubinkonzentration und der LDL-Konzentration gezeigt werden. Bulmer et al. (2008) konnten in ihrer Studie von 2008 keinen Unterschied zwischen der GS Gruppe und Kontrollgruppe hinsichtlich der LDL-C Konzentration zeigen [BULMER et al., 2008]. Neuere Beobachtungen zeigen allerdings, dass Personen mit GS unter anderem eine erniedrigte LDL-C Konzentration als die Kontrollgruppe aufweisen [BOON et al., 2012, WALLNER et al., 2013c].

Gesamtcholesterin korreliert ebenfalls mit der UCB-Konzentration zu allen Zeitpunkten, auch diese Ergebnisse spiegeln sich in einigen Arbeiten wieder [VERMA et al., 2005, TAPAN et al., 2011].

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen Bilirubin und TG gefunden werden, hier unterscheiden sich die Ergebnisse mit denen von Mölzer et al. (2016). Sie konnten in der „BiliHealth Studie“ in der Gesamtpopulation einen signifikant niedrigeren TG Spiegel ($p=0,045$) bei Personen mit GS zeigen. Getrennt geschlechtlich gesehen, zeigte sich nur bei den Männern ein signifikant niedriger TG Spiegel in der GS Gruppe ($p=0,023$) [MÖLZER et al., 2016].

In Tabelle 14 werden signifikante Korrelationskoeffizienten zwischen UCB und Lipidparameter zusammengefasst.

	ZP	LDL-C (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	Gesamt-C (mg/dl)	TG (mg/dl)
UCB $\mu\text{mol/l}$	1	$r = -0,658^{***}$	$r = 0,134$	$r = -0,643^{***}$	$r = -0,396$
	2	$r = -0,559^{**}$	$r = 0,212$	$r = -0,445^*$	$r = -0,092$
	3	$r = -0,371$	$r = -0,082$	$r = -0,421^*$	$r = -0,404$

Tabelle 12: Korrelationstabelle UCB – LDL/HDL/Gesamt-C

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Nachfolgend werden Streudiagramme zwischen den oben beschriebenen Korrelationen zu ZP1 und ZP2 dargestellt.

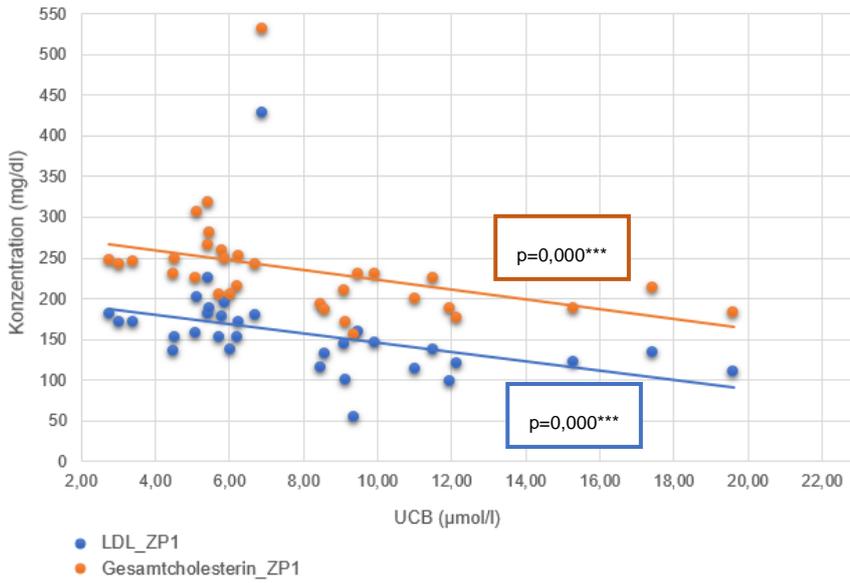


Abbildung 18: Signifikante Korrelation zwischen UCB und LDL/Gesamtcholesterin zu ZP1
 $p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$, $p < 0.001^{***}$

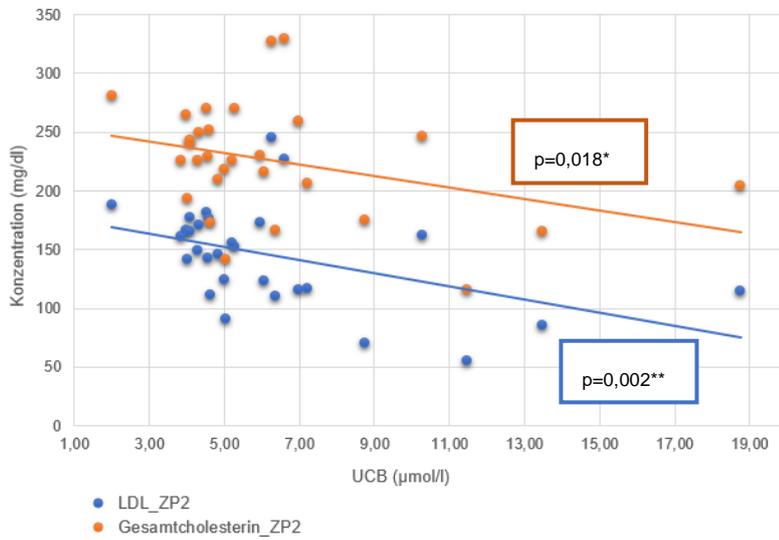


Abbildung 17: Signifikante Korrelation zwischen UCB und LDL/Gesamtcholesterin zu ZP2
 $p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$, $p < 0.001^{***}$

LDL/HDL – Quotient

Der LDL/HDL – Quotient gibt einen guten Überblick über das Risiko an einer Herz-Kreislauf- Krankheit zu erkranken. Ist das Verhältnis ≤ 3 besteht kein erhöhtes Risiko für Atherosklerose.

In der Studie lag der LDL/HDL – Quotient anfangs bei 3,11 und sank auf 2,65. Somit ist eine gute Senkung sichtbar und das Verhältnis wurde deutlich besser.

Es konnte eine signifikante Korrelation mit der UCB Konzentration gefunden werden zu ZP 1 und ZP 2.

	ZP	LDL/HDL - Quotient	Signifikanz
UCB $\mu\text{mol/l}$	1	$r = -0,452$	$p = 0,008^{**}$
	2	$r = -0,674$	$p = 0,000^{***}$
	3	$r = -0,223$	$p = 0,263$

Abbildung 19: Korrelation zwischen UCB und LDL/HDL - Quotient, ZP1 – ZP3
 $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$

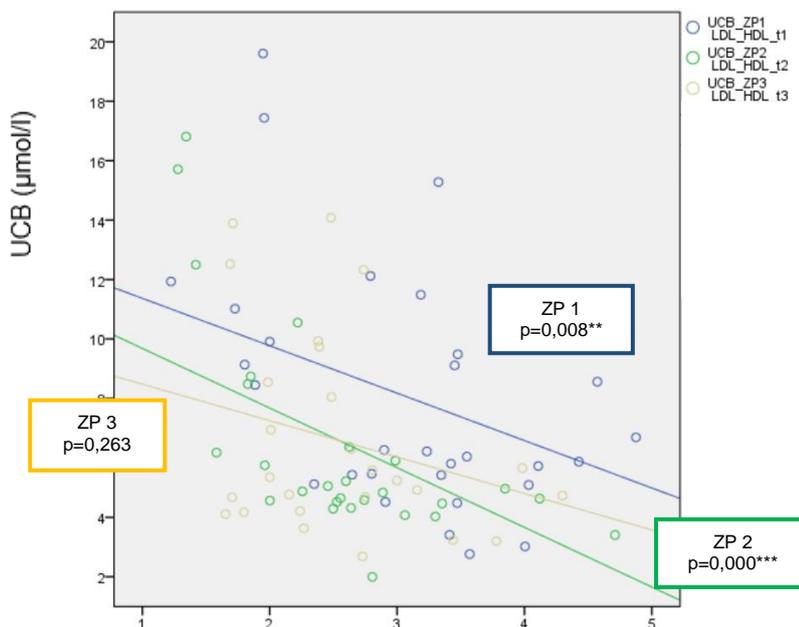


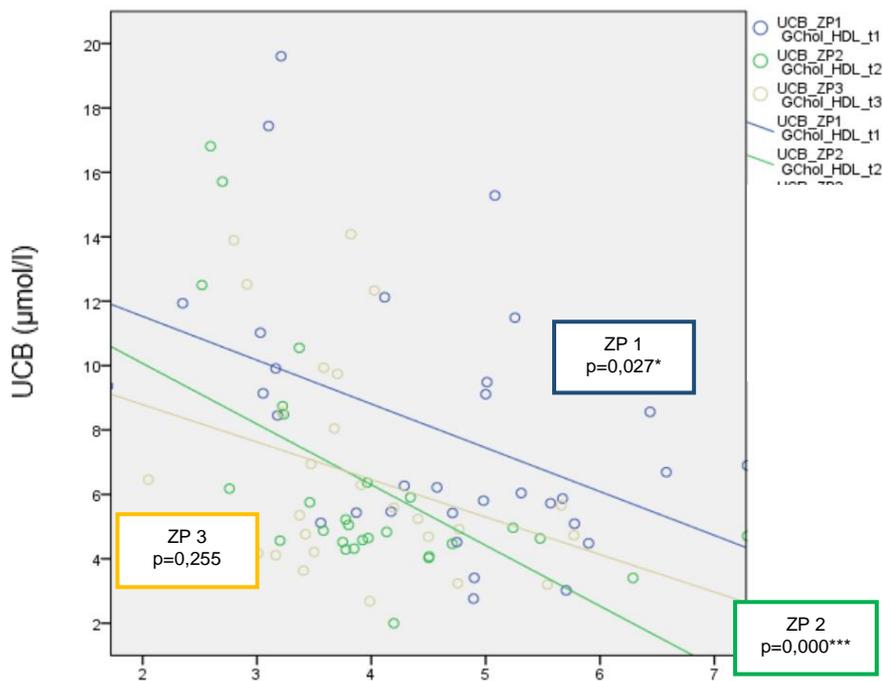
Tabelle 13: Korrelationstabelle UCB – LDL/HDL – Quotient
 $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$

Verhältnis Gesamtcholesterin/HDL-C

Das Verhältnis von Gesamtcholesterin und HDL-C gibt das Risiko einer Gefäßverkalkung an, und sollte zwischen 3 - 5 liegen [ELMADFA, 2012]. Zu Beginn der Studie lag ein Verhältnis von 4,6 vor. Dieses konnte auf 4,0 gesenkt werden, zusätzlich konnte eine signifikante Korrelation zu ZP 1 und 2 zwischen dem Verhältnis und der UCB Konzentration gezeigt werden.

	ZP	Gesamtchol./HDL - Quotient	Signifikanz
UCB μmol/l	1	r= -0,392	p= 0,027*
	2	r= -0,646	p= 0,000***
	3	r= -2,227	p= 0,255

Tabelle 14: Korrelationstabelle UCB – LDL/HDL - Quotient
 $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$



Verhältnis Gesamt,- /HDL – Cholesterin

Abbildung 20: Korrelation zwischen UCB und Gesamt,- /HDL-C Verhältnis, ZP 1 – ZP 3
 $p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$, $p < 0.001^{***}$

4.2 Vergleich Runde 1 und 2

In Tabelle 17 sind die deskriptiven Kennwerte aller Parameter wie auf Seite 29 beschrieben zu Beginn der Studie (ZP 1) und am Ende der Studie (ZP 3) zusammengefasst. Zum Studienstart standen in Runde 1 19 Personen und in Runde 2 15 Personen zur Verfügung.

Parameter	ZP 1 Runde 1	ZP 1 Runde 2	ZP 3 Runde 1	ZP 3 Runde 2
Alter	51,2 ± 5,2	51,1 ± 5,7	51,2 ± 5,2	51,1 ± 5,7
***Gewicht (kg)	96,9 ± 11,1	100,2 ± 12,8	86,9 ± 12,6	87,6 ± 11,8
*Triglyceride (mg/dl)	100,0 ± 45,3	176,9 ± 89,3	93,0 ± 43,4	93,0 ± 34,7
***LDL-C (mg/dl)	150,6 ± 75,4	169,3 ± 25,8	156,1 ± 76,8	137,1 ± 29,6
**HDL-C (mg/dl)	59,0 ± 16,5	48,0 ± 12,8	56,2 ± 12,3	58,6 ± 13,2
***Gesamt-C (mg/dl)	229,6 ± 81,7	244,5 ± 31,5	230,7 ± 85,7	213,9 ± 36,8
HbA1C (%)	5,5 ± 0,7	6,0 ± 0,0	5,5 ± 0,3	5,6 ± 0,3
**UCB (µmol/l)	11,0 ± 5,2	5,1 ± 1,6	8,9 ± 4,5	5,7 ± 1,0

Tabelle 15: Deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs aufgeteilt in Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15), MW ± Stdabw.

***** Gewicht Runde 1 und 2:** ZP1 > ZP3; p=0,000, **LDL Runde 2:** ZP1 > ZP3; p=0,000, **Gesamt C Runde 2:** ZP1 > ZP3; p=0,000

**** HDL Runde 2:** ZP1 < ZP3; p=0,002, **UCB:** ZP1 > ZP3; p=0,002

*** TG Runde 2:** ZP1 > ZP3; p=0,011

4.2.1 Unkonjugiertes Bilirubin

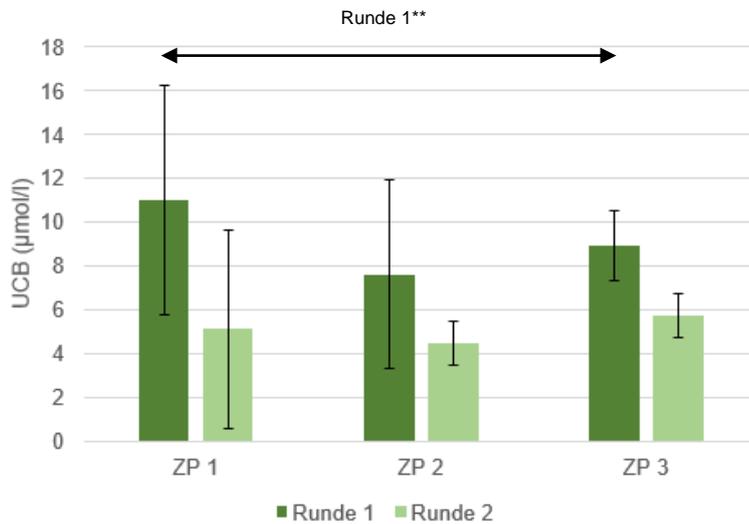


Abbildung 21: Darstellung der UCB-Konzentration getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW ± Stdabw. **ZP1 > ZP3; p=0,002

Runde 1 zeigt deutlich höhere Konzentrationen als Runde 2, jedoch kam es in Runde 1 zu einer Abnahme der UCB Konzentration um 2,1µmol/l während die Konzentration bei Runde 2 um 0,6µmol/l nicht signifikant gestiegen ist. Die Veränderung der UCB Konzentrationen war nur in Runde 1 signifikant.

4.2.2 Anthropometrische Daten

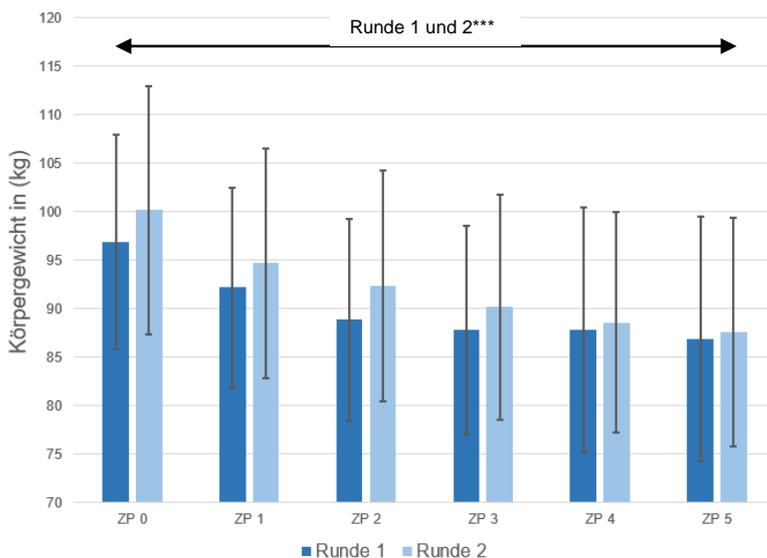


Abbildung 22: Gewichtsverlauf getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 0 - 5, MW ± Stdabw. *ZP0 > ZP3; p=0,000**

Bei Gewicht,- und BMI Verlauf wurden alle Zeitpunkte miteinbezogen, die gemessen wurden.

Bei beiden Runden kann man eine sehr gute Gewichtsabnahme erkennen. Die Abnahme betrug in Runde 1 8,8kg und in Runde 2 12,6kg. Die Abnahme war in beiden Runden signifikant.

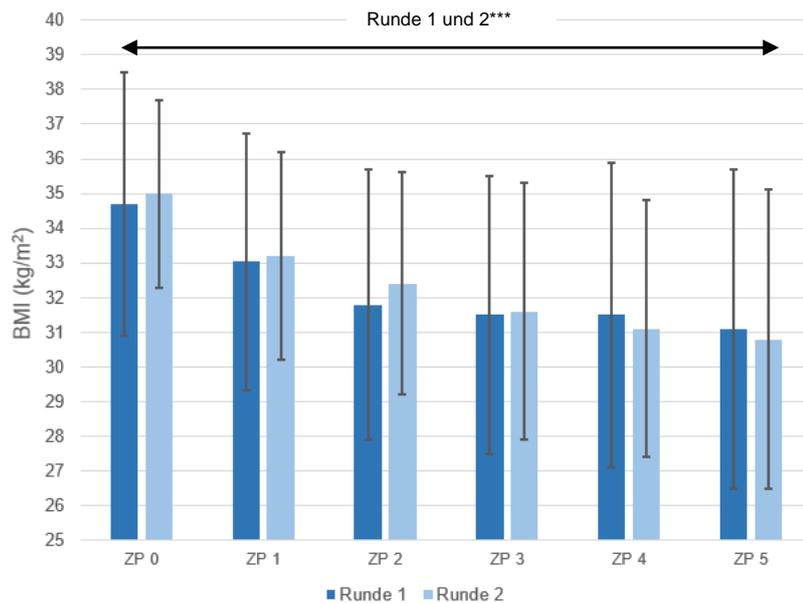


Abbildung 23: Darstellung des BMI getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 0 - 5, MW ± Stdabw.
***ZP0 > ZP3; p=0,000

Der BMI konnte in Runde 1 um 3,5 BMI Einheiten und in Runde 2 um 4,0 BMI Einheiten verringert werden. Somit sinkt auch das Risiko an einer Herz-Kreislauf-Erkrankung zu erkranken. Die Senkung des BMI ist bei beiden Gruppen signifikant.

4.2.3 Lipidparameter

Runde 1 zeigt eine Abnahme des HDL-C um 2,1mg/dl während Runde 2 eine Zunahme von 10,6mg/dl hatte, diese Zunahme war auch signifikant.

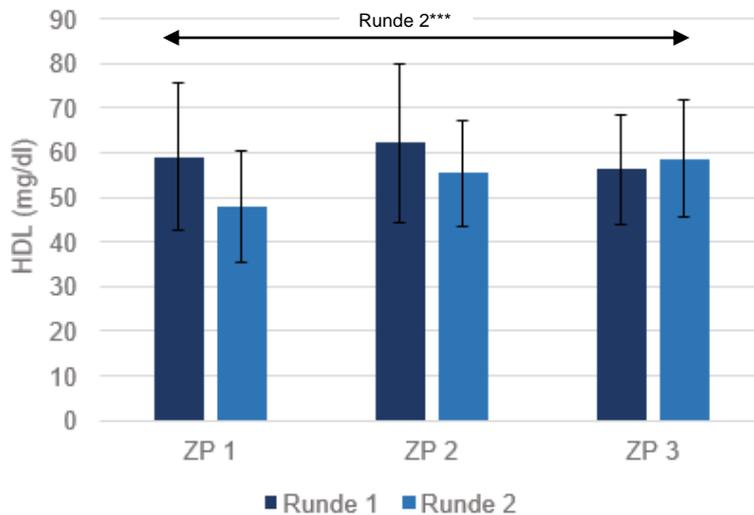


Abbildung 24: Vergleich von HDL getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW \pm Stdabw.
***ZP0 > ZP3; p=0,000

Das LDL-C in Runde 1 hat sich nicht signifikant geändert. Es kam zu einer Zunahme von 5,5mg/dl. In Runde 2 hingegen gibt es eine signifikante Abnahme um 32,2mg/dl.

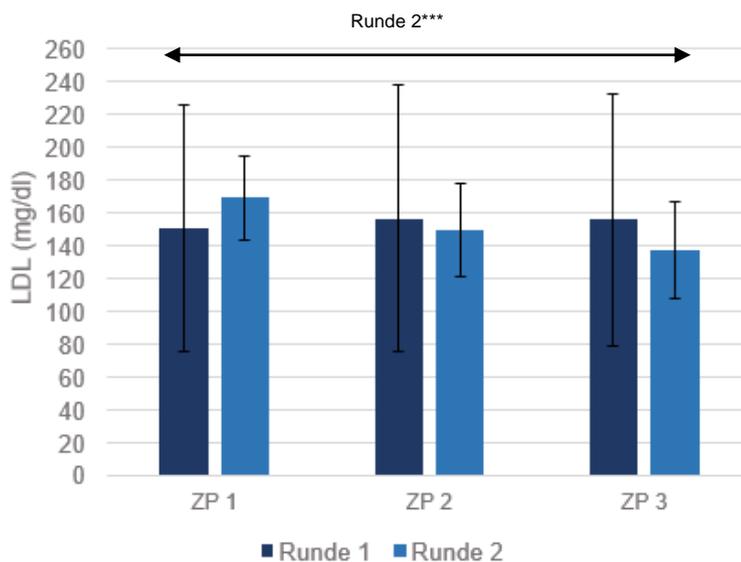


Abbildung 25: Darstellung LDL getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW \pm Stdabw.
***ZP0 > ZP3; p=0,000

Ähnliches ist beim Gesamtcholesterin zu beobachten, es gibt keine signifikante Änderung in der Konzentration in Runde 1. Runde 2 hingegen zeigte eine Senkung des Gesamtcholesterins um 12,5%.

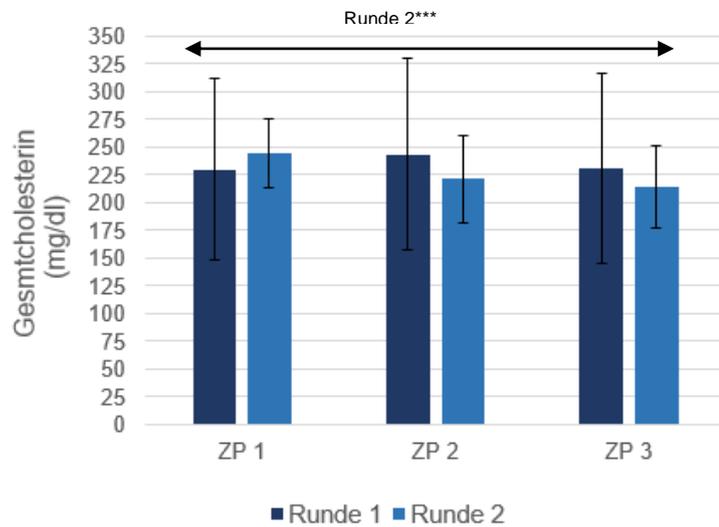


Abbildung 26: Darstellung Gesamtcholesterin getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW ± Stdabw.
 ***ZP0 > ZP3; p=0,000

In Runde 2 konnte die Triglyzerid-Konzentration fast halbiert werden. Die Abnahme beträgt 47% und ist signifikant. In Runde 1 hingegen gab es keine große Veränderung weshalb der Unterschied zwischen den Zeitpunkten nicht signifikant ist.

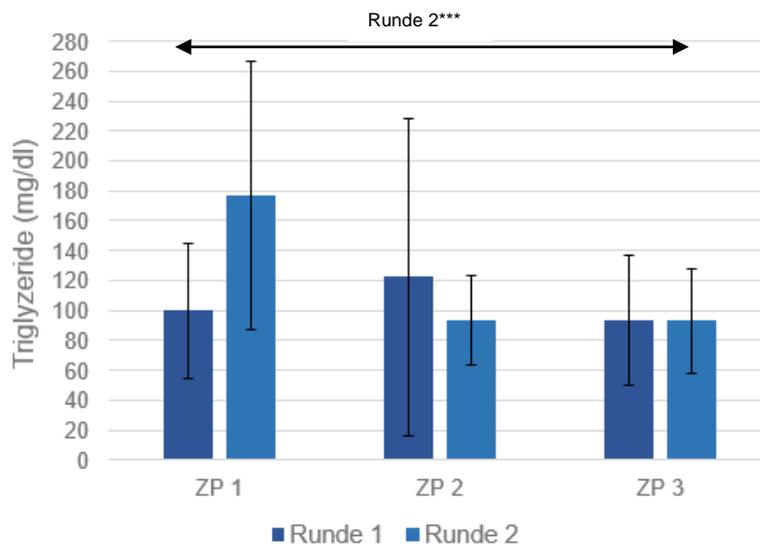


Abbildung 27: Darstellung Triglyzeride getrennt nach Runde 1 (n=19) und Runde 2 (n=15) zu ZP 1 - 3, MW ± Stdabw.
 ***ZP0 > ZP3; p=0,001

4.2.4 Korrelationen

In Runde 1 konnten Korrelationen zwischen der UCB-Konzentration und dem Lipidprofil gefunden werden. Demnach korreliert das LDL stark negativ mit der UCB Konzentration zu ZP1 ($r=-0,643$; $p=0,024$), ebenfalls zu ZP 2 ($r=-0,867$; $p=0,000$) und ZP3 ($r=-0,734$; $p=0,007$).

Ähnliche Beobachtungen konnte man zwischen UCB und Gesamtcholesterin finden. Das Gesamtcholesterin korreliert stark negativ zu ZP1 ($r=-0,588$; $p=0,044$), gleichfalls zu ZP2 ($r=-0,797$; $p=0,002$) und ZP 3 ($r=-0,720$; $p=0,008$).

In Runde 2 konnte nur eine Korrelation zwischen der Bilirubinkonzentration und den gemessenen anthropometrischen Daten gezeigt werden. So korreliert der BMI ($r=-0,727$; $p=0,007$), Bauchumfang ($r=-0,804$; $p=0,002$) und Hüftumfang ($r=-0,664$; $p=0,018$) zu ZP3 signifikant mit der UCB-Konzentration.

Zusammenfassend konnte man bei den anthropometrischen Parametern eine sehr ähnliche Veränderung im Laufe der Intervention beobachten. Runde 1 und Runde 2 unterschieden sich nicht großartig.

Das Lipidprofil zeigte jedoch gegensätzliche Ergebnisse – während in Runde 1 teilweise keine Veränderung zu beobachten war, konnten in Runde 2 die Lipidparameter sehr gut verbessert werden.

Die Bilirubinkonzentration zeigte in Runde 1 höhere Ausgangswerte – dies ist im Laufe der Intervention gesunken. In Runde 2 konnte eine Erhöhung der Bilirubinkonzentration gezeigt werden – diese war aber nicht signifikant.

In Runde 2 konnte somit ein leichter Trend gefunden werden, der bei Senkung des Gewichts und Verbesserung des Lipidprofils mit einer Erhöhung der Bilirubinkonzentration einhergeht.

5 Schlussbetrachtung

In der vorliegenden Studie kommt man nach der statistischen Auswertung aller verfügbaren gemessenen Parameter zu dem Erkenntnis, dass die angewandte Lebensstilintervention eine signifikante Veränderung der UCB-Konzentration mit sich bringt. Über alle Zeitpunkte der Intervention konnte eine signifikante ($p=0,036$) Veränderung der Bilirubin Werte für beiden unabhängigen Runden zusammen beobachtet werden. Diese war bei Einzelbetrachtung der Runden nur mehr in Runde 1 signifikant ($p=0,002$).

Die Hypothese, dass es eine signifikante Erhöhung der UCB Konzentration von Beginn bis zum Ende der Studie gibt, kann nicht bestätigt werden, in Runde 2 gab es zwar eine leichte Erhöhung – diese war jedoch nicht signifikant.

Die von Anderson et al. (2009) gefundenen signifikanten Korrelationen zwischen Bilirubin und einer Gewichtsabnahme kann in dieser Arbeit nicht gezeigt werden.

Es konnte zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Korrelation zwischen UCB und dem BMI beobachtet werden, auch hier unterscheiden sich die Ergebnisse VON anderen Literaturquellen (Wallner et al., 2013a; Wallner et al., 2013b; Jenko-Praznikar et al., 2013; Choi et al., 2011).

Es konnte eine signifikant negative Korrelation zu Zeitpunkt 1 und 2 zwischen Bilirubin und LDL ($r=-0,600$; $p<0,01$) und zwischen Bilirubin und Gesamtcholesterin ($r=-0,494$; $p<0,05$) zu allen Zeitpunkten gezeigt werden.

Diese Zusammenhänge spiegeln sich schon in einer Vielzahl von anderen Studienergebnissen wieder (Verma et al., 2005, Tapan et al., 2011, Wallner et al., 2013, Bulmer et al., 2008a, Stockner, 2004).

Weitere Ergebnisse der Arbeit sind die signifikanten Abnahmen aller gemessener anthropometrischer Parameter, zusätzlich kam es zu signifikanten Änderungen von HDL-C und der Triglyzerid-Konzentration.

Zu den Limitationen dieser Arbeit gehören die kleine Personenanzahl und die teilweise fehlenden Daten zu den verschiedenen Messzeitpunkten.

Es konnten einige Veränderungen gezeigt werden – diese sind möglicherweise aufgrund der kleinen Teilnehmerzahl nicht signifikant ausgeprägt.

Abschließend bleibt zu erwähnen, dass die Datenlage bezüglich Veränderungen der Bilirubinkonzentration während bzw. nach einer Gewichtsabnahme mangelhaft ist und aus diesem Grund weiterer Forschungsbedarf für populationsbasierte Studien herrscht.

6 Zusammenfassung

Das primäre Ziel des einjährigen multidisziplinären Interventionsprogrammes der Oberösterreichischen Lehrer- Kranken- und Unfallfürsorge (LKUF) war die Auswirkung auf das Gewichtsmanagement.

Ziel dieser Arbeit ist es zu erforschen, ob es im Rahmen der Intervention eine signifikante Veränderung des Bilirubin Spiegels während bzw. nach einer Gewichtsabnahme gibt und ob es signifikante Zusammenhänge zwischen der Bilirubinkonzentration und anderen anthropometrischen Parameter und dem Lipidprofil gibt. Diese Hypothese wurde aufgestellt da es bereits Studien gibt, die zeigen, dass die Bilirubinkonzentration mit einer Gewichtsabnahme steigt und mit Lipidparametern korreliert.

Zu diesem Zweck wurden oberösterreichische LehrerInnen rekrutiert. Es nahmen insgesamt 34 Personen teil. Die Intervention wurde über 1 Jahr hinweg in 2 unabhängigen Runden vollzogen. Die gesammelten Serumproben der Probanden wurden aufgearbeitet und mittels HPLC die UCB-Konzentrationen ermittelt.

Ein Zusammenhang zwischen Bilirubinkonzentration und einer Gewichtsabnahme wurde nicht gefunden.

Es war eine Tendenz eines negativen Zusammenhanges zwischen Bilirubin und LDL-C zu allen gemessenen Zeitpunkten zu sehen. Weiters konnte eine negative Korrelation zwischen der UCB-Konzentration und dem LDL/HDL – Quotient ($r=-0,563$; $p<0,01$) gezeigt werden. Zusätzlich gab es einen schwach negativen signifikanten Zusammenhang mit dem Gesamtcholesterin-C/HDL-C Verhältnis ($r=-0,519$; $p<0,05$).

Bis auf die Korrelation des HDL-C mit Bilurubin konnte keine konstante signifikante Korrelation über alle Zeitpunkte zwischen der UCB-Konzentration und dem restlichen Lipidprofil gefunden werden.

Weitere Ergebnisse durch die Intervention zu einer signifikanten Abnahme des Körpergewichts, des Bauch,- und Hüftumfanges kam. Außerdem haben sich

alle Lipidparameter verbessert; bei den Triglyzeriden konnte eine signifikante Abnahme und beim HDL-C eine signifikante Zunahme beobachtet werden.

Die aufgestellte Hypothese, dass sich die Bilirubinplasmakonzentration während bzw. nach einer Lebensstilintervention verändert, konnte nicht bestätigt werden.

7 Summary

The primary objective of the one-year multidisciplinary intervention program of the Upper Austrian Teaching Hospital and Accident was to investigate its impact on the weight management.

The aim of this work was to investigate whether there is a significant change in bilirubin levels during or after a weight loss, and if there are significant correlations between the bilirubin concentration and anthropometric parameters and the lipid profile.

There are already studies showing that bilirubin concentrations increase with a decrease in weight and correlates with lipid parameters.

Upper Austrian teachers were recruited. In total, 34 subjects completed the study and gave blood samples and anthropometric parameters were measured.

The duration of the intervention was over one year, and there were 2 independent rounds. The collected serum samples of the volunteers were treated and the UCB-concentration was determined with reversed phase HPLC.

A link between bilirubin concentration and a weight loss was not found within the study.

However, there was a tendency for a negative correlation between the UCB-concentration and LDL cholesterol. Furthermore, a negative correlation between the UCB-concentration and LDL/HDL-ratio ($r=-0,563$; $p<0,01$) could be shown. In addition, there was a weak but significant negative correlation with the total HDL / cholesterol ratio ($r=-0,519$; $p<0,05$). Except for LDL cholesterol - no constant significant correlation could be found over all time points between the UCB concentration and the other lipid parameters. Finally, it could be shown that the intervention resulted in a significant decrease in body weight, abdominal and waist circumference.

In addition, all lipid parameters have improved, the triglycerides showed a significant decrease and the HDL cholesterol a significant increase. The hypothesis that bilirubin levels change during or after lifestyle interventions could not be confirmed.

8 Literaturverzeichnis

ANDERSSON C, WEEKE P, FOSBØL EL, BRENDORP B, KØBER L, COUTINHO W, SHARMA AM, VAN GAAL L, FINER N, JAMES WP, CATERSON ID, RODE RA, TORP-PEDERSEN C. Acute effect of weight loss on levels of total bilirubin in obese, cardiovascular high-risk patients: an analysis from the lead-in period of the Sibutramine Cardiovascular Outcome trial. *Metabolism Clinical and Experimental* 58, 2009;1109-1115

ARIMOTO S, KAN-YAMA K, RAI H, HAYATSU H. Inhibitory effect of hemin, chlorophyllin and related pyrrole pigments on the mutagenicity of benzo[a]pyrene and its metabolites. *Mutation Research*, 1995;345:127-135.

BERGAMINI CM, GAMBETTI S, DONDI A, CERVELATTI C. Oxygen, reactiveoxygen species and tissue damage. *Current pharmaceutical biotechnology*, 2004;10(14):1611-1626.

BERGMANN K, PACHOTA E, ODROWAZ-SYPNIEWSKA G. Association of serum total bilirubin with traditional and novel cardiovascular risk factors in apparently healthy subjects. *Folia Medica Copernicana*, 2015;3(1):26–31.

BERNHARD K, RITZEL G, STEINER KU. The biological importance of bile pigments. Bilirubin and biliverdin as antioxidants for vitamin A and essential fatty acids. *Helvetica Chimica*, 1954;37:306-313.

BESTE K. Bilirubin, ein potentielles Antioxidans. Institut für Ernährungswissenschaften. Wien, 2003.

BISHT K, TAMPE J, SHING C, BAKRANIA B, WINEARLS J, FRASER J, WAGNER KH, BULMER AC. Endogenous tetrapyrroles influence leukocyte responses to lipopolysaccharide in human blood: pre-clinical evidence demonstrating the anti-inflammatory potential of biliverdin. *Journal of Clinical and Cellular Immunology*, 2014; 5: 1000218.

BLANCKAERT N. Bilirubin and its carbohydrate conjugates. *Liquid Chromatography in clinical analysis*, 1981;355-379.

BOLAND BS, DONG MH, BETTENCOURT R, BARRETT-CONNOR E, LOOMBA R. Association of serum bilirubin with ageing and mortality. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 2014;4:1–7.

BOON AC, HAWKINS CL, BISHT K, BAKRANIA B, COOMBES JS, WAGNER KH, BULMER AC. Reduced circulating oxidized ldl is associated with hypocholesterolemia and enhanced thiol status in gilbert's syndrome. *Free Radical Biology and Medicine*, 2012; 52: 2120 – 2127.

BRODERSEN R. Bilirubin solubility and interaction with albumin and phospholipid. *The Journal of biological chemistry*, 1979;254(7):2364-2369.

BROWER JO, LIGHTNER DA, MCDONAGH AF. Aromatic congeners of bilirubin: synthesis, stereochemistry, glucuronidation and hepatic transport. *Tetrahedron*, 2001;57(37):7813-27.

BULMER AC, BLANCHFIELD JT, COOMBES JS, TOTH I. In vitro permeability and metabolic stability of bile pigments and the effects of hydrophilic and lipophilic modification of biliverdin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2008;16:3616-3625.

BULMER AC, RIED K, BLACHFIELD JT, WAGNER KH. The anti-mutagenic properties of bile pigments. *Mutation Research*, 2008b; 658: 28 – 41.

BULMER AC, VERKADE HJ, WAGNER KH. Bilirubin and beyond: A review of lipidstatus in Gilbert's syndrome and its relevance to cardiovascular disease protection. *Progress in Lipid Research*, 2013; 52: 193 – 205.

CHOWDHURY NR, ARIAS IM, WOLKOFF AW, CHOWDHURY JR. Disorders of bilirubin metabolism. In: *The Liver: Biology and Pathobiology*. 5. Edition (Arias IM). Wiley Blackwell, 2009;292-305.

DEETMAN PE, BAKKER SJL, DULLAART RPF. High sensitive C-reactive protein and serum amyloid A are inversely related to serum bilirubin: effect-modification by metabolic syndrome. *Cardiovascular Diabetology*, 2013;12:166-174.

DUDNIK LB, TSYUPKP AN, KHRENOV AV, ALESSENKO AV. Effect of bilirubin on lipid peroxidation, sphingomyelinase activity, and apoptosis induced by sphingosine and UV irradiation. *Biochemistry (Moscow)*, 2001;66:1019-1027.

ELMADFA I, FREISLING H, NOWAK V, HOFSTÄDTER D. Österreichischer Ernährungsbericht 2008. Bundesministerium für Gesundheit. 1. Auflage, Wien, 2009;26-28.

ELMADFA I. Österreichischer Ernährungsbericht 2012. Bundesministerium für Gesundheit. 1.Auflage Wien, 2012;123-125.

FEVERY J. Bilirubin in clinical practice: a review. *Liver International*, 2008;592-605.

HALLIWELL B, GUTTERRIDGE JMC. Free radicals in biology and medicine. Free radical biology and medicine, 1992;12(1):93-5.

HEIRWEGH KPM, FEVERY J, BLANCKAERT N. Chromatographic analysis and structure determination of biliverdins and bilirubins. Journal of chromatography, 1989;496(1):1-26.

HUNT S, KRONENBERG F, ECKFELDT J, HOPKINS P, HEISS G. Association of plasma bilirubin with coronary heart disease and segregation of bilirubin as a major gene trait: the NHLBI family heart study. In: Atherosclerosis 154, 2001;747-754.

HUXLEY R, MENDIS S, ZHELEZNYAKOV E, REDDY S, CHAN J. Body mass index, waist circumference and waist:hip ratio as predictors of cardiovascular risk – a review of the literature. European Journal of Clinical Nutrition, 2010;64:16-22.

JANSEN T UND DAIBER A. Direct Antioxidant Properties of Bilirubin and Biliverdin. Is there a Role for Biliverdin Reductase? Front Pharmacol, 2012; 3:30.

JENKO-PRAZNIKAR Z, PETELIN A, JURDANA M, ZIBERNA L. Serum bilirubin levels are lower in overweight asymptomatic middle age adults: an early indicator of metabolic syndrome? Metabolism Clinical and Experimental, 2013: 976–985.

YUMUK V, TSIGOS C, FRIED M, SCHINDLER K, BUSETTO L, MICIC D, TOPLAK H. European Guidelines for Obesity Management in Adults. Obesity

Fact-The European Journal of Obesity, Obes Facts, 2015;8:402–424.
(<https://www.karger.com/Article/Pdf/442721>)

KAMISKAO T. What is Gilbert's syndrome? Lesson from genetic polymorphisms of UGT1A1 in Gilbert's syndrome from Asia. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2004;19:955-957.

KAPITULNIK J, MAINES MD. Pleiotropic functions of biliverdin reductase: cellular signaling and generation of cytoprotective and cytotoxic bilirubin. Trends in Pharmacological Sciences, 2008;30:129-137.

KAPITULNIK J. Bilirubin: An endogenous product of heme degradation with both cytotoxic and cytoprotective properties. Molecular Pharmacology, 2004;66:773-779.

KOOLMAN J, RÖHM KH. Stoffwechsel, In: Taschenatlas Biochemie 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2002;194-195, 256.

KRAEMER D, SCHEURLEN M. Morbus Gilbert und Crigler-Najjar-Syndrom Typ I und II beruhen auf Mutationen im selben Genlocus UGT1A1. Medizinische Klinik, 2002;97(9):528-532.

KUNZE D, WABITSCH M. Arbeitsgemeinschaft im Kindes und Jugendalter (AGA), München, 2008

LÖFFLER E, PETRIDES PE, HEINRICH PC. Untersuchung der antikanzerogenen Wirkung von Biliverdin, Biliverdin-Dimethylester, Stercobilin und Urobilin auf HepG2-Zellen. Biochemie & Pathobiochemie. 8. Auflage. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2007;621-7.

LÖFFLER G, PETRIDES PE. Biochemie und Pathobiochemie. Springer Verlag, Berlin, 2007;608-627.

MADHAVAN M, WATTIGNEY W, SRINIVASAN S, BERENSON G. Serum bilirubin distribution and its relation to cardiovascular risk in children and young adults. *Atherosclerosis*, 1997;131:107-113.

MCPHEE F, CALDERA PS, BEMIS GW, MCDONAGH AF, KUNTZ ID, CRAIK CS. Bile pigments as HIV-1 protease inhibitors and their effects on HIV-1 viral maturation and infectivity in vitro. *Biochemical Journal*, 1996;320:681-686.

MÜHLBACHER A, BETHGE S, GRÄBER S. Gesundheitsökonomische Betrachtung der Adipositas. *Innovationszentrum Technologien für Gesundheit und Ernährung (IGE)*, Berlin, 2011;14

MÖLZER C, WALLNER M, Kern C, TOSEVSKA A, SCHWARZ U, ZADNIKAR R, DOBERER R, MARCULESCU R, WAGNER KH. Features of an altered AMPK metabolic pathway in Gilbert's Syndrome, and its role in metabolic health. *Sci. Rep*, 2016; 6, 30051; doi: 10.1038/srep30051.

MÖLZER C, WALLNER M, KERN C, TOSEVSKA A, ZADNIKAR R, DOBERER D, MARCULESCU R, WAGNER KH. Characteristics of the heme catabolic pathway in mild unconjugated hyperbilirubinemia and their associations with inflammation and disease prevention. *Sci. Rep*, 2017; 7:755; doi:10.1038/s41598-017-00933-y.

STONE N, ROBINSON J, LICHTENSTEIN A, MERZ C. N.B, BLUM C, ECKEL R, GOLDBERG A, GORDON D, LEVY D, LLOYD-JONES D, MCBRIDE P, SCHWARTZ J.S, SHERO S, SMITH S, WATSON K, WILSON P. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.*; 2014; 63(25 Pt B):3024-3025.

ÖLLINGER R, KOGLER P, TROPFMAIR J, HERMANN M, WURM M, DRASCHE A, KÖNIGSRAINER I, AMBERGER A, WEISS H, ÖFNER D, BACH FH, MARGREITER R. Bilirubin Inhibits Tumor Cell Growth via Activation of ERK. *Cell Cycle*, 2007; 6:3078-3085.

ONG KL, ALLISON MA, CHEUNG BMY, WU BJ, BARTER PJ, RYE KA. The Relationship between Total Bilirubin Levels and Total Mortality in older Adults: The United States national health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999 – 2014 *PIOS ONE*, 2014; 9: e94479.

OTTO M. Analytische Chemie. 2.Auflage. WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002

PUDEL V. Adipositas. Fortschritte der Psychotherapie;19. Göttingen Hogrefe, Verl. für Psychologie, 2003

REINER Z, CATAPANO AL, DE BACKER G, GRAHAM I, TASKINEN MR, WIKLUND O, AGEWALL S, ALEGRIA E, CHAPMAN MJ, DURRINGTON P, ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J*, 2011; 32:1769–1818.

RIED K. Possible antimutagenic and antioxidative effects of bile pigments in the Ames Salmonella assay. Institut für Ernährungswissenschaften, Wien, 2006.

SILBERNAGL S, DESPOPOULOS A. Taschenatlas der Physiologie. 6.Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2003.

STOCKER R, AMES BN. Potential role of conjugated bilirubin and copper in the metabolism of lipid peroxides in bile. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1987; 84:8130-8134.

STOCKER R, MC DONAGH A, GLAZER A, AMES B. Antioxidant activities of bile pigments: biliverdin and bilirubin. In: Methods in Enzymology, 1990;186/31:301-309.

STOCKER R. Antioxidant activities of bile pigments. Antioxidants and Redox-Signaling, 2004; 6:841-849.

STRASSBURG CP. Hyperbilirubinaemia syndromes (Gilbert-Meulengracht, Crigler-Najjar, Dubin-Johnson and Rotor syndrome). Best Practice and Research Clinical Gastroenterology, 2010;24:555-571.

TAPAN S, KARADURMUS N, DOGRU T, ERCIN CN, TASCI I, BILGI C, KURT I, ERBIL MK. Decreased small dense LDL levels in Gilbert's syndrome. Clinical biochemistry, 2011;44(4): 300-303.

THEWS G, MUTSCHLER E, VAUPEL P. Ikterus und Cholestase In: Anatomie Physiologie Pathophysiologie des Menschen, 5. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1999;395-396.

TEMME EHM, ZHANG J, SCHOUTEN EG, KESTELOOT H. Serum bilirubin and 10 year mortality risk in a Belgian population. Cancer Causes and Control 2001; 12:887-894.

TOMARO M, BATLLE A. Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress. *The International Journal of Biochemistry and Gel Biology*, 2002;34: 216-220.

TOSEVSKA A, MOELZER C, WALLNER M, JANOSEC M, SCHWARZ U, KERN C, MARCULESCU R, DOBERER D, WECKWERTH W, WAGNER KH. Longer telomeres in chronic, moderate, unconjugated hyperbilirubinaemia: insights from a human study on Gilbert's Syndrome. *Sci Rep.*, 2016 Mar 1;6:22300. doi: 10.1038/srep22300.

VERMA VK, RAMESH V, TEWARI SATYENDRA, GUPTA RK, SINHA NAKUL, PANDEY CM. Role of Bilirubin, Vitamin C and Ceruloplasmin as Antioxidants in coronary artery disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2005;20 (2):68-74.

VITEK L, JIRSA M, BRODANOVÁ M, KALÁB M, MARECEK Z, DANZIG V, NOVOTNÝ L, KOTAL P. Gilbert Syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis*, 2002;160:449-456.

VÍTEK L, JIRSA M, BRODANOVA M, KALAB M, MARECEK Z, DANZIG V, NOVOTNY L, KOTAL P. Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis*, 2002;160:449-456

VITEK L, OSTROW JD. Bilirubin Chemistry and Metabolism; Harmful and Protective Aspects. *Current Pharmaceutical Design* 2009;15:2869-2883.

VITEK L, SCHWERTNER HA. Protective effects of serum bilirubin on peripheral vascular disease. In: *Annals of Hepatology*, 2008;7(1): January-March: 94-95.

VITEK L, MUCHOVA L, JANCOVA E, PESICKOVA S, TEGZOVA D, PETEROVA V, PAVELKA K. AND TESAR, V. Association of systemic lupus erythematosus with low serum bilirubin levels. *Scand. J. Rheumatol*, 2010;39, 480–484.

WAGNER KH, WALLNER M, MÖLZER C, GAZZIN S, BULMER AC, TIRIBELLI C, VITEK L. Looking to the horizon: the role of bilirubin in the development and prevention of age-related chronic diseases. *Clinical Science*, 2015;129:1–25.

WAGNER KH, WALLNER M, MÖLZER C, GAZZIN S, CAMERON BULMER A, TIRIBELLI C, VITEK L. Looking to the horizon: the role of bilirubin in the development and prevention of age-related chronic diseases, *Clinical Science*, 2015;129:1–25.

WALLNER M, MARCULESCU R, DOBERER D, WOLZT M, WAGNER O, VITEK L, BULMER AC, WAGNER KH. Protection from age related increase in lipid biomarkers and inflammation contributes to cardiovascular protection in Gilbert's syndrome. *Clinical Science*, 2013a;125:257–264.

WALLNER M, ANTL N, RITTMANNBERGER B, SCHREIDL S, NAJAFI K, MULLNER E, MÖLZER C, FERK F, KNASMULLER S, MARCULESCU R, DOBERER D, POULSEN HE, VITEK L, BULMER AC, WAGNER KH. Antigenotoxic potential of bilirubin in vivo: damage to DNA in hyperbilirubinemic human and animal models. *Cancer Prevention Research*, 2013c;6:1056–1063.

WANG X, CHOWDHURY JR, CHOWDHURY NR. Bilirubin metabolism: Applied physiology. *Current Paediatrics*, 2006;16:70-74.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. WHO Technica Report Series 894, Genf 2000, Geneva: WHO.253.

WIRTH A, HAUNER H. Adipositas: Ätiologie, Folgekrankheiten, Diagnose, Therapie; mit 60 Tabellen. 3., vollst. überarb. und erw. Aufl. ed. 2008, Heidelberg: Springer Medizin

WIRTH A. Adipositas: Epidemiologie, Ätiologie, Folgekrankheiten, Therapie; 2. überarb. und erw. Auflage ed. 2000, Heidelberg: Springer Medizin

YANG XF, CHEN YZ, SU JL, WANG FY, WANG LX. Relationship between Serum Bilirubin and Carotid Atherosclerosis in Hypertensive Patients. Internal Medicine, 2009;48:1595-1599.

YAO J, REDDY R, VAN KAMMEN D. Abnormal age-related changes of plasma antioxidant proteins in schizophrenia. Psychiatry research, 2000;97:137-151.

YESILOVA Z, SERDAR M, ERCIN CN, GUNAY A, KILCILER G, HASIMI A, UYGUNA, KURT I, ERBIL MK, DAGALP K. Decreased oxidation susceptibility of plasma low density lipoproteins in patients with Gilbert's syndrome. Journal of gastroenterology and hepatology, 2008;23(10):1556-1560.

ZELENKA J, LENÍČEK M, MUCHOVÁ L, JIRSA M, KUDLA M, BALAZ P, ZADINOVÁ M, OSTROW JD, WONG RJ, VÍTEK L. Highly sensitive method for quantitative determination of bilirubin in biological fluids and tissues. Journal of chromatography B, 2008;867(1):37-42.

ZELENKA J, LENÍČEK M, MUCHOVÁ L, JIRSA M, KUDLA M, BALAZ P, ZADINOVÁ M, OSTROW JD, WONG RJ, VÍTEK L. Highly sensitive method for quantitative determination of bilirubin in biological fluids and tissues. Journal of Chromatography, 2008,867;37-42.

ZUCKER SD, HORN PS, SHERMAN KE. Serum bilirubin levels in the U.S. population: gender effect and inverse correlation with colorectal cancer. Hepatology, 2004; 40:827-35.

ZWIAUER K. Adipositas im Kindes- und Jugendalter- Prävention und Therapie. Aus: Wechsler, J.(Hg.): Adpositas. Ursachen und Therapie. Berlin, Blackwall, Wien, 2003;S.217

Internetquellen:

Deutsche Gesellschaft zur Bekämpfung von Fettstoffwechselstörungen und ihren Folgeerkrankungen DGFF (Lipid-Liga) e. V. Empfehlungen zur Diagnostik und Therapie von Fettstoffwechselstörungen in der Ärztlichen Praxis. Stand Jänner 2012.

http://www.lipidliga.de/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=22&Itemid=51

RIESEN WF. Kardiovaskuläre Prävention: Cholesterin – wie viel ist zu viel? Stand 27. Februar 2006.

https://www.sulm.ch/pipette_magazin/files/pipette/2013-02/pipette_2_2013-012_W-Riesen_Cholesterin-Wie-hoch-ist-zu-hoch.pdf

STATISTIK AUSTRIA. Body Mass Index; Stand November 2015.

http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/gesundheitsdeterminanten/bmi_body_mass_index/index.html

WHO: World Health Organisation. Global Health Observatory (GHO) data. Obesity - Situation and trends; Stand 2016.
http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/

WHO: World Health Organisation. Obesity and Overweight; Stand Juni 2016.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>