

Aus der
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen
Abteilung Kinderheilkunde IV
(Schwerpunkt: Neonatologie, neonatologische Intensivmedizin)

**Vergleichende Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung
des subkutanen Fettgewebes und der Blutlipide Früh- und
Reifgeborener zum errechneten Geburtstermin mit speziellem
Fokus auf Docosahexaen-, Arachidonsäure und Linolsäure**

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

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

**vorgelegt von
von Stumpff, Antonia Margarete**

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Franz
2. Berichterstatter: Professor Dr. J. Lieber

Tag der Disputation: 21.07.2025

Inhaltsverzeichnis

TABELLENVERZEICHNIS	IV
ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	IV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	V
1 EINLEITUNG.....	1
1.1 FRÜHGEBURTlichkeit - DEFINITION UND INZIDENZ	1
1.2 FOLGEN DER FRÜHGEBURTlichkeit.....	2
1.2.1 MORTALITÄT UND MORBIDITÄT	2
1.2.2 NEUROLOGISCHE FOLGEN.....	3
1.2.3 FRÜHGEBORENENRETINOPATHIE	5
1.2.4 BRONCHOPULMONALE DYSPLASIE	6
1.3 BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN DER LIPIDE	7
1.3.1 EINTEILUNG VON LIPIDEN	7
1.3.2 LIPIDDOPPELSCHICHT.....	10
1.3.3 FETTSÄUREZUSAMMENSETZUNG VON ZELLMEMBRANEN	14
1.3.4 DAS FETALE WACHSTUM.....	15
1.3.5 ARACHIDONSÄURE UND DOCOSAHEXAENSÄURE.....	15
1.4 ERNÄHRUNG FRÜHGEBORENER UND NEUGEBORENER.....	21
1.4.1 PRÄNATALE ERNÄHRUNG	21
1.4.2 TRANSPORT DER FETTSÄUREN ZUM FETUS	24
1.4.3 POSTNATALE ERNÄHRUNG	26
1.5 HYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG	43
2 MATERIAL UND METHODEN.....	44
2.1 GERÄTE, CHEMIKALIEN UND LÖSUNGSMITTEL.....	44
2.1.1 GERÄTE	44
2.1.2 CHEMIKALIEN	45
2.1.3 LÖSUNGSMITTEL	46
2.2 VERBRAUCHSMATERIALIEN UND SOFTWARE.....	46
2.2.1 VERBRAUCHSMATERIALIEN	46
2.2.2 SOFTWARE	47
2.3 METHODEN	48
2.3.1 STUDIENDESIGN	48
2.3.2 STUDIENABLAUF	49
2.3.3 LIPIDEXTRAKTION NACH BLIGH UND DYER	50
2.3.4 MASSENSPEKTROMETRISCHE ANALYSE	55

2.3.5	PROBENAUFBEREITUNG ZUR MASSENSPEKTROMETRISCHEN ANALYSE	59
2.3.6	GASCHROMATOGRAPHISCHE ANALYSE.....	61
2.3.7	PROBENAUFBEREITUNG ZUR GC-ANALYSE	62
2.3.8	PEA-POD-UNTERSUCHUNG	67
3	ERGEBNISSE.....	69
3.1	PUBLIKATION DER ERGEBNISSE.....	69
3.2	DEMOGRAPHISCHE DATEN.....	69
3.3	TEST AUF NORMALVERTEILUNG.....	71
3.4	ERNÄHRUNG MIT PARENTERALER LIPIDEMULSION	72
3.5	FETTSÄUREPROFIL DER TRIGLYCERIDE	73
3.6	PROFIL DER MOLEKULAREN SPEZIES VON PHOSPHATIDYLCHOLIN	76
3.7	PROFIL DER MOLEKULAREN SPEZIES VON PHOSPHATIDYLETHANOLAMIN..	78
3.8	VERGLEICH VON ARA, DHA UND LA IM FETTGEWEBE VON REIF- UND FRÜHGEBORENEN	80
3.8.1	ARA-, DHA- UND LA-ANTEIL DER TRIGLYCERIDE IM FETTGEWEBE	81
3.8.2	ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PHOSPHATIDYLCHOLIN-SPEZIES IM FETTGEWEBE	82
3.8.3	ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PE-SPEZIES IM FETTGEWEBE.....	82
3.8.4	DARSTELLUNG VON ARA, DHA UND LA IM FETTGEWEBE IN ABHÄNGIGKEIT VOM POSTNATALEN ALTER	83
3.9	VERGLEICH VON ARA, DHA UND LA IM BLUTPLASMA VON REIF- UND FRÜHGEBORENEN	85
3.9.1	ARA-, DHA- UND LA-ANTEIL DER TRIGLYCERIDE IM BLUTPLASMA	86
3.9.2	ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PC-SPEZIES IM BLUTPLASMA	86
3.9.3	ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PE-SPEZIES IM BLUTPLASMA	87
3.9.4	DARSTELLUNG VON ARA, DHA UND LA IM BLUTPLASMA IN ABHÄNGIGKEIT VOM POSTNATALEN ALTER	88
3.10	VERGLEICH VON ARA, DHA UND LA IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN VON REIF- UND FRÜHGEBORENER.....	90
3.10.1	ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PC-SPEZIES IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN	91
3.10.2	ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PE-SPEZIES IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN	91
3.10.3	DARSTELLUNG VON ARA, DHA UND LA IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM POSTNATALEN ALTER.....	92
3.11	KÖRPERFETTMASSE REIF- UND FRÜHGEBORENER.....	94
3.12	GESAMT-ARA- UND DHA-GEHALT IM FETTGEWEBE FRÜHGEBORENER AM ERRECHNETEN TERMIN IM VERGLEICH MIT REIFGEBORENEN NACH GEBURT	95
4	DISKUSSION.....	96

5	ZUSAMMENFASSUNG.....	105
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	107
	ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL.....	125
	DANKSAGUNG	126

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung Frühgeborener nach Geburtsalter in Schwangerschaftswochen (WHO, 2013)	1
Tabelle 2: Einteilung Frühgeborener nach Gewicht (WHO, 2013)	1
Tabelle 3: Einteilung der Lipide in acht Kategorien (Fahy et al., 2011)	8
Tabelle 4: Klassifizierung von zusammengesetzten Lipiden (Löffler, 2007)	11
Tabelle 5: Triacylglycerid und die Glycerophospholipidklassen	12
Tabelle 6: Fettsäureanteile an den Gesamtlipiden in reifer Muttermilch und Parenteraler Lipidemulsion (Floris et al., 2020, Fresenius, 2019, Fresenius, 2015)	27
Tabelle 7: Fettsäurezusammensetzung von Muttermilch Früh- und Reifgeborener (Maas et al., 2017b)	31
Tabelle 8: Zusammensetzung von Parenteralen Lipidemulsionen (Intralipid, 2015, Lee et al., 1993, Singh et al., 2021, Fresenius, 2019, Fresenius, 2015)	42
Tabelle 9: Verwendete Geräte	44
Tabelle 10: Verwendete Chemikalien	45
Tabelle 11: Verwendete Lösungsmittel	46
Tabelle 12: Verwendete Verbrauchsmaterialien	46
Tabelle 13: Verwendete Software	47
Tabelle 14: Übersicht der Teilnehmergruppen mit Einschluss- und Ausschlusskriterien	49
Tabelle 15: Lipidextraktion der Fettgewebeprobe	51
Tabelle 16: Lipidextraktion des Blutplasmas	52
Tabelle 17: Lipidextraktion der Erythrozytenmembranen	53
Tabelle 18: Retentionszeiten der Lipide	60
Tabelle 19: Trennung der Triglyceride durch Festphasenextraktion mittels Aminopropyl-Silicasäule	62
Tabelle 20: Fettsäureveresterung des Plasmaextrakts zur gaschromatographischen Analytik	63
Tabelle 21: Fettsäureveresterung des Fettgewebeeextrakts zur gaschromatographischen Analytik	64
Tabelle 22: Referenzfettsäuren und ihre Charakteristika - gaschromatographische Analyse	65
Tabelle 23: Zeitabhängiger Temperaturanstieg der gaschromatographischen Methode	66
Tabelle 24: Stichproben-Charakteristik	70
Tabelle 25: Test auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test	71
Tabelle 26: Parenterale Lipidemulsion - Dauer und Dosis der Gabe	72
Tabelle 27: Fettmasse Reif- und Frühgeborener	94

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ketoacyl-Bausteine: Acetyl und Propionyl; Isopren-Baustein: Isopren	7
Abbildung 2: Lipiddoppelschicht (AMBOSS)	10
Abbildung 3: Prinzip eines Massenspektrometers (Schellenberg, 2017)	56
Abbildung 4: Schema eines Triple-Quadrupol-Analysators (Faktor et al., 2012)	58
Abbildung 5: Fettsäureprofil der Triglyceride	74
Abbildung 6: Profil der molekularen Spezies von Phosphatidylcholin	77
Abbildung 7: Profil der molekularen Spezies von Phosphatidylethanolamin	79
Abbildung 8: Fettsäureanteile im Fettgewebe	80
Abbildung 9: Darstellung von ARA, DHA und LA im Fettgewebe in Abhängigkeit vom PNA	83
Abbildung 10: Fettsäureanteile im Blutplasma (Böckmann et al., 2021)	85
Abbildung 11: Darstellung von ARA, DHA und LA im Plasma in Abhängigkeit vom PNA	88
Abbildung 12: Fettsäureanteile in Erythrozytenmembranen	90
Abbildung 13: Darstellung von ARA, DHA und LA der Erythrozytenmembranen in Abhängigkeit vom PNA	92
Abbildung 14: Fettmasse Reifgeborener im Vergleich zu Frühgeborenen zum Entbindungstermin	94
Abbildung 15: Absolute ARA-, DHA- und LA-Anteile im Fettgewebe Reif- und Frühgeborener	95

Abkürzungsverzeichnis

p	Signifikanzniveau
ρ	Spearman´s-Korrelationskoeffizient (Rho)
Abb.	Abbildung
ADP	Luftverdrängungsplethysmographie (Air-Displacement-Plethysmography)
AI	Angemessene Zufuhr (Adequate Intake)
ALA	α -Linolensäure (C18:3n-3)
ARA	Arachidonsäure (C20:4n-6)
ART	Assistierte Reproduktionstherapie (Assisted Reproductive Technology)
BMI	Body-Mass-Index
BHT	Butylhydroxytoluol
BSID	Bayley Scales of Infant Development
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
COX	Cyclooxygenase
d	Tag (day)
DHA	Docosahexaensäure (C22:6n-3)
DTA	Docosatetraensäure (C22:4n-6)
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority)
ELBW	Extrem niedriges Geburtsgewicht (Extremely Low Birth Weight)
EPA	Eicosapentaensäure (C20:5n-3)

ESI	Elektrospray-Ionisation
ESI-MS/MS	ESI-Tandemmassenspektrometer/-metrie
ESPGHAN	Europäische Gesellschaft für pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition)
ET	Errechner Entbindungstermin
FABP	Fatty-acid-binding-protein
FAO	Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation (Food and Agriculture Organization)
FDA	US-Behörde für Lebens- und Arzneimittel (Food and Drug Administration)
FG	Frühgeborene
FID	Flammenionisationsdetektor
FS	Fettsäure
GA	Gestationsalter
GC	Gaschromatograph(ie)
GLA	γ -Linolensäure (C18:3n-6)
h	Stunden (hours)
IQR	Interquartilenrange
IST	Interner Standard
LA	Linolsäure (C18:2n-6)
LBW	Niedriges Geburtsgewicht (Low Birth Weight)

LC-PUFA	Langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäure (long-chain polyunsaturated fatty acids)
LT	Leukotrien
LOX	Lipoxygenase
LPL	Lipoproteinlipase
MDI	Bayley-Mental-Development-Index
MFG	Milchfettkügelchen (Milk fat globule)
MM	Muttermilch
MS	Massenspektrometrie
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Prostaglandin
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
PGI ₂	Prostacyclin (Prostaglandin I ₂)
PI	Phosphatidylinositol
PL	Phospholipid
PMA	Postmenstruelles Alter
PNAC	Parenterale Ernährungs-assoziierte Cholestase (parenteral nutrition-associated cholestasis)
PS	Phosphatidylserin
PUFA	Mehrfach ungesättigte Fettsäure (polyunsaturated fatty acids)

ROP	Frühgeborenenretinopathie (Retinopathy of Prematurity)
SM	Sphingomyelin
SRM-Modus	Produkt-Ionen-Scan (Selected reaction monitoring)
SSW	Schwangerschaftswoche
Tab.	Tabelle
TG	Triglyceride
TXT	Thromboxan
VLBW	Sehr niedriges Geburtsgewicht (Very Low Birth Weight)
VLDL	Lipoprotein mit geringer Dichte (Very Low Density Protein)
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 EINLEITUNG

1.1 FRÜHGEBURT LICHK EIT - DEFINITION UND INZIDENZ

Die Definition der Frühgeburt besagt, dass Neugeborene als Frühgeborene gelten, wenn die Schwangerschaftsdauer weniger als 37+0 Schwangerschaftswochen, also weniger als 259 Tage post menstruationem beträgt (WHO, 2013) (siehe Tab. 1).

Tabelle 1: Einteilung Frühgeborener nach Geburtsalter in Schwangerschaftswochen (WHO, 2013)

Geburtsalter in Schwangerschaftswochen	Bezeichnung
< 28	Extrem Frühgeborene
28 - 32	Sehr Frühgeborene
32 - 37	Spätfrühgeborene

Neben der Einteilung nach Schwangerschaftsdauer gibt es auch eine gewichtsbezogene Einteilung (siehe Tab. 2):

Tabelle 2: Einteilung Frühgeborener nach Gewicht (WHO, 2013)

Geburtsgewicht in Gramm	Bezeichnung
< 2500	Niedriges Geburtsgewicht (Low Birth Weight (LBW))
< 1500	Sehr niedriges Geburtsgewicht (Very Low Weight (VLBW))
< 1000	Extrem niedriges Geburtsgewicht (Extremely Low Birth Weight (ELBW))

Im Jahr 2010 kamen etwa 15 Millionen Kinder zu früh auf die Welt (Blencowe et al., 2012). Im Jahr 2020 gab es in Deutschland 58 473 Frühgeburten, das machte 7,73 %

aller Geburten in Deutschland aus (IQTIG, 2020). Dabei hatten 1,22 % ein sehr niedriges Geburtsgewicht und 1,24 % waren sehr Frühgeborene (IQTIG, 2020)

Im Vergleich dazu liegt die globale Inzidenz des Jahres 2014 bei 10,6 %, die Nordafrikas bei 13,4 % und die Nordamerikas bei 11,2 % (Chawanpaiboon et al., 2019).

1.2 FOLGEN DER FRÜHGEBURT LICHEIT

1.2.1 MORTALITÄT UND MORBIDITÄT

Im Jahr 2013 waren in den Vereinigten Staaten von Amerika 36 % der Todesfälle im Kindesalter auf eine Frühgeburt zurückzuführen (Matthews et al., 2015). 95 % der Todesfälle Frühgeborener traten bei Säuglingen auf, die vor der 32. SSW geboren wurden und weniger als 1500 g wogen, und zwei Drittel dieser Todesfälle ereigneten sich in den ersten 24 Lebensstunden (Callaghan et al., 2006).

Obwohl sich die Qualität der Versorgung Frühgeborener stetig verbessert, sind die Komplikationen, mit denen eine Frühgeburt assoziiert ist, schwerwiegend. Zu diesen Komplikationen gehören neonatales Atemnotsyndrom, Infektionen mit weit verbreiteten Krankheitserregern (Staphylococcus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Candida albicans) und Gruppe-B-Streptokokken, nekrotisierende Enterokolitis (NEC), bronchopulmonale Dysplasie (BPD), offener Ductus arteriosus Botalli, periventrikuläre Leukomalazie, intraventrikuläre Blutung, kognitive und motorische Beeinträchtigungen und Frühgeborenenretinopathie (ROP) (Patel, 2016).

Da sich die Ernährung Frühgeborener auf die Fettsäurezusammensetzung von Membranlipiden und damit auf die Entwicklung des zentralen Nervensystems, sowie auf das Erkrankungsrisiko einer BPD oder ROP auswirkt, wird im Folgenden auf die neurologischen Folgen nach einer Frühgeburt, sowie auf BPD und ROP eingegangen.

1.2.2 NEUROLOGISCHE FOLGEN

Das Spektrum neurologischer Entwicklungsstörungen Frühgeborener beinhaltet Cerebralparese als Folge von insbesondere hypoxischer Schädigung sowie mentale Retardierung im Rahmen eines langfristigen Entwicklungsdefizit. Sensorische Einschränkungen betreffen den Hör- und den Sehsinn. Weniger körperlich, aber dafür kognitiv einschränkende Störungen im Rahmen der defizitären Gehirnentwicklung sind Sprachstörungen, Lernbehinderungen, Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Störungen, Einschränkungen der Neuromotorik und Koordination sowie Störungen des sozial-emotionalen Verhaltens. Kognitive Beeinträchtigungen und motorische Entwicklungsstörungen können durch standardisierte Untersuchungen objektiviert werden. (Behrman, 2007) Die Beurteilung orientiert sich am „cognitive“ und „language composite score“ der Bayley Scale of Infant Development (BSID) 3. Edition oder „motor composite score“, sowie Intelligenztests.

Die Diagnose einer Zerebralparese wird häufig erst im zweiten Lebensjahr gestellt. Je jünger und je leichter Frühgeborene bei ihrer Geburt waren, desto häufiger treten Zerebralparesen auf (Lefebvre et al., 1996). Etwa 17 - 48 % der sehr unreifen Frühgeborenen präsentieren sich während der Kindheit mit neuromotorischen Auffälligkeiten (Allen and Capute, 1989, Pallás Alonso et al., 2000, Vohr et al., 2005). Obgleich sich die neuromotorischen Symptome oft nicht schwer auswirken und nicht zu einem vollständigen Funktionsverlust führen, sind sie mit einem vorübergehend erhöhtem Risiko für Verhaltensauffälligkeiten und Schwierigkeiten in der Schule assoziiert (Sommerfelt et al., 1996, Vohr et al., 2005).

Frühgeborene haben, selbst bei normalem Intelligenzquotienten (IQ) (85-115) im Vergleich zu Reifgeborenen eingeschränkte Fähigkeiten im Bereich Feinmotorik und im visuomotorischen Verhalten, in der visuellen Wahrnehmung und in der räumlichen Wahrnehmung (Goyen et al., 1998, Huddy et al., 2001). Defekte der Grob- und Feinmotorik, Sensomotorik und visuellen Wahrnehmung wiegen im normalen Leben weniger schwer als Einschränkungen in Mobilität und Anpassungsfähigkeit, mit denen cerebralparetische Kinder umgehen müssen. Trotzdem können diese geringen chronischen Beeinträchtigungen über einen längeren Zeitraum das Selbstwertgefühl der

betroffenen Kinder und damit deren Beziehung zu Gleichaltrigen beeinträchtigen, und damit einen Kreislauf aus Frustration und Resignation hervorrufen, welcher die schulischen und sozialen Fortschritte behindert. (Behrman, 2007)

Je unreifer das Kind geboren wurde und je geringer das Geburtsgewicht war, desto deutlicher zeigen sich kognitive Defizite (Bhutta et al., 2002, Doyle and Anderson, 2005, Halsey et al., 1996, McCarton et al., 1997, McCormick et al., 1992, Saigal et al., 2000, Lefebvre et al., 2005). Eingeschränkte kognitive Prozesse tragen zu einem erhöhten Risiko für Probleme im schulischen Bereich bei (Aylward, 2002, Grunau et al., 2002). In einer retrospektiven Studie mit 145 Kindern, die vor der 28. SSW PMA und/oder mit weniger als 1000 g Geburtsgewicht geboren wurden, schnitt die Gruppe der Frühgeborenen in allen Test signifikant schlechter ab als die Kontrollgruppe (Taylor et al., 2018). Die Kontrollgruppe bestand aus 111 gleichaltrigen Kindern, die nach der 36. SSW und/oder mit mehr als 2500 g geboren wurden. Die angewendeten Tests beinhalteten Rechnen, Buchstabieren und Inhalte des Woodcock-Johnson-Leistungstest (Taylor et al., 2018). Eine andere nationale Studie mit 241 Kindern, welche in oder vor der 25. SSW geboren wurde zeigte, dass verglichen zu gleichaltrigen Reifgeborenen Sprachprobleme (Odds Ratio = 10; 95 %-Konfidenzintervall = 3 - 32), Sprechprobleme (Odds Ratio = 4,4; 95 %-Konfidenzintervall = 3 - 7) und schulische Schwierigkeiten (Odds Ratio = 25; 95 %-Konfidenzintervall = 12 - 54) auftraten (Wolke et al., 2008). Unter 8- bis 10-jährigen ehemals Frühgeborenen, die bei Geburt weniger als 800 oder 1000 g wogen, mussten 18 - 24 % eine Klasse wiederholen, bei den Reifgeborenen waren es 13 - 16 %. 27 - 47 % der Frühgeborenen benötigten besondere schulische Hilfe, wohingegen es bei den Reifgeborenen 13 - 18 % waren. In Sonderschulen wurden 14 - 20 % der Frühgeborenen unterrichtet und nur 2 - 5 % der Reifgeborenen gingen auf eine Sonderschule. (Buck et al., 2000, Gross et al., 2001, Whitfield et al., 1997)

1.2.3 FRÜHGEBORENENRETINOPATHIE

In dem Zusammenhang mit der beeinträchtigten neurokognitiven Entwicklung ehemaliger Frühgeborener ist auch die Retinopathie Frühgeborener (Retinopathy of Prematurity (ROP)) zu nennen, da die Retina zum zentralen Nervensystem gehört. Das Risiko für eine ROP steigt mit sinkender Schwangerschaftsdauer und sinkendem Geburtsgewicht. ROP ist eine Gefäßerkrankung der Netzhaut, die nur bei Frühgeborenen auftritt und multifaktoriell bedingt ist (Madan et al., 2005). Ist die Entwicklung physiologisch so beginnt die Vaskularisierung der Retina in der 14. SSW und ist erst zum Zeitpunkt der Geburt in der 40. SSW vollständig abgeschlossen. Bei Frühgeborenen wird die Vaskularisation der Retina gestoppt, da durch die Kreislaufumstellung nach der Geburt der arterielle Sauerstoffpartialdruck steigt (Dogra et al., 2017).

In den Wochen nach der Geburt wird die Netzhaut im Rahmen ihrer neuronalen Ausdifferenzierung dicker. Sauerstoffumsatz und Diffusionsstrecke nehmen zu, und es entsteht eine Hypoxie der dem Augennieren zugewandten Netzhautschichten. Als Folge wird die Angiogenese angeregt, dies jedoch in überschießend, pathologischer Form. Die Gefäße sind dilatiert und gewunden, der Blutfluss ist erhöht (Staubach and Lagrèze, 2002, Gaynon and Stevenson, 2000). In ihrer maximalen Ausprägung führt ROP zur Netzhautablösung und damit zur Erblindung (Staubach and Lagrèze, 2002). Im Jahr 2010 verursachten die ROP-Erkrankungen in zehn Ländern (Brasilien, China, Indien, Indonesien, Iran, Mexiko, Russland, Thailand, Türkei, USA) zwei Drittel aller Visusminderungen (Lee et al., 2013).

1.2.4 BRONCHOPULMONALE DYSPLASIE

Die Bronchopulmonale Dysplasie (BPD) ist eine schwerwiegende Komplikation Frühgeborener. Sie ist gekennzeichnet durch einen entzündlichen Prozess, der zu einer abnormalen Lungenentwicklung, einer verringerten vaskulären und alveolären führt (Hayes et al., 2010). Frühgeborene mit BPD müssen im Alter von 36 Wochen PMA noch unterstützt beatmet werden (Jobe and Bancalari, 2001) BPD ist assoziiert mit langfristigen pulmonalen und neurologischen Einschränkungen, sowie erhöhtem medizinischen und schulischem Unterstützungsbedarf (Doyle and Anderson, 2009, Stroustrup and Trasande, 2010)

1.3 BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN DER LIPIDE

Lipide sind eine äußerst heterogene Gruppe von Verbindungen, weshalb es schwierig ist, diese Molekülgruppe eindeutig zu definieren und eine einheitliche Klassifikation zu erstellen. Sie umfassen strukturelle membranbildende Lipide, Reservefette, Wachse, Hormone und fettlösliche Vitamine sowie Lipidvorstufen und -derivate und Verbindungen von Lipiden mit anderen Klassen von Makromolekülen. (Galkina et al., 2021). Das Gehirn enthält eine faszinierende Mischung von Lipiden und steht, seit 1834 als Cholesterin als erste organische Verbindung aus einem Gehirn extrahiert wurde, im Mittelpunkt des Interesses von Lipidchemikern. (Dawson, 2015)

1.3.1 EINTEILUNG VON LIPIDEN

Nach der Lipid-MAPS-Klassifikation werden Lipide nach dem Konzept unterteilt, dass sie aus zwei grundlegenden Bausteinen bestehen: den Ketoacyl-Gruppen und den Isopren-Gruppen (siehe Abb. 1).

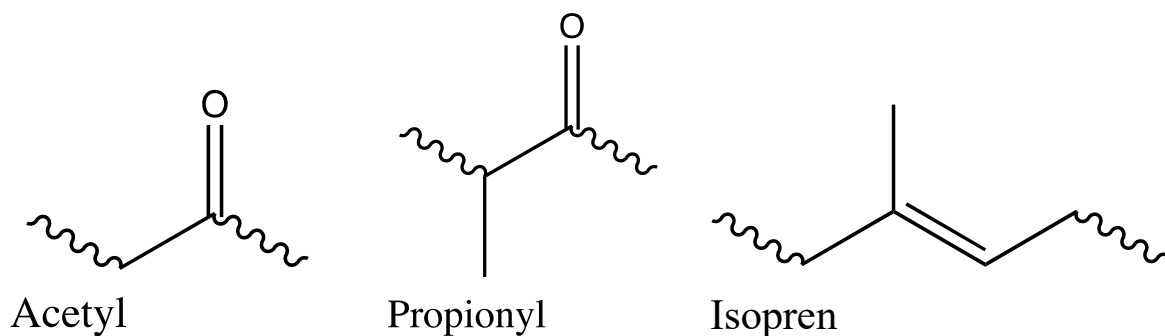


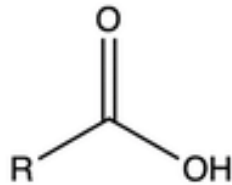
Abbildung 1: Ketoacyl-Bausteine: Acetyl und Propionyl; Isopren-Baustein: Isopren

Demzufolge sind Lipide definiert als hydrophobe oder amphiphile Moleküle, die durch die anionenbasierte Kohlenwasserstoff-Kondensation von Ketoacyl-Thioestern und/oder die kationenbasierten Kohlenwasserstoff-Kondensation von Isopren-Einheiten entstehen. Basierend auf dieser Klassifikation, lassen sich Lipide in acht Kategorien einteilen: Fettsäuren, Glycerolipide, Glycerophospholipide, Sphingolipide, Saccharolipide und Polyketide, welche aus der Kondensation von Ketoacyl hervorgehen; und Sterole und Prenole, welche durch die Kondensation von Isopren entstehen. (Fahy et al., 2011) Beispiele der acht Kategorien sind in Tab. 3 aufgeführt.

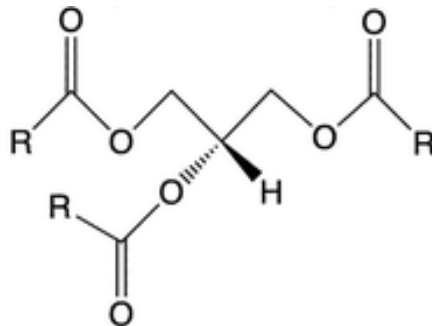
Tabelle 3: Einteilung der Lipide in acht Kategorien (Fahy et al., 2011)

Das „R“ steht für Rest und stellt eine Kohlenwasserstoffkette beliebiger Länge dar. Das „X“ steht für eine organische Verbindung, welche das Glycerophospholipid, bzw. das Sphingolipid bestimmt.

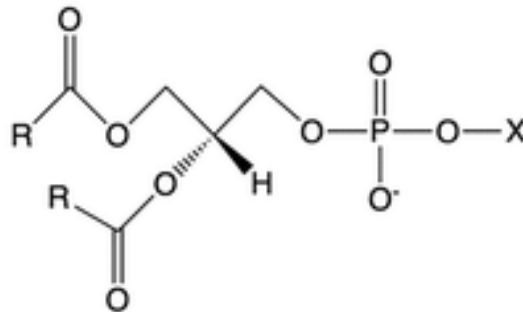
Fettsäure



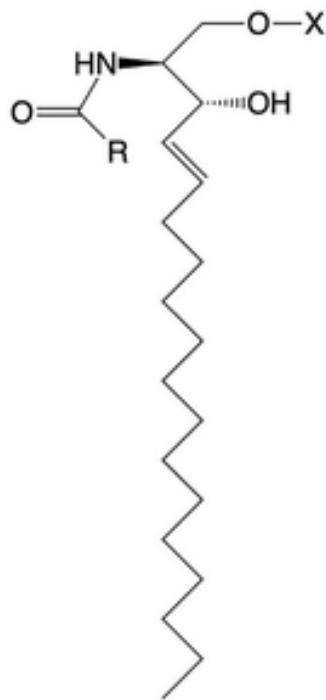
Glycerolipide



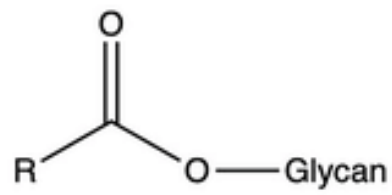
Glycerophospholipide



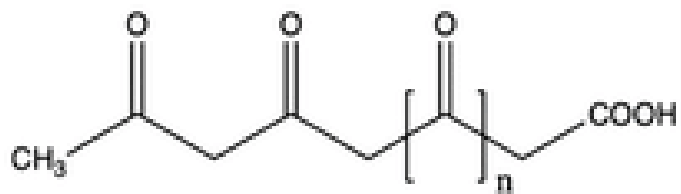
Sphingolipide



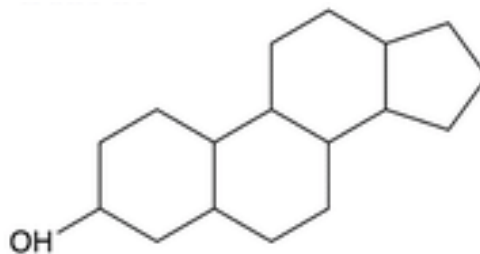
Saccharolipide



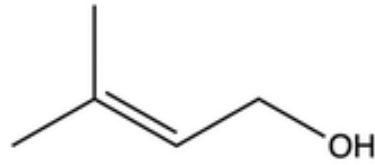
Polyketide



Sterole



Prenole



1.3.2 LIPIDDOPPELSCHICHT

Die Zellen des Körpers sind von einer Zellmembran umgeben, die aus einer Lipiddoppelschicht besteht. Diese setzt sich zusammen aus amphiphilen Lipiden mit einer polaren, hydrophilen Kopfgruppe und einer apolaren, lipophilen Schwanzgruppe, bestehend aus Kohlenwasserstoffketten. Durch diese Anordnung der hydrophoben Kohlenwasserstoffschwänze zueinander entsteht ein externes (hydrophile Umgebung) und ein internes Milieu (lipophiler Kern) (siehe Abb.: 2) (Hauser, 2012)

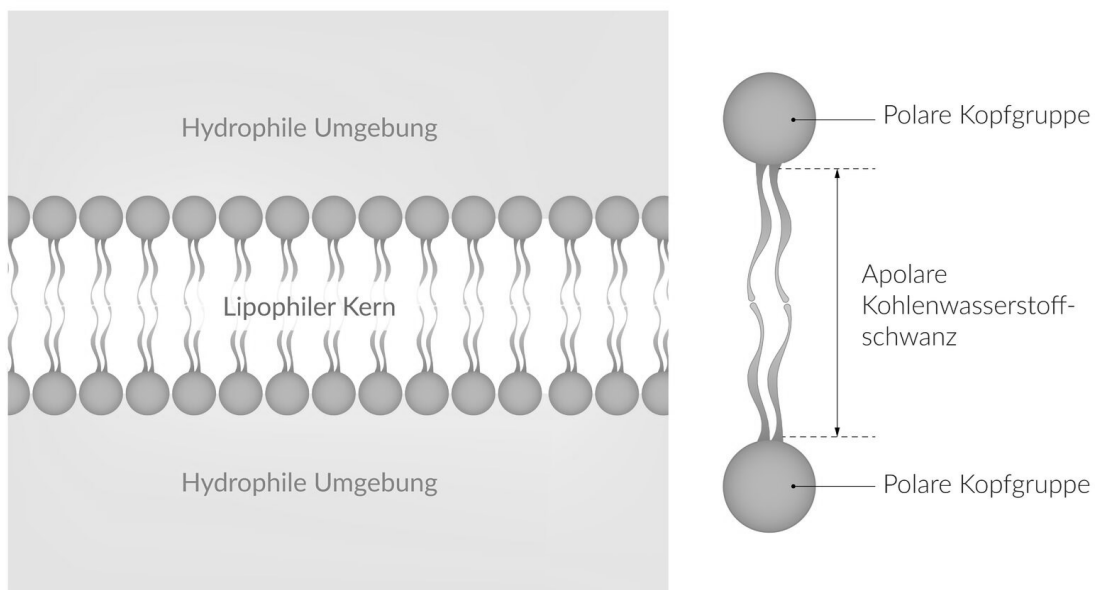


Abbildung 2: Lipiddoppelschicht (AMBOSS)

Durch die amphiphile Beschaffenheit der Membranlipide ist die Voraussetzung für eine spontane Neuformation der Membranen gegeben, denn die hydrophoben Gruppen neigen bei Kontakt mit hydrophiler Flüssigkeit dazu, sich nebeneinander anzuordnen. (Casares et al., 2019)

1.3.2.1 KOMPLEXE LIPIDE DER LIPIDDOPPELSCHICHT

Die Lipiddoppelschicht wird von komplexen Lipiden gebildet. Die Zusammensetzung komplexer Lipide ist in Tab. 4 aufgeführt. Eukaryotische Zellmembranlipide enthalten Phosphoglyceride, Sphingolipide und Cholesterin. Hierbei überwiegt in der äußeren Lipidschicht der Zellmembran der Anteil an Sphingomyelin und Phosphatidylcholin und in der inneren Lipidschicht der Anteil an Phosphatidylserin, Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylinositol. (Simons and Sampaio, 2011)

Tabelle 4: Klassifizierung von zusammengesetzten Lipiden (Löffler, 2007)

Lipidklasse	Alkohol	Weitere Bestandteile
Triacylglyceride	Glycerin (Glycerol)	Fettsäuren
Phosphoglyceride	Glycerin-3-Phosphat	Cholin, Ethanolamin, Inositol, Serin
Sphingolipide	Sphingosin	Phosphorylcholin, Phosphorylethanolamin
Cerebroside	Sphingosin	Monosaccharid
Ganglioside	Sphingosin	Oligosaccharid
Cholesterinester	Cholesterin (Cholesterol)	-

1.3.2.2 FUNKTIONEN DER MEMBRANLIPIDE

Membranlipide erfüllen drei grundlegende Funktionen:

1. Energiespeicher. In Lipidtröpfchen, die hauptsächlich Triglyceride und Sterolester beinhalten, werden Kalorien effizient gespeichert.

2. Kompartimentalisierung. Die meisten Zellorganellen des menschlichen Körpers sind von einer Lipiddoppelschicht umgeben. Aus der Zellmembran können Zellmembranknospen gebildet werden, die abgeschnürt und mit anderen Zellmembranen fusionieren können. Das dient der Zellteilung, der Zellvermehrung und dem intrazellulären Membrantransport.

3. Zellsignalisierung. In die Lipiddoppelschicht der Zellmembranen sind Proteine eingelagert, die als Signal- oder Effektor komplex agieren. Außerdem können sie als First (extrazelluläre Signalmoleküle) und Second Messenger (intrazelluläre Signalmoleküle)

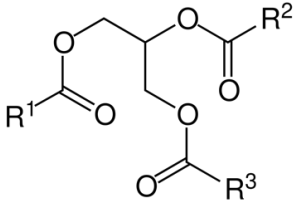
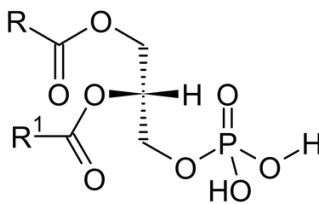
wirken und übernehmen somit wichtige Funktionen der Zellantwort. (Casares et al., 2019)

1.3.2.3 TRIGLYCERIDE UND PHOSPHOGLYCERIDE ALS BESTANDTEIL DER ZELLMEMBRANEN

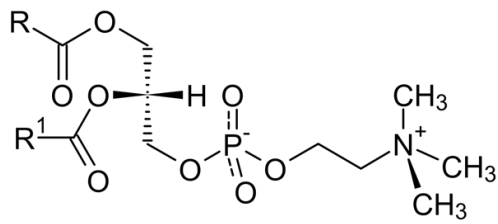
Glycerolipide sind eine Gruppe von Ketoacyl-Lipiden, deren Grundgerüst der dreiwertige Alkohol Glycerin ist. Mindestens eine seiner Hydroxylgruppen ist mit einem Ketoacyl-Derivat verbunden, als Ester mit einer Fettsäure oder als Ether mit einem Fettalkohol. Ist jede Hydroxylgruppe des Glycerins mit einer Fettsäure verestert, liegt ein Triglycerid vor (siehe Tab. 5). Bei Phosphoglyceriden hingegen sind nur zwei OH-Gruppen (Position sn1 [stereospezifische Nummerierung 1] und sn2) mit je einer Fettsäure (R1 und R2) verestert. Gelegentlich ist die Position sn1 auch mit einem Fettalkohol verethert. Position sn3 ist mit einem Phosphatrest verestert. Dieses einfachste Phospholipid (Phosphatidsäure) ist Ausgangspunkt für die Synthese aller Glycerolipide (auch der Triglyceride) kann aber auch mit einem hydrophilen Rest, wie Aminoalkohol oder anderen Komponenten mit einer OH-Gruppe verestert sein. Diese „Kopfgruppe“ definiert die Glycerophospholipidklasse (siehe Tab. 5)

Tabelle 5: Triacylglycerid und die Glycerophospholipidklassen

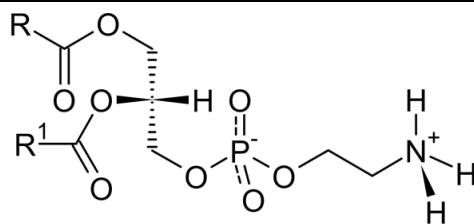
Phosphatidsäure ist mit einer OH-Gruppe verestert. Es ist der Ausgangspunkt aller Glycerphospholipide abhängig davon, mit welcher Kopfgruppe es verestert ist.

Klasse	Strukturformel
Triglyceride	
Phosphatidsäure	

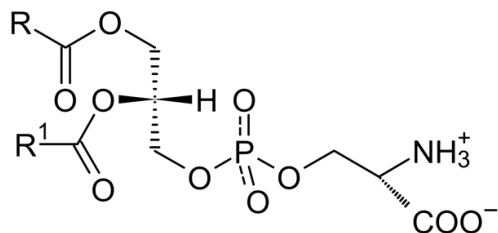
Phosphatidylcholin



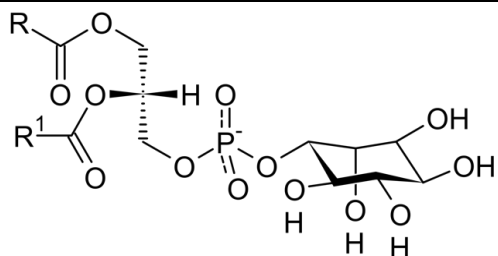
Phosphatidylethanolamin



Phosphatidylserin



Phosphatidylinositol



Phosphoglyceride machen den größten Bestandteil unserer Membranen aus. Mit 40 - 50 % hat Phosphatidylcholin (Phosphorsäurediester der Phosphatidsäure mit dem Aminoalkohol Cholin) den größten Anteil unter den Phosphoglyceriden der Zellmembranen (van Meer et al., 2008). Wird Cholin durch Ethanolamin oder Serin ersetzt, entsteht Phosphatidylethanolamin, bzw. Phosphatidylserin. Phosphatidylinositol ist mit dem sechswertigen Alkohol Inositol verknüpft. (Gibellini and Smith, 2010)

1.3.3 FETTSÄUREZUSAMMENSETZUNG VON ZELLMEMBRANEN

Langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren (long-chain polyunsaturated fatty acids = LC-PUFA), vor allem Arachidonsäure (ARA, C20:4n-6) und Docosahexaensäure (DHA, C22:6n-3) liegen als Acylreste in den Phospholipiden der Membranen vor. Dabei sind in Membranen Phosphatidylcholin (PC) und Phosphatidylethanolamin (PE) quantitativ vorherrschend (Lauritzen et al., 2001). Das PC der Lipoproteine, insbesondere Lipoproteine sehr geringer Dichte (very low density lipoproteins = VLDL) der Leber sind im Plasma die vorherrschende Transportform von ARA und DHA, um periphere Organe mit diesen Fettsäuren zu versorgen (Bernhard et al., 2018). ARA liegt in großen Mengen in den Glycerophospholipiden aller Gewebe vor. DHA hat dagegen eine spezifischere Verteilung. Die Glycerophospholipide neuronaler Gewebe wie graue Gehirns substanz und Retina haben neben ARA einen hohen DHA-Anteil (Martinez et al., 1988, Martinez, 1992a). Die Verteilung auf spezifische Gewebe ist ein Hinweis auf die funktionelle Bedeutung für diese Gewebe und deren Membranen (Lauritzen et al., 2001). Neuronales Gewebe enthält die höchste LC-PUFA-Konzentration in Säugetieren (Martinez, 1992b), wobei die Ω -6-Fettsäure ARA zusammen mit ihrem Elongationsprodukt Docosatetraensäure (DTA C22:4n-6) gefolgt von der Ω -3-Fettsäure DHA, den Großteil ausmachen. Hingegen sind insbesondere die Ω -6-Fettsäure Linolsäure (LA) und die Ω -3-Fettsäuren α -Linolensäure (ALA, C18:3n-3) und Eicosapentaensäure (EPA, C20:5n-3) nur in geringer Konzentration vorhanden (Svennerholm, 1968, O'Brien and Sampson, 1965a).

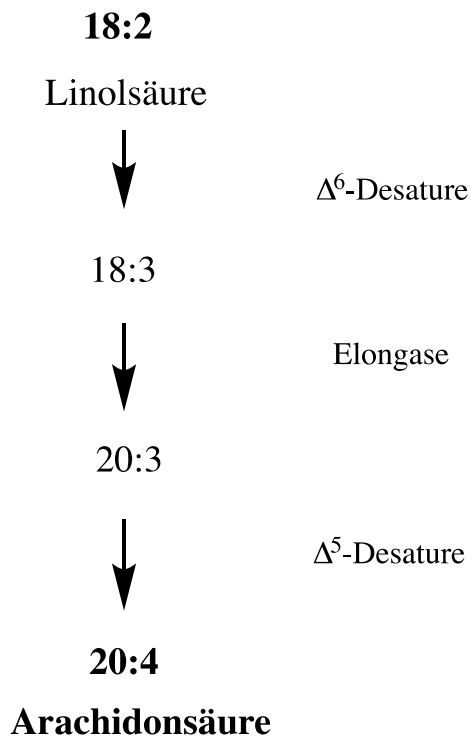
1.3.4 DAS FETALE WACHSTUM

Das fetale Wachstum unterschiedlicher Gewebe ist nicht linear, sondern differenziell. Wir betrachten den Zeitraum, ab dem ein Frühgeborenes überlebensfähig ist, also ab der 24. SSW PMA (postmenstruales Alter). Das Gesamtgewicht wächst exponentiell zwischen der 24. und 40 SSW PMA, die Wachstumsgeschwindigkeit ab der 24. SSW ist ebenfalls exponentiell, verringert sich jedoch ab der 33. SSW (Ziegler et al., 1976b). Das Wachstum des Gehirns ab der 24. bis zur 33. SSW ist ebenfalls exponentiell, sowie auch das des Fettgewebes eines Fetus bis zur 40. SSW (Apte and Iyengar, 1972, Stocker et al., 2002). Der Zusammensetzung des Gehirns (wie auch unter 1.4.4.2/1.4.4.2 beschrieben) und des Fettgewebes als ARA/DHA-Speicher und Speicher für fettlösliche Vitamine entsprechend, ergibt sich für diesen Zeitraum ein erhöhter ARA- und DHA-Bedarf.

1.3.5 ARACHIDONSÄURE UND DOCOSAHEXAENSÄURE

ARA ist eine Fettsäure mit 20 Kohlenstoffeinheiten und vier isolierten (5,8,11,14), cis-konfigurierten Doppelbindungen (C20:4-6). Sie zählt mit mehr als 12 C-Atomen zu den langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LC-PUFA) und aufgrund der Lage der Doppelbindungen zu den Ω -6-Fettsäuren, das bedeutet, dass sich die letzte Doppelbindung zwischen Position sechs und sieben der terminalen Methylgruppe (C20) befindet. Sie wird über die Ernährung mit tierischer Nahrung (rotes und weißes Fleisch, Fisch, Leber, Niere, Gehirn und Eier) aufgenommen (Simopoulos, 2016) und kann, wie in Abb. 4 gezeigt, aus Linolsäure (LN C18:2n-6) über γ -Linolensäure (GLA C18:3n-6) zu Dihomogammalinolensäure (DGLA C20:3n-6) und schließlich zu ARA (C20:4) synthetisiert werden. (Das, 2006)

Omega-6-Fettsäuren



Omega-3-Fettsäuren

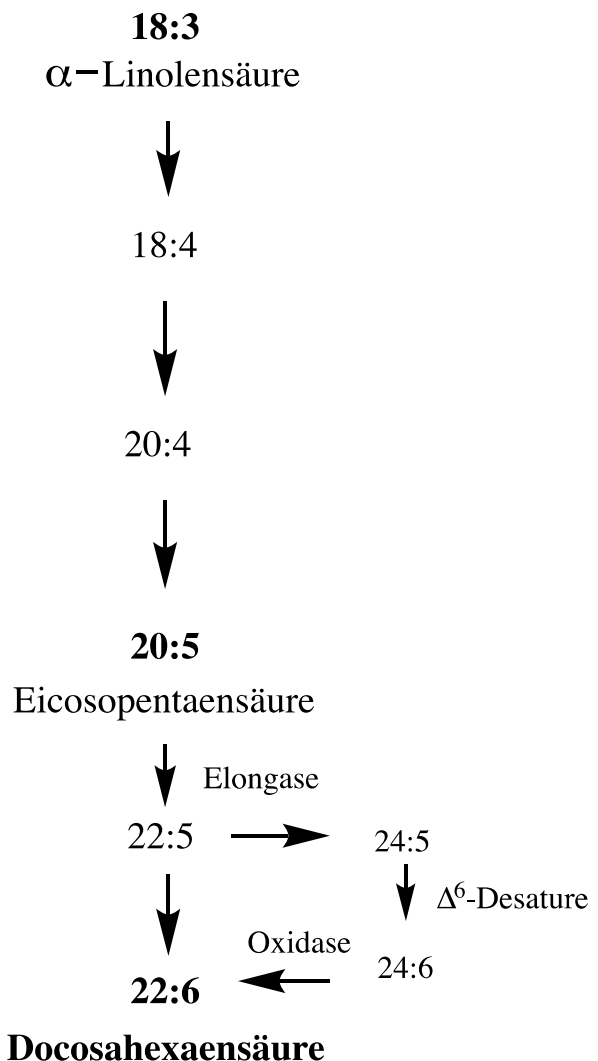


Abb. 4: Synthese von Arachidonsäure aus Linolsäure, und Synthese von Docosahexaensäure aus α -Linolensäure. (Lauritzen et al., 2001)

ARA dient als Substrat für Cyclooxygenase (COX), Lipoxygenase (LOX) und Cytochrom-P450-Enzyme zur Bildung von Eikosanoidmediatoren. Dazu gehören verschiedene Prostaglandine (PGs), Thromboxane (TXs) und Leukotriene (LTs), die durch spezifische Rezeptoren wirken und als Mediatoren und Regulatoren von Entzündungsprozessen fungieren. (Calder, 2006). Aufgrund ihrer immunmodulatorischen Effekte sind aus ARA gebildete Metabolite an der Entzündungskaskade kindlicher, entzündlicher Erkrankungen wie Asthma, Ekzem, atopische Dermatitis und Nahrungsmittelallergien beteiligt (Calder, 2003).

Im Allgemeinen wird ARA aufgrund ihrer entzündungsfördernden Derivate eher kritisch betrachtet. Diese Derivate sollen an neurodegenerativen Erkrankungen, wie Alzheimer, Parkinson, Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) und neuropsychiatrischen Störungen beteiligt sein und stehen mit der Pathogenese von Apoplex, globaler Ischämie und subarachnoidaler Blutung in Verbindung (Kursun et al., 2022). Allerdings weisen Studien darauf hin, dass eine erhöhte Aufnahme von ARA über Nahrungsergänzungsmittel keine nachteiligen Auswirkungen auf die Anzahl oder Art der zirkulierenden Entzündungszellen oder pro-inflammatorischen Zytokine hat, die im Plasma gemessen werden (Kelley et al., 1998, Thies et al., 2001, Kakutani et al., 2011). Erst kürzlich wurde eingestanden, dass die Rolle von Ω -6- und Ω -3-Fettsäuren bei Entzündungen komplex und nicht vollständig verstanden ist (Innes and Calder, 2018).

DHA (C22:6) ist eine Ω -3 langkettige, ungesättigte Fettsäure (n-3 longchain polyunsaturated fatty acid = n-3 LC-PUFA), die aus kürzerkettigen n-3 PUFAs synthetisiert werden kann (siehe Abb. 4) oder mit der Nahrung aufgenommen wird. (Domenichiello et al., 2014). Sie ist vor allem in Produkten von Meerestieren enthalten (Bezard et al., 1994). Studien haben gezeigt, dass der DHA-Abbau aus retinalen und neuronalen Zellmembranen in einer verringerten Sehfähigkeit, Verhaltensauffälligkeiten, Veränderung im Stoffwechsel mehrerer Neurotransmitter und in einer verringerten Aktivität von Membranproteinen, Rezeptoren und Ionenkanälen resultiert (Innis, 2003). DHA erhöht die Anzahl der dendritischen Dornfortsätze einer Nervenzelle (Sakamoto et al., 2007), und wahrscheinlich die Anzahl der Synapsen, besonders der exzitatorischen glutamatergen Synapsen von hippocampischen Neuronen (Wurtman, 2008).

1.3.5.1 ARA UND DAS GEHIRN

ARA ist als Strukturbaustein von Gewebelipiden und für Zellteilung, Signalübertragung und Gehirnwachstum unersetzlich (Katsuki and Okuda, 1995). Die Trockenmasse des Gehirns von Säugetieren besteht zu 60 % aus Lipiden und benötigt ARA und DHA für Wachstum und Funktion (Crawford and Broadhurst, 2012). ARA ist zusammen mit DHA die am häufigsten vorkommende Fettsäure des Gehirns, gefolgt von Docosatetraensäure (DTA) als Elongationsprodukt von ARA (Bazan et al., 1986, Crawford and Sinclair, 1971). ARA und DHA machen ungefähr 25 % aller Fettsäuren der grauen Hirnsubstanz und Retina aus und liegen als Phospholipide vor (Hadley et al., 2016).

Die Gehirnentwicklung beginnt im Rahmen der Organogenese schon früh nach der Konzeption, wenn sich Neuronen in ihre bestimmten Positionen im sich entwickelnden Gehirn bewegen, um Strukturen und funktionelle Netzwerke zu bilden (Neurolokalisation). Neurogenese und Zellmigration folgen. Während des letzten Trimesters wächst das fetale Gehirn am schnellsten und hat einen zunehmenden Bedarf an den spezifischen Fettsäuren ARA und DHA (Ogundipe et al., 2016).

ARA wird wie unter 1.4.4 beschrieben, entweder über die Nahrung aufgenommen oder aus Linolsäure synthetisiert. Schon in den 1970ern konnte in Untersuchungen von Gehirnen von Säugetieren nachgewiesen werden, dass die graue Hirnsubstanz 10-mal so viel ARA wie Linolsäure (C18:2n-6 12 mg/g Fettsäure; C20:4n-6 120 mg/g Fettsäure) enthält (Sinclair, 1975b). Andere Studien aus den 1970er Jahren an Ratten belegten, dass, wenn LA und ARA verabreicht werden, ARA bevorzugt in die Lipide der grauen Hirnsubstanz integriert wird (Sinclair, 1975a, Sinclair and Crawford, 1972). Diese zunächst an Tieren erhobene Selektivität für ARA während der Gehirnentwicklung bestätigte sich in einer Studie über freiwillige Schwangerschaftsabbrüche, in der das menschliche pränatale Gehirn untersucht wurde. Die Daten zeigten, dass der Anteil ARA-haltiger molekularer Spezies der Phosphoglyceride im fetalen Plasma ($15,6 \% \pm 0,9$) fast doppelt so hoch ist wie im mütterlichen Plasma ($8,2 \% \pm 0,71$). Im Gegensatz hierzu mehr als halbierte sich der fetale LA-Anteil im Plasma von $23 \% \pm 1,4$ auf $8,9 \% \pm 0,6$. Diese bevorzugte ARA-Anreicherung nennt sich Biomagnifikation und findet ebenfalls im Gewebe des Gehirns

statt. Der Anteil ARA-haltiger PC-Spezies im Gehirn betrug $16,6 \% \pm 1,3$ und von Phosphatidylethanolamin $22,6 \% \pm 1,3$, wohingegen der Anteil LA-haltiger PC-Spezies $1,1 \%$ betrug und PE-Spezies $0,47 \%$ betrug. (Crawford et al., 2023)

ARA übt im Gehirn wesentliche Funktionen aus. Es wirkt bei der Vermittlung von Aktionspotentialen zwischen Neuronen mit (Sanchez-Mejia et al., 2008), sowie bei der Signalübertragung (Vijayaraghavan et al., 1995) und der Langzeitpotenzierung (Williams et al., 1989). Außerdem trägt ARA dazu bei, die synaptische Plastizität des Hippocampus aufrechtzuerhalten (Fukaya et al., 2007) und schützt das Gehirn und die Neurone des Hippocampus vor oxidativem Stress (Wang et al., 2006).

1.3.5.2 DHA UND DAS GEHIRN

Das Gehirn ist das komplexeste Organ des Körpers. Zu den verschiedenen Zelltypen, aus welchen es sich zusammensetzt, gehören Neurone, Astrozyten, Gliazellen, Ependymzellen, Oligodendrozyten, Mikrogliazellen, Schwannzellen und Satellitenzellen (Sinclair, 2019). Schätzungsweise enthält das menschliche, männliche Gehirn $81,1 \pm 8,1$ Milliarden Neurone und $84,61 \pm 9,83$ nichtneuronale Zellen (Gliazellen) (Azevedo et al., 2009) und ein Vielfaches mehr an Synapsen (Nguyen, 2013), deren Funktion, basierend auf elektrischer und chemischer Signalübertragung, die Informationsweiterleitung von Zelle zu Zelle ist. Aufgrund dessen, dass das Gehirn so zellreich ist, sind die Zellmembranen von besonderer Bedeutung (Sinclair, 1975b).

Nach dem Fettgewebe enthält das Gehirn die zweithöchste Lipidkonzentration des Körpers. Das Nervengewebe der grauen Hirnsubstanz eines 10 Monate alten Säuglings besteht zu $36,4 \%$ aus Lipiden. Das der weißen Hirnsubstanz zu 49% und das der Myelinscheiden zu 78% aus Lipiden. Die im Gehirn enthaltenen Lipide sind gänzlich in den Zellmembranen, in Myelinscheiden und in Zellorganellen, wie den Mitochondrien lokalisiert. Die Membranen dieser Zellen setzen sich zusammen aus polaren Lipiden: Phosphoglyceriden, Sphingolipiden, Gangliosiden und Cholesterol. (O'Brien and Sampson, 1965b)

Das Besondere der Phosphoglyceride der grauen Hirnsubstanz und der Retina ist, dass sie im Vergleich zu den Zellmembranen anderer Gewebe, reich an DHA und ARA sind.

Der höchste DHA-Anteil findet sich in den Membranlipiden der Diskmembranen der Außenmembranen der Photorezeptorzellen der Retina (Fliesler and Anderson, 1983). Der hohe DHA-Anteil der Phosphoglyceride von Photorezeptorzellen lässt eine ausgeprägte Fluidität der Zellmembranen zu, welche die effiziente Konformationsänderung des Rhodopsin und der damit assoziierten G-Proteine während der Phototransduktion bewirkt. Rhodopsin ist ein lichtempfindlicher Rezeptor, welcher elektrische Signale über retinale Ganglienzellen an das Gehirn weiterleitet. Tiere, die eine Ω -3-Fettsäuren-arme Ernährung erhielten, zeigten Defizite des Sehvermögens. (Jastrzebska et al., 2011) Biophysikalische Studien deckten auf, dass die Rhodopsinfunktion davon abhängig ist, ob DHA in den Phosphoglyceriden der retinalen Zellmembran enthalten ist (Mitchell et al., 2012).

Wie unter 1.4.4 beschrieben, wird DHA aus ALA synthetisiert. Die Leber ist der Hauptort dieser Synthese. ALA ist in allen Zellen des Körpers vorhanden, jedoch ist es zum großen Teil in der β -Oxidation gebunden, sodass nur ein kleiner Teil als DHA-Vorläufer und somit dem Gehirn zur Verfügung steht. (Fu and Sinclair, 2000) Bisher wurde angenommen, dass DHA vorrangig als freiliegende Fettsäure (FS) das Gehirn erreicht (Lacombe et al., 2018). Allerdings weisen andere Studien darauf hin, dass an PC gebundenes DHA der bevorzugte DHA-Transporter des Gehirns ist (Hachem et al., 2016, Sugasini et al., 2017).

Dadurch, dass die Außenmembranen der Photorezeptorzellen der Retina so reich an DHA sind, liegt es nahe, dass sich ein DHA-Mangel auf die Funktion der Retina auswirkt. Ergebnisse von Tierstudien zeigten übereinstimmend, dass eine Ω -3-Fettsäuren-arme Ernährung eine Veränderung der Reaktion der Retina auf Licht, bewirkt (Bourre et al., 1989, Neuringer et al., 1986, Weisinger et al., 1996, Bush et al., 1994). Alle diese Studien zeigten, dass eine ALA-arme Ernährung zu einer verringerten DHA-Konzentration der Phosphoglyceride der Zellmembranen der Retina und des okzipitalen Kortexes (visuelles Verarbeitungszentrum) führten (Sinclair, 2019). Es zeigte sich, dass die Versorgung mit DHA die frühe Entwicklung des Visus beeinflusst. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority (EFSA)) schlussfolgerte, dass zwischen der DHA-Versorgung und der visuellen Funktion ein Kausalzusammenhang besteht (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies, 2010).

Lernen und Verhaltensweisen werden ebenfalls durch DHA-Mangel negativ beeinflusst. Um die Auswirkung einer ALA-armen Ernährung zu untersuchen, wurden in verschiedenen Studien Ratten in zwei Gruppen miteinander verglichen. Eine Versuchsgruppe erhielt eben diese ALA-arme Ernährung, wohingegen die Ernährung der Kontrollgruppe eine physiologische Nährstoffzusammensetzung enthielt. Um Erinnerungsvermögen und Lernen zu testen, mussten die Ratten den Weg aus unterschiedlichen Labyrinth herausfinden. Die Versuchsgruppe brauchte signifikant mehr Zeit und hatte eine schwächere Gedächtnisleistung verglichen mit der Kontrollgruppe. (Lim et al., 2005a, Bourre et al., 1989, Bondi et al., 2014, Francès et al., 1995, DeMar et al., 2006, Bhatia et al., 2011, Lim et al., 2005b)

1.4 ERNÄHRUNG FRÜHGEBORENER UND NEUGEBORENER

1.4.1 PRÄNATALE ERNÄHRUNG

1.4.1.1 DIE PLAZENTA UND NABELSCHNUR

Ab dem Ende des ersten Trimester bis zur Geburt ist die Versorgung mit Nährstoffen des Fetus allein von der Plazenta abhängig (Jauniaux et al., 2003). Die Plazenta ist eine große Struktur, die bei Reifgeborenen zum Zeitpunkt der Geburt etwa 0,5 kg wiegt (Sanin et al., 2001). In der Plazenta befindet sich die Plazentaschranke, die den mütterlichen vom fetalen Blutkreislauf trennt. Unterschiedliche Zellschichten gewährleisten den Transport von Nährstoffen (Haggarty, 2010). Zwischen der 10. SSW und dem errechneten Entbindungstermin (ET) verringert sich die Dicke der Trophoblasten um 6 μm , womit die materno-fetale Diffusionsstrecke von 40 μm auf 5 μm abnimmt. Die gesamte Fläche, die dem Nährstoffaustausch dient ist im Durchschnitt etwa 26 m^2 groß (Barker et al., 2010). Die Blutversorgungsrate der Plazenta (umbilical flow) ändert sich während der Schwangerschaft deutlich – sie steht in einer etwa linearen Beziehung zum fetalen Gewicht (Kaufmann, 1992)

1.4.1.2 FETALE WACHSTUMSRATE UND ANLAGE VON FETTSÄUREDEPOTS

Die Wachstumsrate eines Fetus steigt zwischen der 24. und 33. Woche PMA exponentiell (Ziegler et al., 1976a). Fettgewebe und Körpergewicht wachsen bis zur 40. SSW PMA exponentiell weiter, wohingegen sich die Wachstumsgeschwindigkeit von Gehirn, Lunge und Leber ab etwa der 33. SSW PMA verlangsamt (Bernhard et al., 2019b, Stocker et al., 2002, Apte and Iyengar, 1972). Die Rate der fetalen Fettspeicherung steigt exponentiell mit dem Schwangerschaftsalter und erreicht kurz vor der Geburt mit 7g/d ihren Höhepunkt (Widdowson, 1968). Während der Schwangerschaft wird über die Plazenta selektiv ARA und DHA zum Fetus transportiert. Transferraten der intrauterinen Akkretion von LC-PUFAs während des letzten Trimesters werden auf 106 mg/kg/Tag Linolsäure, 4 mg/kg/d α -Linolensäure, 212 mg/kg/d Arachidonsäure und 43 mg/kg/d Docosahexaensäure geschätzt (Lapillonne and Jensen, 2009b). Das führt dazu, dass die ARA-haltigen PC-Anteile im fetalen Plasma während der Schwangerschaft konstant etwa doppelt so hoch sind, wie die des mütterlichen Plasmas. Die DHA-haltigen PC-Anteile im fetalen Plasma übersteigen erst ab der 34. SSW PMA die der mütterlichen Werte (Bernhard et al., 2014).

Clandinin et al. (Clandinin et al., 1980) verglichen das Gehirngewicht, den Fettgehalt und die Fettsäurezusammensetzung totgeborener Kinder unterschiedlichen Alters miteinander und kamen zu dem Ergebnis, dass die Anreicherung der Ω -3-Fettsäuren des menschlichen Gehirns während des letzten Trimester ca. 15-22 mg/Woche und die ARA-Anreicherung 19-26 mg/Woche beträgt. Trotz der enormen neuronalen Bedeutung von ARA als Ω -6-Fettsäure und DHA als Ω -3-Fettsäure ist der Anteil der Ω -6-Fettsäuren, bzw. der Ω -3-Fettsäuren im fetalen Fettgewebe 62, bzw. 16 mal höher als im fetalen Gewebe des Gehirns (Clandinin et al., 1981a). Diese ARA- und DHA-Depots des Fettgewebes werden in den ersten zwei Lebensmonaten eines Reifgeborenen fast aufgebraucht (Farquharson et al., 1993). Aktuellere Daten der Tübinger Forschungsgruppe belegten diesen Umstand. Diese fand heraus, dass die LC-PUFA-PC- und PE-Anteile des Plasmas bereits innerhalb einer Woche nach Geburt eines Frühgeborenen sinken (Bernhard et al., 2014). Dabei repräsentiert das LC-PUFA-PC den Haupttransporter im Plasma, um extrahepatische Organe mit LC-PUFA zu

versorgen. LC-PUFA-PE hingegen repräsentiert den hepatischen LC-PUFA-Speicher (Skipski, 1972, Pynn et al., 2011, Bernhard et al., 2014, Grothe et al., 2015). Diese Dynamik der sich schnell verringernden LC-PUFA-Anteile im Blut Frühgeborener und des schnellen Aufbrauchens der ARA- und DHA-Anteile im Fettgewebe Reifgeborener, lässt den Schluss zu, dass das Fettgewebe als Speicher für die LC-PUFA ARA und DHA während der ersten, für Gehirn- und Netzhautentwicklung kritischen Lebensmonate dient (Haggarty, 2004).

Der ARA- und DHA-Anteil im fetalen Blut und Gewebe ist höher als der von anderen Fettsäuren (Lands et al., 1982). Dabei liegen diese FS nicht als freie FS vor, sondern gebunden an Phospholipide (PL) und Triglyceride (TGs).

1.4.1.3 BEREITSTELLUNG VON FETTSÄUREN FÜR FETALES WACHSTUM DURCH DIE SCHWANGERE

Während der Schwangerschaft nimmt die Mutter etwa 3500 g an Fettgewebe zu (Hyttén, 1991). Abhängig von der Ernährung und der Zufuhr von Ω -3-Fettsäuren ist eine beträchtliche Menge von DHA im mütterlichen Fettgewebe gespeichert. Omnivore Frauen haben im Durchschnitt einen DHA-Speicher von 19 g in den Lipiden ihres Fettgewebes (Leaf et al., 1995). Der maternale Körperfettanteil steigt bis zur 30. SSW linear und fällt dann, synchron mit der fetalen Fettzunahme, etwas ab (Hyttén, 1991). Ab der 30. SSW PMA sind die Nüchternfettwerte der Mutter sehr hoch, Triglyceride beispielsweise 117-750 mg/dl (Ryckman et al., 2015) (Normbereich Triglyceride bei Nichtschwangeren 150 mg/dl), was darauf hindeutet, dass die Fettspeicher sehr viel schneller verstoffwechselt werden, als im nichtschwangeren Zustand (Haggarty, 2010). Die Gesamtfettverbrennung der Mutter während der Schwangerschaft ist verringert (Butte, 2000) und ein hauptsächlicher Zweck der Fettmobilisation ist die Versorgung des Fetus (Haggarty, 2010).

Die Konzentration von Triglyceriden (Daniels et al., 2004), Phospholipiden (Al et al., 1995) und nicht veresterten Fettsäuren (McDonald-Gibson et al., 1975) im Blutkreislauf der Mutter steigt während der Schwangerschaft – insbesondere die der Triglyceride, welche um 250 % ansteigen (Daniels et al., 2004). Offenbar ist die Kontinuität der hohen Konzentrationen über den gesamten Tag wichtig, denn auch in nüchternem

Zustand haben Schwangere eine zweifach höhere TG-Konzentration (Daniels et al., 2004) als eine Nichtschwangere nach einer fetthaltigen Mahlzeit (Frayn, 2009)

1.4.1.4 BIOMAGNIFIKATION

Die Plazenta transportiert vorrangig ARA und DHA zum Fetus und hält dabei Linolsäure (C18:2) für den mütterlichen Organismus zurück, dieser Prozess nennt sich Biomagnifikation (Haggarty, 2010, Clandinin et al., 1981b). Ab dem späten zweiten Trimester steigt der Transport der LC-PUFA-PC zur Plazenta. Die Plazenta wiederum sezerniert Cholin, ARA und DHA sowie lipoproteinenthaltende LC-PUFA-PCs in den fetalen Kreislauf. In normalen Schwangerschaften steigen die fetalen Nährstoffansprüche in Übereinstimmung mit einer exponentiellen Wachstumsrate von der 24. bis zur 33. SSW PMA an. Nach der 33. Woche dezeleriert die allgemeine Wachstumsrate des Fetus und die der meisten Organe, nicht aber die von Lunge und Fettgewebe. (Bernhard et al., 2019b)

1.4.2 TRANSPORT DER FETTSÄUREN ZUM FETUS

Unveresterte Fettsäuren gelangen über die mikrovillöse Membran zum Fetus, nachdem sie aus dem Fettgewebe der Mutter mithilfe mütterlicher bzw. placentare Lipasen aus Triglyceriden mobilisiert und durch das Blut dorthin transportiert wurden (Herrera, 2000, Herrera et al., 1988, Magnusson et al., 2004). Alle Fettsäuren können die Lipiddoppelschicht per Diffusion durchwandern und Studien weisen darauf hin, dass dies, unabhängig von Länge und Struktur der Fettsäurekette, mit hoher Geschwindigkeit geschieht (23 ± 12 ms) (Kamp et al., 1995). Der Fetus erhält die benötigten Fettsäuren entweder von maternalen Triacylglycerin (TAG)-reichen Lipoproteinen und Very-Low-Density-Lipoproteins (VLDL) oder von an Albumin gebundenen freien Fettsäuren (Duttaroy and Basak, 2021). Die TAGs der mütterlichen VLDL werden durch die Lipoproteinlipase (LPL), welche in der mikrovillösen Plasmamembran der Plazenta exprimiert wird, in freie Fettsäuren hydrolysiert (Duttaroy and Basak, 2021). Fettsäureaufnahme/ und -transportproteine interagieren

mit den Albumin-Fettsäure-Komplexen in der mikrovillösen Plasmamembran und nehmen die freien Fettsäuren in die Synzytiotrophoblasten und überwinden anschließend die mikrovillöse Plasmamembran der Plazenta (Duttaroy, 2009). Intrazellulär werden die freien Fettsäuren an fatty-acid-bind-proteins (FABPs) gebunden transportiert (Duttaroy, 2009). Im dritten Trimester der Schwangerschaft steigt die Plasmakonzentration freier Fettsäuren und die Aktivität der plazentaren LPL (Duttaroy, 2009). Freie Fettsäuren stellen die Hauptklasse der Lipide dar, welche die Plazenta überqueren (Magnusson-Olsson et al., 2006)

1.4.2.1 ORT DER ARA- UND DHA-SYNTHESE

Es wurde postuliert, dass die plazentare ARA- und DHA-Synthese einer der Gründe für die höhere fetale LC-PUFA-Konzentration im Blut sei (Otto et al., 1997, Hoving et al., 1994, Berghaus et al., 2000, Benassayag et al., 1999). Jedoch enthält die Plazenta keine $\Delta 6$ - und keine $\Delta 5$ -Desaturase-Aktivität (Chambaz et al., 1985), sodass wenig für einen Beitrag der plazentaren Synthese zur ARA- und DHA-Versorgung spricht. Entscheidend ist vielmehr die transplazentare Zufuhr und ggf. eine fetale Synthese (Haggarty, 2010). Die Ergebnisse einer Studie mit [2H]-markierten Fettsäuren und der Untersuchung von LA-Elongation (Salem et al., 1996) und die Ergebnisse einer Studie, die die Konversion von LA zu ARA und von ALA zu DHA anhand von [^{13}C]LA und [^{13}C]ALA untersuchte (Carnielli et al., 1996), zeigen, dass ein humaner Fetus in der Lage ist, ARA und DHA zu synthetisieren. Jedoch ist es schwierig, die absolute LC-PUFA-Syntheserate in vivo zu quantifizieren (Haggarty, 2010). Aktuelle Studien der Studiengruppe aus Tübingen zeigten, dass postnatal, bei geringer Zufuhr, ARA und DHA in den Lipiden rapide absinken (Bernhard et al., 2014, Bernhard et al., 2019a). Eine plausible Erklärung für diese Beobachtung wäre, dass die ARA- und DHA-Syntheserate und die ARA- und DHA-Aufnahme mit der gegenwärtigen Ernährung nicht ausreicht, ein Frühgeborenes so wie in utero zu versorgen.

Die direkte Messung des Fettsäuretransports über die menschliche Plazenta ist schwierig und birgt ethische Hindernisse. Alle vorhandenen Techniken haben Nachteile und bieten bestenfalls einen Kompromiss aus der Qualität der Informationen und deren

physiologischer Bedeutung. Der größte Nachteil von Nabelschnurblut ist, dass lediglich eine Momentaufnahme der Nährstoffkonzentration dargestellt wird, die sich aus der plazentaren Nährstoffbereitstellung und der fetalen Verwertung zusammensetzt und dass damit keine Aussage über die Biokinetik von Nährstoffen getroffen werden kann (Haggarty, 2010).

1.4.3 POSTNATALE ERNÄHRUNG

Kohorten-Studien haben gezeigt, dass gestillte Kinder bessere Ergebnisse bei Intelligenztests erreichten als Kinder, die Formulanahrung erhielten (Morrow-Tlucak et al., 1988, Lucas et al., 1992, Belfort et al., 2013, Bernard et al., 2013, Luby et al., 2016, Ou et al., 2016).

6-15 % der Kinder weltweit kommen vor der 37. SSW PMA auf die Welt und sind somit Frühgeborene (Beck et al., 2010). 1-2 % der Kinder werden vor der 32. SSW PMA geboren (Tsimis et al., 2015, Tucker and McGuire, 2004). Wie unter 1.3.2 beschrieben, entwickelt sich das Fettgewebe im Rahmen des differentiellen Wachstums im Wesentlichen erst ab der 24. SSW PMA und wächst exponentiell bis zur 40. SSW PMA und dient nach Geburt als Reservoir der LC-PUFA ARA und DHA für das postnatale Gehirnwachstum (Bernhard et al., 2019b). Feten, welche im Falle einer Geburt unter Einsatz moderner Frühgeborenenmedizin theoretisch ab der 22. SSW PMA überlebensfähig sind (Ancel et al., 2015), konnten demnach noch kein bzw. viel weniger Fettgewebe anlegen und haben bei Geburt somit keine oder viel geringere LC-PUFA-Speicher als reife Neugeborene, was sich durch rasch abfallende ARA- und DHA-Anteile im Blut schon innerhalb einer Woche nach Geburt bemerkbar macht (Bernhard et al., 2016a). Frühgeburtlichkeit geht mit kurzfristigen und längerfristigen negativen Gesundheitsfolgen einher (Kamino et al., 2018, Löfqvist et al., 2018, Martin et al., 2011b), möglicherweise ist das postnatale LC-PUFA-Defizit eine der Ursachen hierfür. Nachfolgend wird daher auf die Fettsäurezusammensetzung, insbesondere ARA und DHA, postnataler Ernährung, also Muttermilch, Formulanahrung und parenterale Lipidemulsionen eingegangen.

1.4.3.1 HUMANE MUTTERMILCH

1.4.3.1.1 ZUSAMMENSETZUNG UND FETTSÄUREANTEILE HUMANER MUTTERMILCH

Humane Muttermilch ist eine komplexe und sehr variable Flüssigkeit, die den reifgeborenen Säugling, angepasst an dessen Bedürfnisse, ausgewogen ernähren soll (Sharp et al., 2014). Muttermilch enthält Wasser (87 %), die Makronährstoffe Lipide (3,8 %), Kohlenhydrate in Form von Laktose (7 %) und Proteine (1 %), sowie Mikronährstoffe und Salze (Ballard and Morrow, 2013). Lipide stellen mit 40-55 % bereitgestellter Energie die größte Energiequelle der Muttermilch dar (Koletzko et al., 2001). Die Lipide liegen als Emulsion und 98 % der Lipide als Triglyceride vor. Die verbleibenden Lipide sind gebunden in Diglyceriden, Monoglyceriden, Phospholipiden und Cholesterol oder liegen als freie Fettsäuren vor (Andreas et al., 2015). Lipide sind eine wichtige Quelle essentieller Nährstoffen wie PUFA, darunter auch LC-PUFA, fettlösliche Vitamine, komplexe Lipide und bioaktive Verbindungen (Koletzko, 2016). Die Fettsäurezusammensetzung ist Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Fettsäureanteile an den Gesamtlipiden in reifer Muttermilch und Parenteraler Lipidemulsion (Floris et al., 2020, Fresenius, 2019, Fresenius, 2015, Singh et al., 2021)

Angabe der Fettsäureanteile der Muttermilch als Mittelwert \pm Standardfehler. Angabe der Fettsäureanteile der Lipidemulsionen in Prozent (%).

	Muttermilch	Parenterale Lipidemulsion	
		SMOFlipid® 20 %	Omegaven® 10 %
		Gesättigte Fettsäuren	
Capronsäure (C6:0)	0,14 \pm 0,05		
Caprylsäure (C8:0)	0,25 \pm 0,05	13 - 24	
Caprinsäure (C10:0)	1,61 \pm 0,16	5 - 15	
Laurinsäure (C12:0)	6,14 \pm 0,38		
Myristinsäure (C14:0)	6,80 \pm 0,34		2 - 7
Palmitinsäure (C16:0)	22,2 \pm 0,47	7 - 12	4 - 12

Stearinsäure (C18:0)	6,46 ± 0,18	1,5 - 4	
Arachinsäure (C20:0)	0,23 ± 0,03		
Einfach ungesättigte Fettsäuren			
Myristoleinsäure (C14:1n-5)	0,20 ± 0,02		
Palmitoleinsäure (C16:1n-7)	2,30 ± 0,10		4 - 10
Ölsäure (C18:1n-9)	32,9 ± 0,72	23 - 35	15,1
Vaccensäure (C18:1n-7)	1,87 ± 0,22		
Erucasäure (C22:1n-9)	0,11 ± 0,01		
Ω-3 mehrfach ungesättigte Fettsäuren (n-3 LC-PUFA)			
α-Linolensäure (C18:3n-3)	0,97 ± 0,06	1,5 - 3,5	1,8
Eicosapentaensäure (C20:5n-3)	0,09 ± 0,01	1,0 - 3,5	19,2
Docosapentaensäure (C22:5n-3)	0,15 ± 0,01		
Docosahexaensäure (C22:6n-3)	0,31 ± 0,03	1,0 - 3,5	12,1
Ω-6 mehrfach ungesättigte Fettsäuren (n-6 LC-PUFA)			
Linolsäure (C18:2n-6)	15,0 ± 0,74	14 - 25	4,4
γ-Linolensäure (C18:3n-6)	0,17 ± 0,03		
Eisoadiensäure (C20:2n-6)	0,38 ± 0,03		
Dihomo- γ-Linolensäure (C20:3n-6)	0,41 ± 0,02		
Arachidonsäure (C20:4n-6)	0,48 ± 0,03	0,4	2,1
Docosatetraensäure (C22:4n-6)	0,10 ± 0,01		
Adrensäure (C22:5n-6)	0,08 ± 0,02		

1.4.3.1.2 ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN DER MUTTERMILCH-LIPIDE

Die Lipide liegen als 1 - 10 µm große, feinverteilte Fettkügelchen (Milk fat globule, MFG) vor, die in ihrer Mitte unpolare Fette, hauptsächlich Triglyceride, enthalten und von einer Membran aus amphiphilen Komponenten, insbesondere Phospho- und Glycolipiden begrenzt sind. Der Triglycerid-Kern in der Mitte des MFG macht 98 - 99 % des gesamten MFG aus. Sobald die in einer Emulsion vorliegenden Fette aus dem endoplasmatischen Retikulum ins Zytosol sezerniert wurden, wird der Kern von einer inneren Membran, die dem endoplasmatischen Retikulum der mütterlichen Alveolarzellen der Brustdrüse entstammt, bedeckt. Wenn die Tröpfchen in den Alveolarraum ausgeschieden werden, werden sie von einer äußeren Membran bedeckt, die aus der Plasmamembran der mütterlichen Alveolarzellen der Brustdrüse stammt. Diese Membran enthält große Mengen von amphiphilen bioaktiven Verbindungen, wie Glycerophospholipide (PC, PE, PI, PS), Sphingolipide (Sphingomyelin, Cerebroside, Ganglioside), Cholesterol und glycosylierte Proteine. (Contarini and Povolo, 2013) Es wird angenommen, dass die meisten Phospholipide, die Cholin enthalten (Phosphatidylcholin (PC), Sphingomyelin (SM)), an der äußeren Membran – wohingegen Phosphatidylethanolamin (PE), Phosphatidylserin (PS) und Phosphatidylinositol (PI) hauptsächlich an der inneren Seite der Membran lokalisiert sind (Deeth, 1997).

Die physikalischen und ernährungsphysiologischen Eigenschaften der Triglyceride sind vor allem durch ihre Fettsäurezusammensetzung bestimmt. Menschliche Muttermilch enthält mehr als 200 Fettsäuren, die in unterschiedlichen Konzentrationen vorkommen (Koletzko et al., 1988). Die Milch sich europäisch ernährender Frauen enthält 35-40 % gesättigte Fettsäuren, 45-50 % einfach ungesättigte und 15 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren (Grote et al., 2016).

1.4.3.1.3 EINFLUSS DER MATERNALEN ERNÄHRUNG AUF MUTTERMILCH-LIPIDE

Die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch, vor allem der LC-PUFAs, wird entscheidend durch die maternale Ernährung beeinflusst (Mosca and Gianni, 2017). Ungefähr 75 % der in Muttermilch enthaltenen LA wird aus der Nahrung aufgenommen. Dabei ist die Aufnahme von LA insbesondere durch Veränderungen in der Ernährung aufgrund von Gesundheitspropaganda, Änderungen der landwirtschaftlichen Produktion und Konzeption von Fertignahrungsmittel, Transport und Handel, Urbanisierung und Globalisierung der Ernährung in den letzten Jahrzehnten um ein Vielfaches gewachsen und übersteigt die erforderliche Menge (Simopoulos, 2006, Hibbeln et al., 2004, Sanders, 2000, Blasbalg et al., 2011). Der ARA- und DHA-Gehalt der Ernährung schwankt wesentlich. So liegt er bei der Bevölkerung Boliviens etwa bei 0,96 % (0,44-1,48) ARA und 0,62 % (0,31-0,93) DHA und in den Westlichen Industrieländern bei 0,47 % (0,25-0,7) ARA und 0,23 % (0,07-1,2) DHA (Innis, 2014).

1.4.3.1.4 UNTERSCHIEDE DER FETTSÄUREZUSAMMENSETZUNG VON MUTTERMILCH FRÜH- UND REIFGEBORENER

Die Muttermilch Frühgeborener und reifer Neugeborener unterscheidet sich: Erstere ist um 23 % reicher an ARA und DHA. Dennoch machen diese Fettsäuren nur einen sehr geringen Anteil an den Milchfettsäuren aus (Maas et al., 2017a). Die Untersuchungen der Tübinger Forschungsgruppe von Muttermilch, ergab einen ARA- und DHA-Gehalt in der Muttermilch von Reifgeborenen von 0,66 % (0,61-0,73), bzw. 0,35 % (0,31 - 0,40). Die Werte waren für die Mütter Frühgeborener um 1,76-fach für ARA (0,81 % (0,71 - 0,93)) und um 1,65-fach für DHA (0,43 % (0,35 - 0,59)) höher (Maas et al., 2017b). Die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch von Frühgeborenen im Vergleich mit Reifgeborenen, ist Tab. 7 zu entnehmen.

Tabelle 7: Fettsäurezusammensetzung von Muttermilch Früh- und Reifgeborener (Maas et al., 2017b)

Angabe der Fettsäureanteil in g % als Median als Interquartilenabstand (25.-75. Perzentile)

		Frühgeborene	Reifgeborene
Laurinsäure	C12:0	7,50 (4,53 - 10,16)	9,16 (7,11 - 11,01)
Myristinsäure	C14:0	8,18 (6,27 - 10,6)	10,14 (7,9 - 11,17)
Palmitinsäure	C16:0	20,18 (18,80 - 21,70)	21,00 (20,27 - 22,15)
Palmitoleinsäure	C16:1n-7	3,33 (2,72 - 3,89)	2,92 (2,45 - 3,09)
Stearinsäure	C18:0	7,07 (6,28 - 7,89)	7,11 (6,66 - 8,63)
Ölsäure (OA)	C18:1n-9	35,60 (33,15 - 39,16)	32,69 (31,05 - 36,47)
Linolsäure (LA)	C18:2n-6	12,83 (10,95 - 14,53)	12,73 (10,77 - 12,81)
γ -Linolensäure (GLA)	C18:3n-6	0,16 (0,13 - 0,20)	0,13 (0,09 - 0,15)
Arachinsäure	C20:0	0,22 (0,19 - 0,26)	0,24 (0,21 - 0,30)
α -Linolensäure (ALA)	C18:3n-3	1,02 (0,81 - 1,33)	1,11 (0,84 - 1,25)
Cis-8,11,14-Eicosatriensäure	C20:3n-6	0,83 (0,70 - 0,96)	0,61 (0,59 - 0,65)
Behensäure	C22:0	0,10 (0,08 - 0,13)	0,30 (0,26 - 0,35)
Arachidonsäure (ARA)	C20:4n-6	0,81 (0,71 - 0,93)	0,66 (0,61 - 0,73)
Eicosapentaensäure (EPA)	C20:5n-3	0,12 (0,10 - 0,15)	0,13 (0,11 - 0,17)
Adrensäure	C22:4n-6	0,19 (0,14 - 0,24)	0,21 (0,20 - 0,28)
Docosapentaensäure	C22:5n-3	0,12 (0,10 - 0,14)	0,12 (0,11 - 0,13)
Docosahexaensäure	C22:6n-3	0,43 (0,35 - 0,59)	0,35 (1,52 - 2,26)

1.4.3.1.5 ARA- UND DHA-DEFIZIT

Die im vorhergehenden Abschnitt erwähnte Studie ergab ferner, dass Muttermilch Frühgeborener im Median 300 mg/l (243 - 377) ARA und 159 mg/l (120 - 233) DHA enthielt (Maas et al., 2017a). Wenn die enterale Ernährung mit 150 ml/kg/d vollständig aufgebaut ist, was bei Frühgeborenen mit einem GA von 28. SSW PMA und geringer etwa sieben Tage dauert (Bernhard et al., 2014), erhalten Frühgeborene somit 45 (37 - 57) mg/kg/d ARA und 24 (18 - 35) mg/kg/d DHA. Im Gegenzug dazu wird der Fetus während des letzten Trimesters über die Plazenta mit 43 mg/kg/d DHA und 140 - 212 mg /kg/d ARA versorgt, was in einem durchschnittlichen täglichen Defizit von 20 mg/kg/d DHA und mindestens 95 mg/kg/d ARA bei regulärer, oraler Ernährung der Frühgeborenen durch Muttermilch resultiert (Lapillonne and Jensen, 2009a, M, 2005, Clandinin et al., 1981b, Innis, 2005).

Hinzu kommt, dass die Varianz der ARA- und DHA-Konzentration in menschlicher Muttermilch so groß ist, sodass 25 % der reifen Kinder sogar weniger als 18 mg/kg/da DHA und weniger als 36 mg/kg/d ARA erhalten (Bernhard et al., 2016b).

Brenna et al. erhoben eine Metaanalyse mit 65 Studien über Muttermilch von insgesamt 2,474 Frauen und kamen zu dem Ergebnis, dass Muttermilch reifer Neugeborener $0,47 \pm 0,13$ % ARA und $0,32 \pm 0,22$ % DHA enthält (Brenna et al., 2007b). Die geringere Variabilität der ARA-Konzentration ist darauf zurückzuführen, dass ARA in einem höheren Maß metabolisch reguliert wird (Diau et al., 2005). Studien mit stabilen Isotopen konnten zeigen, dass 90 % der ARA in der Muttermilch nicht von den in der Ernährung enthaltenen Lipiden, sondern mütterlichen ARA-Speichern entstammt (Del Prado et al., 2001).

Im Gegensatz dazu ist die DHA-Zufuhr durch Ernährung der bestimmende Faktor für den DHA-Gehalt der Milch, da er linear mit der diätetischen DHA-Zufuhr zusammenhängt (Fidler et al., 2000). Reifgeborene können nach Geburt auf die pränatal mit PUFA angereicherten Fettreserven zurückgreifen. Frühgeborene, welche keine oder nur geringe Fettdepots anlegen konnten (Bernhard et al., 2016a), werden von einer Unterversorgung, welche schon bei 25 % der Reifgeborenen vorliegt, um ein Vielfaches mehr betroffen sein (Maas et al., 2017a).

Frühgeborene entwickeln sehr rasch und unabhängig von der Art der Ernährung ein postnatales ARA- und DHA-Defizit (Martin et al., 2011b, Leaf et al., 1992, Robinson et al., 2013, Bernhard et al., 2014). Eine der ersten Studien zum postnatalen Fettsäureabfall bei reifen Neugeborenen, ist aus dem Jahr 1992. Das Resultat dieser Kohortenstudie war, dass unabhängig von der Art der Ernährung (in diesem Fall Muttermilch oder Säuglingsformula) der Anteil ARA- und DHA-haltiger molekularer Spezies in den Phosphoglyceriden des Plasmas bis zwei Wochen nach Geburt um 40 - 50 % gesunken war (Leaf et al., 1992).

Eine weitere Studie verglich die Auswirkung der Ernährung mit Muttermilch oder Säuglingsformula auf den ARA- und DHA-Anteil. Diese Studie zeigte, dass der ARA- und DHA-Anteil in den TG des subkutanen Fettgewebes reif- und fast reifgeborener Kinder bei Ernährung mit Muttermilch ebenfalls nach der Geburt sank, wohingegen der LA-Anteil anstieg. Die Kinder, die mit DHA-freier Säuglingsformula ernährt wurden, zeigten eine Abnahme des DHA-Gehalts auf 0,05 % innerhalb der 8 Wochen nach Geburt (Farquharson et al., 1993). Die Veränderung der Zusammensetzung der Phospholipidfettsäuren des Plasmas Frühgeborener ist bei enteraler Ernährung 7-10 Tage nach Geburt (und damit schneller als bei Reifgeborenen) abgeschlossen (Bernhard et al., 2014). Außerdem ist davon auch das PE im Plasma betroffen, welches die Parenchym Speicher der Leber repräsentiert (Bernhard et al., 2014). Der schnellere Anstieg der Fettsäuren LA und ALA und das schnellere Absinken von ARA und DHA ist multifaktoriell bedingt. Er begründet sich unter anderem dadurch, dass bei Frühgeborenen keine adäquaten ARA- und DHA-Speicher im Fettgewebe angelegt sind. Studien zeigten, dass Frühgeborene LA zu ARA und ALA zu DHA konvertieren können (Carnielli et al., 1996, Uauy et al., 2000), allerdings konnte bisher nicht gezeigt werden, dass die Syntheserate ausreicht, den LC-PUFA-Bedarf eines Frühgeborenen zu decken (Frazer and Martin, 2021).

1.4.3.2 FORMULANAHRUNG

Formulanahrung soll einen effektiven Ersatz für die Muttermilch darstellen. Ihre Nährstoffzusammensetzung soll die der Muttermilch imitieren. Säuglingsfertignahrung ist in drei unterschiedlichen Formen beziehbar: 1. Pulver. Es wird mit Wasser angerührt und ist die günstigste Form der Formulaernährung. 2. Konzentrierte Flüssigkeit. Die Flüssigkeit muss im Verhältnis 1:1 mit Wasser verdünnt werden. 3. Fertige Flüssigkeit. Die fertige, flüssige Formula muss nicht vorbereitet werden, sondern kann direkt verfüttert werden. Sie ist die kostspieligste Form der Formulae. Die meisten Formulanahrungen basieren auf Kuhmilch (Martin et al., 2016).

1.4.3.2.1 GESETZLICHE VORGABEN UND EMPFEHLUNGEN

Bis 2016 lautete die Gesetzgebung, dass Säuglingsformula mindestens genauso viel ARA wie DHA enthalten muss und das höchstens 0,5 % der Fettsäuren DHA sein darf (EU, 2006). Seit 2016 gibt die europäische Kommission vor, dass Säuglingsformula zwischen 20-50 mg DHA/100 kcal (ca. 0,5 - 1 % der Fettsäuren) enthalten sollen. Formula ohne DHA-Inhalt sind ab Inkrafttreten dieser Gesetzgebung im Februar 2021 nicht mehr zugelassen (EU, 2016). Zur Überraschung vieler Pädiater und Ernährungsspezialisten, wurde keine Untergrenze für den ARA-Gehalt in Formulaernährung definiert. Vor dem Hintergrund, dass Muttermilch weltweit anerkannt ist, die adäquateste Ernährung für Neugeborene zu sein – und Muttermilch immer DHA und ARA enthält (Brenna et al., 2007a), wird dieses Gesetzgebung von Wissenschaftlern und Pädiatern sehr kritisch betrachtet (Bührer et al., 2020, Koletzko et al., 2020, Sambra et al., 2021). Im Widerspruch zur Gesetzgebung steht die Empfehlung der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation (Food and Agriculture Organization (FAO)), welche für Neugeborene bis zum Alter von 6 Monaten eine ARA-Zufuhr von 0,2 - 0,3 % der Energiezufuhr (Energieprozent [E%]; $\approx 11 - 33$ mg ARA/100 kcal) und eine DHA-Zufuhr von 0,1 - 0,18 E% ($\approx 11 - 20$ mg DHA/100 kcal) empfiehlt. Die Empfehlungen der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority, EFSA) aus dem Jahr 2013 weicht ebenfalls von den gesetzlichen Vorschriften ab. Diese legte fest, dass Neugeborene bis ins Alter von 6 Monaten, einen

täglichen Bedarf von 140 mg ARA und 100 mg DHA haben (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies, 2013). Auch die aktuelle Empfehlung der Europäischen Gesellschaft für pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN) aus dem Jahr 2022 hält eine ARA Untergrenze für notwendig und empfiehlt eine ARA-Zufuhr von 30 - 100 mg/kg/d und eine DHA-Zufuhr von 30 - 65 mg/kg/d (Embleton et al., 2023).

1.4.3.3 AKTUELLE STUDIENLAGE

1.4.3.3.1 AUSWIRKUNG VON ARA UND DHA AUF DIE BLUTLIPIDE

Carlson et. al. zeigte, dass der ARA-Anteil am Gesamt-PC nach Geburt im Blutplasma von reifen Neugeborenen 75 mg/l und von Frühgeborenen 70 mg/l betrug. Bei Frühgeborenen, welche mit Formulanahrung ohne ARA und DHA ernährt wurden, sank der ARA-Anteil am Gesamt-PC im Plasma bis zum korrigierten Alter von 4 Monaten auf etwa 40 mg/l. Erst im korrigiertem Alter von 6 Monaten stieg der ARA-Anteil allmählich. Frühgeborene, die mit der Formulanahrung 0,2 % DHA und 0,3 % EPA aber kein ARA erhielten, zeigten im korrigierten Alter von 4 Monaten sogar noch niedrigere ARA-Anteile im Plasma (30 mg/l). Im Gegensatz dazu wiesen Frühgeborenen, welche mit Formulanahrung ernährt wurden, die 0,43 % ARA und 0,1 % DHA enthielt, einen ähnlichen ARA-Anteil am Gesamt-PC im Plasma auf, wie Reifgeborene, die mit Muttermilch ernährt wurden. (Carlson, 1996)

Robinson et. al. untersuchte 2016 die Auswirkung von DHA und ARA auf die Fettsäurezusammensetzung der Phospholipide der Erythrozytenmembranen. Die 28 in der Studie aufgenommenen Frühgeborenen waren im Median in der 26. SSW (IQR 25 - 27) geboren worden, wogen 806 g (IQR 663 - 923) und wurden in drei Gruppen aufgeteilt. Gruppe 1 ($n = 9$) erhielt einmal täglich buccal verabreichtes geringer dosiertes ARA und DHA (40 mg/kg/d ARA und 20 mg/kg/d DHA), Gruppe 2 ($n = 9$) erhielt höher dosiertes ARA und DHA (120 mg/kg/d ARA und 60 mg/kg/d DHA). Gruppe 3 ($n = 10$) erhielt auf die gleiche Weise Sonnenblumenöl ohne ARA- und DHA-Zusatz. Die Analyse 2 und 8 Wochen nach Geburt zeigte keine signifikanten Unterschiede der

Fettsäurezusammensetzung der Phospholipide der Erythrozytenmembranen. In allen drei Gruppen stieg der DHA-Anteil zwischen der 2. und 8. Lebenswoche um 31 % ($p < 0,04$) wohingegen sich die ARA-Level über diese Zeit nicht veränderten ($p > 0,6$). Die täglich buccal verabreichte ARA- und DHA-Supplementierung hatte also keine Auswirkung auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembranen Frühgeborener mit extrem niedrigem Geburtsgewicht, allerdings wurde durch die Supplementierung die postnatale ARA- und DHA-Abnahme im Blut vermieden. (Robinson et al., 2016)

Frost et. al. untersuchte 2020 die LC-PUFA-Konzentration im Blut von 30 Frühgeborenen (GA im Median 28 SSW (IQR 27 - 30), Geburtsgewicht im Median 1040 g (IQR 910 - 1245)). Die niedrig dosierte Gruppe 1 erhielt mit der Ernährung 80 mg/kg/d ARA und 40 mg/kg/d DHA, die höher dosierte Gruppe 2 erhielt 240 mg/kg/d ARA und 120 mg/kg/d DHA und Gruppe 3 erhielt Sonnenblumenöl ohne ARA und DHA. Am 2. Lebenstag wurden Ausgangswerte (Baseline) abgenommen und die Supplementierung gestartet. Jeweils 2 und 8 Wochen nach Geburt wurden die Fettsäurezusammensetzung im Blut analysiert. Im Vergleich zur Baseline sank die DHA-Konzentration im Blut nach zwei Wochen in der niedrig dosierten Gruppe 1 im Median um 0,14 Gew.-% (IQR -0,72 - - 0,26) und in der Placebogruppe im Median um -0,63 Gew.-% (IQR - 0,96 - -0,55), in der höher dosierten Gruppe 2 stieg die DHA-Konzentration im Median um 0,46 Gew.-% (IQR 0,17 - 0,81) ($p = 0,002$ in allen Gruppen). Auch die ARA-Konzentration im Blut unterschied sich nach zwei Wochen von der Baseline (Gruppe 1: 0,1 (IQR -2,1 - -1,1); Gruppe 2: 2,9 (IQR 1,5 - 4,5); Gruppe 3: -2,2 Gew.-% (IQR -3,9 - -1,7); $p = 0,02$). Nach 8 Wochen fielen die Unterschiede im Vergleich zur Baseline noch deutlicher aus: DHA in Gruppe 1: 0,34 Gew.-% (0,1 - 1,0), in Gruppe 2: 0,6 Gew.-% (0,29 - 1,32), in Gruppe 3: -0,82 Gew.-% (-1,14 - -0,6). ARA in Gruppe 1: 0,099 Gew.-% (-2,1 - 1,1), in Gruppe 2: 2,02 Gew.-% (0,78 - 3,17), in Gruppe 3: -2,2 Gew.-% (-3,9 - -1,7). Frost et. al. schlussfolgerten hieraus, dass die enterale Supplementierung von ARA und DHA die DHA-Konzentration im Blut erhöht und dass wahrscheinlich eine Dosis von 240 mg/kg/d ARA + 120 mg/kg/d DHA nötig ist, um eine ARA- und DHA-Abnahme im Blut zu verringern, sowie um eine ARA- und DHA-Zunahme ermöglichen zu können. (Frost et al., 2021)

1.4.3.3.2 AUSWIRKUNG VON ARA UND DHA AUF DIE NEUROLOGISCHE ENTWICKLUNG

Eine Studie aus dem Jahr 2019 (Lepping et al., 2019) untersuchte die Auswirkung der LC-PUFA ARA und DHA in Säuglingsformula auf die neurologische Entwicklung Neugeborener bis ins Alter von 12 Monaten. 38 Kinder wurden vier unterschiedlichen Gruppen zugeteilt und erhielten vier unterschiedliche Säuglingsformula, die bis auf den ARA- und DHA-Gehalt identisch waren. Gruppe 1 war die Kontrollgruppe und erhielt weder ARA noch DHA in der Formula. Die Ernährung der Gruppe 2 beinhaltete zu 0,32 % der Fettsäuren DHA (17 mg/100 kcal), Gruppe 3 erhielt Formula, welche zu 0,64 % der Fettsäuren DHA (34 mg/100 kcal) enthielt. Gruppe 4 bekam 0,96 % der Fettsäuren als DHA (51 mg/100 kcal). Alle Gruppen, die DHA erhielten, bekamen auch ARA zu 0,64 % der Fettsäuren (34 mg/100 kcal). Das DHA wurde aus Algenölen (*Cryptocodium cohnii*) gewonnen und das ARA entstammte Pilzen (*Mortierella alpina*). Diese Studie zeigte anhand von MRT-Bildgebung, dass die Supplementierung mit LC-PUFA während des 1. Lebensjahres langfristige Auswirkungen auf die Struktur und Funktion des Gehirns hat. Die Kinder der 0,64 %-Gruppe wiesen im Vergleich zu allen anderen Gruppen eine größere Konnektivität zwischen präfrontaler und parietaler Region auf. Außerdem ergab eine voxel-basierte Analyse, dass die 0,32 %- und 0,64 %-Gruppen im Vergleich zur 0,96 %- und Kontrollgruppe, in der weißen Substanz des anterioren cingulären Cortex und des Parietallappens ein größeres Volumen hatten. (Lepping et al., 2019).

Die Arbeitsgruppe der DINO-Studie (Englisch für „DHA for Improvement of Neurodevelopmental Outcome in Preterm Infants“; zu Deutsch also „DHA zur Verbesserung der neurodevelopmentalen Ergebnisse/neurologischen Entwicklung Frühgeborener“) untersuchte, wie sich die DHA-Supplementierung auf die neurologische Entwicklung auswirkt. Dafür wurden 611 sehr Frühgeborene (GA < 33 SSW) in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe erhielt ab dem 2. - 4. Lebenstag bis zum errechneten Geburtstermin enterale Ernährung mit einer DHA-Konzentration von etwa 1 % aller Fettsäuren, die andere Gruppe erhielt wie oben beschrieben enterale Ernährung mit einer DHA-Konzentration von etwa 0,3 % aller Fettsäuren. Im korrigierten Alter von 18 Monaten wurde anhand des Bayley Mental Development Index (MDI) die neurologische Entwicklung der Kinder beider Gruppen miteinander

verglichen. Insgesamt gab es keinen Unterschied zwischen den Gruppen, allerdings erreichten Mädchen der Gruppe mit der 1 %-igen DHA-Nahrung einen höheren MDI-Score (Mitteldifferenz 4,7; 95 %-Konfidenzintervall 0,5 - 8,8), als die mit der 0,3 %-igen Nahrung (Mitteldifferenz 4,5; 95 %-Konfidenzintervall 0,5 - 8,5). (Makrides et al., 2009)

Eine Follow-up-Studie der N3RO-Studie (n-3 Fatty Acids for Improvement in Respiratory Outcomes-trial) untersuchte insgesamt 1273 ehemalige Frühgeborene (GA < 29 Wochen) im korrigierten Alter von 18 Monaten, die ab einem Alter von wenigen Tagen nach Geburt bis zur 36. W PMA entweder eine enterale Emulsion mit 60 mg/kg/d DHA erhielten, oder in der Kontrollgruppe Sojaöl ohne DHA-Zusatz, auf die Aufmerksamkeitsspanne für ein Spielzeug in An- oder Abwesenheit anderer Spielzeuge, bzw. eines Distraktors (Fernseher). Die Aufmerksamkeitsspanne unterschied sich nicht von der der Kontrollgruppe (Mittelwertdifferenz: 0,08 Sekunden; 95 %-Konfidenzintervall 0,81 - 0,97; p = 0,86). Die enterale alleinige DHA-Supplementierung wirkte sich im korrigierten Alter von 18 Monaten also nicht positiv auf die Aufmerksamkeitsspanne ehemalig Frühgeborener aus. (Hewawasam et al., 2021)

Eine weitere Follow-Up-Studie der N3RO-Studie untersuchte die Auswirkung der oben genannten Ernährung auf die Intelligenz ehemaliger Frühgeborener im Alter von 5 Jahren. Die DHA-Supplementierung war assoziiert mit einem gering höheren Full-Scale Intelligence Quotient (FSIQ: $95 \pm 17,3$) im Vergleich zur Kontrollgruppe (FSIQ: $91 \pm 19,1$), die keinen DHA-Zusatz erhielt (Mittelwertdifferenz 3,45; 95 %-Konfidenzintervall 0,38 - 6,53; p = 0,03). (Gould et al., 2022)

1.4.3.3.3 AUSWIRKUNG VON ARA UND DHA AUF FRÜHGEBORENENRETINOPATHIE

Eine Analyse Frühgeborener mit ROP (Retinopathy of Prematurity) ergab, dass betroffene Frühgeborene niedrigere ARA-Konzentrationen im Plasma als nicht betroffene hatten (ARA-Fläche unter der Kurve Betroffener: 34,05 Mol% (Konfidenzintervall 32,10 - 36,00) vs. Nichtbetroffener 37,15 Mol% (Konfidenzintervall 34,85 - 39,46)) (Löfqvist et al., 2018).

Die randomisiert kontrollierte, multizentrischen Mega-Donna-Studie aus Schweden widmete sich der Fragestellung, ob die enterale Supplementierung von 100 mg/kg/d ARA und 50 mg/kg/d DHA von der Geburt bis 40 Wochen PMA das Risiko für ROP (Stadium 3 und/oder Typ 1) bei extrem Frühgeborenen beeinflusst. Insgesamt wurden 206 Frühgeborene, die vor der 28. SSW geboren wurden, in die Studie aufgenommen und aufgeteilt in eine Gruppe mit ARA- und DHA-Supplementierung und eine Kontrollgruppe, die keine Supplementierung erhielt. 15,8 % der Gruppe mit Supplementierung entwickelte eine schwere ROP, in der Kontrollgruppe waren es 33,3 % (Relatives Risiko 0,5 (95% - Konfidenzintervall, 0,28 – 0,91) ($p = 0,02$)) (Hellström et al., 2021a). Die Studie ergab also, dass die enterale Supplementierung mit ARA und DHA im Vergleich zur Standardbehandlung das Risiko für eine schwere ROP um 50 % senkt und zudem zu im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne ARA- und DHA-Supplementierung höheren ARA- und DHA-Serumspiegeln führt (Hellström et al., 2021a). Eine weitere Veröffentlichung dieser Arbeitsgruppe befasste sich mit der Fragestellung, ob der Schweregrad einer ROP (keine ROP/Stadien 1 - 2, oder schwere ROP/Stadium 3 und Typ 1) abhängig ist von den LC-PUFA- insbesondere den ARA- und DHA-Serumspiegeln innerhalb der ersten 28 Lebenstage nach einer Frühgeburt (GA < 28 SSW). Diese Kohortenstudie ergab, dass höhere durchschnittliche tägliche DHA-Serumspiegel in den ersten 28 Tagen mit einer weniger schweren ROP assoziiert waren, allerdings nur, wenn die Frühgeborenen auch ausreichend hohe ARA-Level aufwiesen (Hellström et al., 2021b).

1.4.3.3.4 AUSWIRKUNG VON ARA UND DHA AUF DIE ATMUNG UND MORBIDITÄT

Martin et al. untersuchte die Fettsäureprofile 88 Frühgeborener (<30 SSW. PMA) im ersten Lebensmonat und stellte fest, dass mit jeder ARA-Abnahme um 1 Mol% im Blut Frühgeborener, das Risiko für eine nosokomiale Sepsis um 40 % steigt (Martin et al., 2011a).

In der multizentrischen N3RO-Studie zeigte sich, dass der enterale alleinige DHA-Zusatz (60 mg DHA/kg) ohne ARA-Zusatz zur Ernährung Frühgeborener (<1000 g Geburtsgewicht, Geburt vor der 29. SSW. PMA) im Vergleich zur Kontrollgruppe, welche weder zusätzliches ARA noch DHA erhielt, zu einem erhöhten Risiko führte an einer Bronchopulmonalen Dysplasie zu erkranken oder vor der 36. Woche PMA zu versterben (52,3% vs. 46,4% (95% KI 1,00 - 1,23) (Collins et al., 2017).

Die Arbeitsgruppe der ImNut-Studie (Immature, Nutrition Therapie) befasste sich mit der Auswirkung der kombinierten ARA- und DHA-Supplementierung im Verhältnis 2:1 von 120 extrem Frühgeborenen (GA < 29 Wochen, durchschnittliche Schwangerschaftsdauer $26,4 \pm 1,7$ SSW) auf die Beatmungsdauer, den O_2 -Bedarf, BPD und andere schwerwiegende Erkrankung Frühgeborener (Nekrotisierende Enterocolitis, Intraventrikuläre Hämorrhagie, Persistierender Ductus arteriosus, Neugeborenenensepsis). Diese erhielten ab dem 2. - 4. Lebenstag bis zur 36. Woche PMA in der einen Gruppe täglich enteral 100 mg/kg ARA und 50 mg/kg DHA, und in der Kontrollgruppe Öl aus mittelkettigen Fettsäuren ohne ARA und DHA. Die Gruppe mit ARA- und DHA-Zusatz hatte eine kürzere Beatmungsdauer (im Durchschnitt 63,4 d (95 %-Konfidenzintervall 56,6 - 71,3 vs. 80,6 d (72,4 - 88,8); $p = 0,03$) und einen geringeren O_2 -Bedarf. Es konnten sich jedoch keine Unterschiede der Gruppen bezüglich der BPD-Inzidenz und anderer Morbiditäten feststellen lassen. Die Arbeitsgruppe kam zu dem Schluss, dass die ARA- und DHA-Supplementierung im Verhältnis 2:1 sicher ist und sich positiv auf die Atmung auswirken könnte. (Wendel et al., 2023)

In Anbetracht der Studienlage kann es bedeuten, dass hohe DHA- bei niedriger oder nicht vorhandener ARA-Zufuhr entwicklungsphysiologisch und funktionell nachteilig sein könnte. Somit ist die unter 1.4.3.2.1. beschriebene Vorschrift, dass es nur für DHA aber nicht für ARA eine Untergrenze gibt, fragwürdig.

1.4.3.4 PARENTERALE LIPIDEMULSIONEN

Parenterale Ernährung wurde in den 1960er Jahren entwickelt und diente zunächst der Ernährung kritisch erkrankter Erwachsener und nicht der Ernährung Frühgeborener. Erwachsene metabolisieren die parenteral verabreichten essenziellen Fettsäuren LA und ALA zu den LC-PUFA ARA und DHA. Das unreife metabolische System Frühgeborener ist dazu nicht ausreichend in der Lage. Diese Ineffizienz Frühgeborener führt zu dem beschriebenen LC-PUFA-Defizit und den damit einhergehenden Folgen (siehe 1.3.2). Daher ist die Verabreichung angepasster parenteraler Lipidemulsion unmittelbar nach Geburt vonnöten, um den alimentären Anforderungen Frühgeborener zu entsprechen. (Frazer and Martin, 2021)

Die Fette von Intralipid® (Fresenius Kabi, Uppsala, Schweden) stammen zu 100 % aus Sojaöl (siehe Tab. 8). Es enthält große Anteile der essentiellen Fettsäuren LA und ALA (Intralipid, 2015). Sein Einsatz bei Frühgeborenen wurde 1981 von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) genehmigt und es wird weltweit in der Neonatologie eingesetzt (Herrera et al., 2019).

Mehrkomponentige Lipidemulsionen enthalten hingegen eine Mischung von Ölen, einschließlich Olivenöl und teilweise Fischöl.

Die Lipide ClinOleic®s setzen sich zu 20 % Sojaöl und zu 80 % aus Olivenöl zusammen (siehe Tab. 8) und enthalten daher, aufgrund des größeren Olivenöl-Anteils einen geringeren Anteil an ALA und LA. Die Lipide von Lipidem/Lipoplus® (B. Braun, Melsungen, Deutschland) enthalten zu 40 % Sojaöl, 50 % Kokosöl und 10 % Fischöl (siehe Tab. 8) (Singh et al., 2021).

Es gibt zwei weitere, fischöhlhaltige Produkte - Omegaven® und SMOFlipid®. Die Lipide Omegaven®s (Fresenius Kabi) setzen sich zu 100 % aus Fischöl zusammen. Die FDA genehmigte 2018 seine Verwendung für pädiatrische Patienten mit parenterale Ernährung-assoziierte Cholestase (parenteral nutrition-associated cholestasis =PNAC) (Omegaven, 2018). Omegaven besitzt die größten Anteile von DHA, ARA und EPA (siehe Tab. 8) und das Verhältnis von ARA:DHA mit 1,0:13,5 liegt zugunsten von DHA. (Frazer and Martin, 2021)

SMOFlipid® (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) wurde 2016 von der FDA für die Verwendung bei Erwachsenen genehmigt. Die Verabreichung in der Neonatologie stellt einen Off-Label-Use dar, dennoch findet sie auf neonatologischen

Intensivstationen der USA und auch Kanada, Europa und Asien Verwendung (Calkins et al., 2019). Es enthält 30 % Sojaöl, 30 % mittelkettige Triglyceride, 25 % Olivenöl und 15 % Fischöl (siehe Tab. 8). Im Vergleich zu Intralipid® stellt SMOFlipid® höhere Konzentrationen von ARA und DHA, sowie Eicosapentaensäure (EPA) zu Verfügung. Das ARA:DHA-Verhältnis beträgt 1,0:3,5 (siehe Tab. 8).

Tabelle 8: Zusammensetzung von Parenteralen Lipidemulsionen (Intralipid, 2015, Lee et al., 1993, Singh et al., 2021, Fresenius, 2019, Fresenius, 2015)

Angaben in Prozent (%).

	Intralipid® 20 %	ClinOleic® 20 %	Lipidem® 20 %	SMOFlipid® 20 %	Omegaven® 10 %
Ölquelle (%)					
Sojaöl	100	20	40	30	0
Fischöl	0	0	10	15	100
Kokosöl	0	0	50	30	0
Olivenöl	0	80	0	25	0
Fettsäurezusammensetzung (%)					
Ω-6 mehrfach ungesättigte Fettsäuren (n-6 LC-PUFA)					
Linol- säure LA (C18:2n-6)	44 - 62	18,5 – 18,7	24,4– 25,7	14 - 25	4,4
Arachidon- säure ARA (C20:4n-6)	0,1	0,5	0,5	0,4	2,1
Ω-3 mehrfach ungesättigte Fettsäuren (n-3 LC-PUFA)					
α-Linolen- säure ALA (C18:3n-3)	4 - 11	2 – 2,3	3,3 – 3,4	1,5 - 3,5	1,8
Eicosapentaen- säure EPA (C20:5n-3)	0	0	3,1 – 3,7	1,0 - 3,5	19,2
Docosahexaen- säure DHA (22:6n-3)	0	0,0 – 0,5	2,3 – 2,5	1,0 - 3,5	12,1

1.5 HYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG

Die beschriebene Datenlage und die Vorarbeiten der Abteilung zum Stoffwechsel und der gestörten Homöostase der Lipide und ihrer Fettsäuren bei Frühgeborenen führten zu folgender Studienhypothese:

Durch Frühgeburt bricht die charakteristische plazentare Versorgung mit allen Nährstoffen, und somit auch die mit ARA und DHA, unphysiologisch früh ab. Die noch fehlenden oder verminderten Fettdepots werden unter den aktuellen Ernährungsbedingungen unter hoher Zufuhr von LA und geringer ARA- und DHA-Zufuhr aufgebaut. Diese Ernährung verändert die natürliche, möglicherweise entwicklungsbestimmende Zusammensetzung des Fettgewebes als Depot für ARA und DHA und als Folge auch der anderen Lipidkomponenten der Zellen und Gewebe des Körpers. Um diese Hypothese prüfen zu können, wurde bei Früh- und Reifgeborenen mit bestehender OP-Indikation zum errechneten bzw. realen Geburtstermin subkutanes Fettgewebe und Blutproben entnommen und deren Lipide auf ihre Fettsäuregehalte untersucht.

Fragestellungen:

- Beeinflusst die postnatale Ernährung Frühgeborener gegenüber intrauterin ernährten Reifgeborenen die Fettsäurezusammensetzung des subkutanen Fettgewebes?
- Insbesondere, führt die Ernährung ex-utero zu einem unphysiologischen Anstieg des Gehaltes an LA und einem Absinken von ARA und DHA in den Lipiden dieses Kompartiments?
- Sind diese Veränderungen analog in den Lipiden anderer Kompartimente zu finden:
 - Plasma als Carrier von Triglyceriden zur Energieversorgung sowie von Phospholipiden zur Strukturbildung anderer Organe via Lipoproteine und als Abbild der hepatischen Sekretion und parenchymalen Phospholipidzusammensetzung.
 - Erythrozytenmembranen als potentieller Repräsentant anderer durch Plasmalipide versorgter Zellen, insbesondere von Gehirn, Auge (Retina) und Lunge.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 GERÄTE, CHEMIKALIEN UND LÖSUNGSMITTEL

2.1.1 GERÄTE

Tabelle 9: Verwendete Geräte

Gerät	Firma; Sitz
Analytische Waage (SI234 A)	Denver Instruments; Denver, USA
Blocktermostat BT 200	Kleinfeld; Gehrden, Deutschland
Eppendorf Mulipette®plus	Eppendorf AG; Hamburg, Deutschland
Eppendorf Research Pipetten 100, 250, 500, 1000µl	Eppendorf AG; Hamburg, Deutschland
Gaschromatograph, Agilent 7890A	Agilent Technologies; Santa Clara, Vereinigte Staaten von Amerika
Gefrierschrank Electrolux -30°C	Electrolux AG (Medical Refrigeration); Zürich, Schweiz
Gefrierschrank SANYO -80°C	Stiehl Kälte-und Klimatechnik; Tübingen, Deutschland
Kühlschrank (computer control cooler)	Robert Bosch GmbH; Gerlingen-Schillerhöhe, Deutschland
Magnetrührer (Reacti-Therm III Heating/Stirring module)	PIERCE; Rockford, USA
Massenspektrometrieanlage: <ul style="list-style-type: none"> • TSQ Quantum – Discovery Max • Quaternäre HPLC Pumpe, Finnigan Surveyor MS Pump Plus • Automatischer Probenaufgeber - Finnigan Surveyor Autosampler Plus • Xcalibur 2.0.7 data acquisition software 	Thermo Fisher Scientific GmbH; Dreieich, Deutschland
Messzylinder Duran 25ml, 50ml, 500ml, 1000ml	DWK Life Sciences GmbH; Wertheim/Main, Deutschland
Mikroliterspritze Hamilton 0,1ml, 0,025ml, 0,5ml	Hamilton Company; Reno, Nevada, USA

Multidispenser Handy Step®S	Brand GmbH & CO KG; Wertheim, Deutschland
PEAPOD®(Infant Body Composition System)	Cosmed; Rome, Italy
Pyrex®-Röhrchen 16x100mm Wiederverschließbar	Thermo Fisher Scientific GmbH; Dreieich, Deutschland
Vortex (Reax Top)- Rüttler	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG; Schwabach, Deutschland
Zentrifuge (Megafuge 1.0)	Heraeus Holding GmbH; Hanau, Deutschland

2.1.2 CEMIKALIEN

Tabelle 10: Verwendete Chemikalien

Reagenz	Firma; Sitz	Lagerung
13, 16, 19 Docosa- triensäure 10 µg/ml Toluol+Methanol (3+1, v/v)	Larodan Fine Chemicals; Monroe, Vereinigte Staaten	Kühlschrank (+4°C)
Acetylchlorid	Sigma Aldrich Chemie GmbH; Steinheim, Deutschland	Raumtemperatur
Ammoniumacetat	Sigma Aldrich Chemie GmbH; Steinheim, Deutschland	Raumtemperatur
D4 – Cholinchlorid	CDN Isotopes; , Quebec, Kanada	Raumtemperatur im Vakuum
Kaliumcarbonat	Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland	Raumtemperatur im Vakuum
PC20:0/20:0 (interner Standard MS-Analyse)	Avanti Polar Lipids; Alabaster, Alabama, USA	Kühlschrank (+4°C)

2.1.3 LÖSUNGSMITTEL

Tabelle 11: Verwendete Lösungsmittel

Chemikalie	Firma; Sitz	Aufbewahrung
Butylhydroxytoluol	Merck; Hohenbrunn, Deutschland	Raumtemperatur im Vakuum
Chloroform	J.T. Baker; Gliwice Poland	Raumtemperatur im Sicherheitsschrank
Ethanol	Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland	Raumtemperatur im Sicherheitsschrank
Methanol	Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland	Raumtemperatur im Sicherheitsschrank
Toluol	Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland	Raumtemperatur im Sicherheitsschrank
Wasser, gereinigt	Honeywell; Morristown, USA	Raumtemperatur im Sicherheitsschrank

2.2 VERBRAUCHSMATERIALIEN UND SOFTWARE

2.2.1 VERBRAUCHSMATERIALIEN

Tabelle 12: Verwendete Verbrauchsmaterialien

Material	Firma; Sitz	Methode
Eppendorf-Tubes	Eppendorf AG; Hamburg, Deutschland	Primäre Aufbewahrung von Proben
Glaspipette – Pasteur Pipetten	WU MAINZ; Bamberg, Deutschland	Lipidextraktion
GC Säule (HP-88; 100 m×0,25 mm×0,2 µm)	Agilent Technologies; Böblingen, Deutschland	Gaschromatographie
Hilic Plus Säule	Agilanet Technologies; Böblingen, Deutschland	Massenspektrometrie (polare Oberphase)
Kryo-Röhrchen	Geiner Bio-One TM ; Kremsmünster, Österreich	Probenkonservierung

Pipettenspitzen	Eppendorf AG; Hamburg, Deutschland	Lipidextraktion
Polaris 3 Si-A Säule	Agilent Technologies; Böblingen, Deutschland	Massenspektrometrie (lipidhaltige Unterphase)
Verex™ Certified Vials 2ml Glass Amber	Phenomenex Ltd.; Aschaffenburg, Deutschland	Massenspektrometrie
Probengefäße Borosilikatglas 4ml	Neolab Migge GmbH, Heidelberg Deutschland	Aufbewahrung der Lipidextrakte

2.2.2 SOFTWARE

Tabelle 13: Verwendete Software

Software	Firma; Sitz	
Agilent Chem Station	Agilent Technologies; Santa Clara, USA	Programmierung des Massenspektrometers
Massenpektrometer-Software Xcalibur 2.0.7 data acquisition software	Thermo Fisher Scientific GmbH; Dreieich, Deutschland	Kontrolle und Verarbeiten der Daten
EndNote ^{x9}	Bilaney Consultants GmbH; Düsseldorf, Deutschland	Zitierprogramm
ChemDraw 20.0	PerkinElmer; Waltham, USA	Erstellung der Strukturformeln
Jamovi		Deskriptivstatistik
Microsoft Excel	Microsoft Corporation; Redmont, USA	Erstellung der Grafiken
Microsoft Word	Microsoft Corporation; Redmont, USA	Erstellung des schriftlichen Teils
Microsoft Word	Microsoft Corporation; Redmont, USA	Formatierung der Grafiken
XCalibur 2.0.7 (2008)	Thermo Fisher Scientific GmbH; Dreieich, Deutschland	Integration der Peaks

2.3 METHODEN

2.3.1 STUDIENDESIGN

Als prospektive Beobachtungsstudie sollten insgesamt $n = 21$ Neugeborene auf die Fettsäurezusammensetzung des subkutanen Fettgewebes, der Plasma-Triglyceride, der Membranphospholipide der Adipozyten, sowie der Phospholipide von Blutplasma und Erythrozytenmembranen untersucht werden. Die Berechnung der Stichprobengröße wurde unter der Annahme durchgeführt, dass die ARA- und DHA-Anteile des Fettgewebe-PCs etwa die zuvor berichteten postnatalen Veränderungen im PC des Plasmas Frühgeborener widerspiegeln (Bernhard et al., 2014).

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Tübingen genehmigt und trägt die Projektnummer 006/2017BO1.

Die Einschlusskriterien und Gruppenverteilung zeigt Tabelle 14. Gruppe 1 setzte sich zusammen aus (fast) Reifgeborenen ($GA \geq 34 \pm 0/7$ SSW) (RG) mit OP-Indikation innerhalb von 14 Tagen nach Geburt. Gruppe 2 setzte sich zusammen aus Frühgeborenen ($GA 23 \pm 0/7$ bis $31 \pm 0/7$ SSW) (FG) mit OP-Indikation zum ET (± 6 Wochen) und in Gruppe 3 wurden Frühgeborene mit Enterostoma aufgenommen ($GA 23 \pm 0/7$ bis $< 32 + 0/7$ SSW) (FG/E) mit OP-Indikation (postnatales Alter < 14 Tage) und zum ET (± 6 Wochen). Die primäre Studienhypothese lautete, dass sich die ARA- und DHA-Anteile in Blut und Fettgewebe Frühgeborener von denen Reifgeborener unterscheidet.

Unter Annahme einer Normalverteilung wurden für eine Varianzanalyse mit Post-hoc-Test sieben Patienten pro Gruppe benötigt, um die primäre Hypothese für DHA und ARA zu testen (Power = 90%, Alpha = 2,5%). Das Signifikanzniveau Alpha 2,5 % führte bei zwei Tests (einen für DHA, einen für ARA) in derselben Kohorte zu einem globalen Signifikanzniveau von 5 %. (Böckmann et al., 2021)

Tabelle 14: Übersicht der Teilnehmergruppen mit Einschluss- und Ausschlusskriterien

Gruppe	Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Gruppe 1	Fast RG (GA $\geq 34 \pm 0/7$ SSW) mit OP-Indikation innerhalb von 14 Tagen nach Geburt	Kindliche Stoffwechselerkrankung, genetische Erkrankung oder syndromale Erkrankung, fehlendes schriftliches Einverständnis der Eltern
Gruppe 2	FG (GA $23 \pm 0/7$ bis $31 \pm 0/7$ SSW) mit OP-Indikation zum ET (± 6 Wochen)	
Gruppe 3	FG (GA $23 \pm 0/7$ bis $< 32 \pm 0/7$ SSW) mit OP-Indikation (postnatales Alter < 14 Tage) und zum ET (± 6 Wochen)	

2.3.2 STUDIENABLAUF

Nach schriftlichem Einverständnis der Eltern wurden die Studienpatienten und studienspezifischen Proben pseudonymisiert. Intraoperativ wurden vom Chirurgen 1 - 3 Stückchen subkutanen Fettgewebes von ca. 2x2x2 mm Größe entnommen. Mit einer sterilen Pinzette wurden die Proben in ein Kryo-Röhrchen überführt, mit Schraubdeckel verschlossen und in einem Flüssigstickstoff (-196°C) enthaltenden Dewargefäß unmittelbar eingefroren. Die Proben wurden bis zur Analyse bei -80°C aufbewahrt.

Des Weiteren wurden im Rahmen klinisch indizierter, perioperativ notwendiger Blutentnahmen ca. 200 μL EDTA-Blut zusätzlich entnommen. Dieses wurde pseudonymisiert, bei 1000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert, das Plasma getrennt vom Erythrozytenpellet abpipettiert, beides getrennt bei -30°C eingefroren und innerhalb von maximal 14 Tagen in einen -80°C Gefrierschrank transferiert. Dort erfolgte die Aufbewahrung bis zur Analyse.

Außerdem wurde im Rahmen der Studie perinatale Daten von Mutter und Kind erfasst. Das waren beim Kind Körpermaße (Kopfumfang, Körperlänge, Körpergewicht) zum Zeitpunkt der Geburt und Angaben zum Stoffwechselscreening, sowie bei der Mutter Angaben zu Alter, Ernährung, Vorerkrankungen und Medikamenten.

2.3.2.1 STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Der Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung ergab, dass die ARA-, DHA- und LA Anteile nicht normalverteilt waren. Der Gruppenvergleich zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 wurde mittels Wilcoxon-Mann-Whitney-Test durchgeführt und die Ergebnisse werden als Median und dem in Klammern stehenden Interquartilenrange (25.-75. Perzentile) dargestellt. Der Zusammenhang zwischen LC-PUFA-Anteilen (ARA, DHA und LA) und dem postnatalen Alter (PNA) wurde mittels Spearman-Korrelation (Spearman's Rho (ρ)) überprüft. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ festgelegt. Für die statistische Analyse wurde Jamovi® verwendet. Die Visualisierung der Ergebnisse (Balkendiagramm, Box-Plot-Diagramm und Streudiagramm) erfolgte mittels Excel 2023 (Microsoft Corporation, Redmont, USA) und das Formatieren der Grafiken mittels Powerpoint 2023 (Microsoft Corporation, Redmont, USA).

2.3.3 LIPIDEXTRAKTION NACH Blich UND DYER

Für alle nachfolgend beschriebenen Arbeitsvorgänge gilt, dass im ersten Schritt die verwendeten Glasgefäße mit Methanol gespült wurden, um sie von Weichmachern und Waschmittelresten, die das Ergebnis verfälschen könnten, zu befreien. Zur Lipidextraktion des subkutanen Fettgewebes, des Blutplasmas und der Erythrozyten wurde das Verfahren von Bligh&Dyer (Bligh and Dyer, 1959) angewandt. Im ersten Schritt wird dazu in einem Glasgefäß (Pyrex®-Röhrchen) 1 Teil wasserhaltige Probe mit einem Überschuss Methanol (3 Teile) und 1 Teil Chloroform zu einer ternären, monophasischen Mischung homogenisiert. Um eine Oxidation poly-unsaturierter Fettsäurereste der Lipide zu vermeiden, wurde zu Beginn der Extraktion Butylhydroxytoluol (BHT) zugegeben. Zudem wurde deuteriertes Cholin (D₄-Cholin) als interner Standard zugegeben und aqua bidest. statt der originalen 0,9%igen Kochsalzlösung verwendet, da Chlorid mit der massenspektrometrischen Analytik interferiert. Die Standarde für Lipide (dieicosanoyl-PC (PC20:0/20:0) für PC) wurde, ebenso wie n₃-Docosatriensäure (22:3n₃ für Gaschromatographie), erst nach der Extraktion zugeführt, weil diese mit der gaschromatographischen Fettsäureanalytik interferieren. Nach 15 min bei 4°C wird dieses Gemisch mit 2400 µl Chloroform und

wässrige Lösung im Überschuss versetzt, kräftig geschüttelt und bei 1560 xg für 20 min zentrifugiert. Es kommt dabei zur Trennung in eine lipidhaltige Chloroformphase höherer Dichte (Unterphase) und eine Wasser:Methanol-Phase mit hydrophilen (wasserlöslichen) Komponenten (Oberphase).

2.3.3.1 LIPIDEXTRAKTION DER FETTGEWEBEPROBEN

Tabelle 15: Lipidextraktion der Fettgewebeproben

Schritt	Verfahren
1.	100 µl BHT-Stammlösung (20 mg Butylhydroxytoluol/ml Ethanol) + 700 µl Ethanol → 2,5 mg/ml BHT/Ethanol
2.	Fettprobe (ca. 10-20 mg) + 5 µl BHT-Lösung (20 mg/ml) + 800 µl aqua bidest
3.	Homogenisieren
4.	+ 2400 µl Methanol + 800 µl Chloroform
5.	Homogenisieren
6.	1 h Ruhezeit im Kühlschrank
7.	Homogenisieren
8.	+ 2400 µl Chloroform + 1600 µl aqua bidest
9.	Homogenisieren
10.	Zentrifugieren (3000 U/min (1560 xg), 20 min)
11.	Oberphase in ein 4-ml-Vial transferieren Unterphase in ein 4-ml-Vial überführen und mit Chloroform:Methanol (2+1) auf 4 ml auffüllen

Da das Antioxidans BHT in Wasser schwer löslich ist, muss eine BHT-Alkohol-Lösung hergestellt werden, da BHT in Alkohol löslich ist. Zur Herstellung der BHT-Gebrauchslösung wurden 100 µl der BHT-Stammlösung, die 20 mg Butylhydroxytoluol/ml Ethanol enthält, mit 700 µl Ethanol in einem Pyrex®-Röhrchen durchmischt. Stammlösung und Gebrauchslösung lagern beide im Kühlschrank. Für die späteren Berechnungen wurden die Fettproben mit einer analytischen Waage abgewogen, das Gewicht notiert und zusammen mit der BHT-Gebrauchslösung und 800 µl aqua bidest in ein mit Schraubdeckel wiederverschließbares 10-ml-Glasröhrchen gegeben. BHT verhindert die Oxidation ungesättigter Fettsäuren und verhindert so ein

Verfälschen der Messergebnisse. Mithilfe des Vortex-Rüttlers wurde alles gründlich homogenisiert, 2400 µl Methanol und 800 µl Chloroform hinzugefügt und homogenisiert. Dabei entstand ein ternäres Gemisch. Nach 1 Stunde Ruhezeit im Kühlschrank (4°C) und abermaligem Homogenisieren, wurden 2400 µl Chloroform und 1600 µl aqua bidest hinzugegeben, homogenisiert und bei 1560 xg für 20 min zentrifugiert. So kam eine Phasentrennung mit Chloroform (höhere Dichte) und Lipiden in der Unterphase und mit aqua bidest, Methanol und den wasserlöslichen Metaboliten in der Oberphase, zustande. Das zwischen den Phasen liegende Proteinpellet fand in dieser Arbeit keine Bedeutung. Die Lipid-Unterphase wurde vollständig in ein 4-ml-Vial gefüllt und mit Chloroform: Methanol (2+1) auf 4 ml aufgefüllt. Die Oberphase wurde ebenfalls in ein 4-ml-Vial überführt. (Bernhard, 2014a)

2.3.3.2 LIPIDEXTRAKTION DES BLUTPLASMA

Tabelle 16: Lipidextraktion des Blutplasmas

Schritt	Verfahren
1.	15 mg D ₄ -Cholinchlorid + 27,85 ml aqua bidest → 3,75 mmolare D ₄ -Cholinchlorid-Stammlösung
2.	50 µl D ₄ -Cholinchlorid-Stammlösung + 6200 µl Wasser → 30 µmolare D ₄ -Cholin-Standard-Gebrauchslösung
3.	Zubereitung BHT-Gebrauchslösung wie in Tabelle 15 unter Schritt 1
4.	5 µL BHT-Gebrauchslösung (2,5 mg/ml) + 25 µl MS-Plasma-Standard + 50 µl D ₄ -Cholin-Standard (30 µmol/l) + 50 µl Plasma + 700 µl aqua bidest
5.	Homogenisieren
6.	+ 2400 µl Methanol + 800 µl Chloroform
7.	Homogenisieren
8.	1 h Ruhezeit im Kühlschrank
9.	Homogenisieren
10.	+ 2400 µl Chloroform + 1600 µl aqua bidest
11.	Homogenisieren

12.	Zentrifugieren (3000 U/min (1560 xg), 20 min)
13.	Oberphase in ein 4-ml-Vial transferieren Unterphase in ein 4-ml-Vial überführen und mit Chloroform:Methanol (2:1) auf 4 ml auffüllen

Alle Schritte waren ab Schritt 3 identisch mit dem Verfahren der Lipidextraktion von Fettgewebeproben. Zusätzlich musste im ersten Schritt eine 3,75 mmolare D₄-Cholinchlorid-Stammlösung hergestellt werden. Dafür wurden 15 mg D₄-Cholinchlorid abgewogen und in 27,85 ml MS-reinem Wasser (also aqua bidest) gelöst. Diese 3,75 mmolare D₄-Cholinchlorid-Stammlösung wurde im Kühlschrank gelagert. Im zweiten Schritt wurde eine D₄-Cholin-Standard-Gebrauchslösung hergestellt. Dazu wurden 50 µl der Stammlösung mit 6200 µl aqua bidest in ein Pyrex®-Röhrchen pipettiert. Es wurde bei -32°C bis zu 17 Wochen aufbewahrt. Alle Lösungen wurden vor Gebrauch mit dem Rüttler homogenisiert werden. (Bernhard, 2014c)

2.3.3.3 LIPIDEXTRAKTION DER ERYTHROZYTENMEMBRANEN

Tabelle 17: Lipidextraktion der Erythrozytenmembranen

Schritt	Verfahren
1.	Zubereitung der BHT-Gebrauchslösung (2,5 mg/ml) wie oben beschrieben
2.	5 ml aqua bidest in Pyrex-Röhrchen im Ultraschallbad 5 min entgasen
3.	15 min im Kühlschrank abkühlen lassen
4.	100 µl Blutkuchen hinzupipettieren
5.	Homogenisieren
6.	15 min Inkubationszeit im Kühlschrank
7.	Homogenisieren
8.	Zentrifugieren (4000 U/min (2773 xg), 20 min)
9.	Überstand ruckartig abgießen
10.	Zugabe zum Erymembran-Pellet von: 25 µl BHT-Gebrauchslösung (2,5 mg/ml) + 100 µl MS-Standard + 700 µl aqua bidest

11.	Homogenisieren
12.	+2400 µl Methanol + 800 µl Chloroform
13.	Homogenisieren
14.	1 h Ruhezeit im Kühlschrank
15.	Homogenisieren
16.	+ 2400 µl Chloroform + 1600µl aqua bidest
17.	Homogenisieren
18.	Zentrifugieren (3000 U/min (1560 xg), 20 min)
19.	Oberphase in ein 4-ml-Vial transferieren Unterphase in ein 4-ml-Vial überführen und mit Chloroform:Methanol (2:1) auf 4 ml auffüllen

Die Lipidextraktion der Erythrozytenmembranen setzte die Isolierung der Membranen aus dem Erythrozytenpellet voraus, welches sowohl erythrozytäres Plasma als auch Blutplasma enthält. 5 ml MS-reines Wasser wurden in ein Pyrex®-Röhrchen pipettiert, im Ultraschallbad für 5 min entgast und anschließend für 15 min im Kühlschrank abgekühlt. Anschließend wurden 100 µl Erythrozytenpellets hinzupipettiert, mit dem Rüttler homogenisiert und für 15 min im Kühlschrank (4°C) inkubiert. Nach erneutem Vortexen wurden die Proben bei 2773 xg für 20 min zentrifugiert und danach der Überstand ruckartig abgegossen. Die Probe (Erythrozytenmembranen) befand sich nun am Boden des Pyrex®-Röhrchens. Es wurden 25 µl BHT-Gebrauchslösung (2,5 mg/ml), 100 µl MS-Standard (gebrauchsfertig aufbewahrt bei -32°C) und 700 µl aqua bidest hinzugegeben. Alle weiteren Schritte gleichen den oben beschriebenen. (Bernhard, 2014b)

2.3.4 MASSENSPEKTROMETRISCHE ANALYSE

2.3.4.1 PRINZIP DER MASSENSPEKTROMETRIE

Massenspektrometrie bestimmt die Masse geladener Moleküle (Molekül-Ionen), bzw. Masse/Ladung (m/z), das heißt die Masse dividiert durch die Anzahl der positiven oder negativen Ladungen (Sonsmann, 2019). Organische Moleküle werden durch Verdampfen und Anlegen einer hohen Spannung in die Gasphase überführt, in der sie ionisiert werden. Die Verdampfung wird durch direktes Verdampfen oder durch Kopplung mit einem Gaschromatographen ermöglicht. In einem elektrischen oder magnetischen Feld werden die Ionen anschließend im Hochvakuum nach ihrer Ladung separiert (Masse/Ladung [m/z], wobei $z = 1$ (Christie, 2019), z.B. $m/z = 328$ für Docosahexaensäure). Das Aufteilungsmuster wird zur Identifikation der Moleküle herangezogen (Sonsmann, 2019, Christie, 2019).

Die Tandemmassenspektrometrie koppelt zwei sequentielle m/z -Messungen, wobei nach der ersten Messung die geladenen Moleküle eines m/z -Wertes mit einem Kollisionsgas in charakteristische („diagnostische“) Fragmente zerlegt werden, deren m/z anschließend quantifiziert werden. Dies erhöht die Selektivität und Spezifität, sodass die Zielanalyte von Kontaminanten gleichen Molekulargewichts bzw. m/z getrennt werden können (Gross, 2019d).

Ein Massenspektrometer besteht typischerweise aus drei Hauptkomponenten: einer Ionenquelle, einem Analysator und einem Detektor (siehe Abb. 3). Wie oben beschrieben wandelt die Ionenquelle Moleküle in Ionen um (m/z). Die Blende kontrolliert den Fluss der Ionen und stellt sicher, dass nur die gewünschten Ionen in das Massenspektrometer gelangen. Der Analysator besteht aus vier parallel angeordneten Stabelektroden (Quadrupol-Analysator), welche ein elektrisches Feld erzeugen. Das elektrische Feld kann so eingestellt werden, dass nur Ionen einer bestimmten Masse durchgelassen werden, wohingegen andere Ionen blockiert oder abgelenkt werden. Die getrennten Ionen werden vom Detektor detektiert, indem ihre elektrische Ladung erfasst wird. (Zhou et al., 2012)

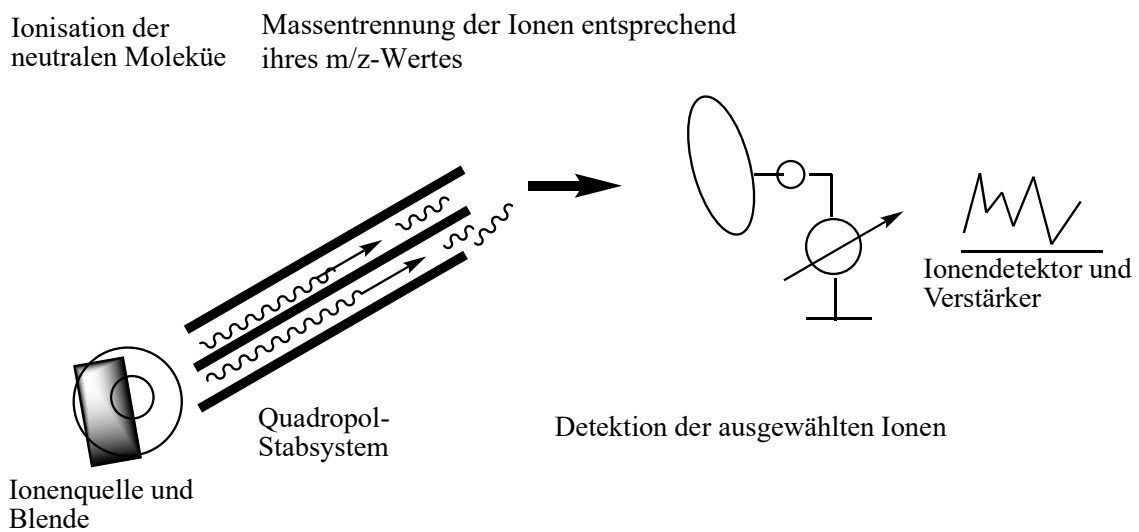


Abbildung 3: Prinzip eines Massenspektrometers (Schellenberg, 2017)

Aufbau eines Massenspektrometers mit Ionenquelle und Blende, Quadrupol-Analysator und Detektor

Wird der massenspektrometrischen Analytik ein Flüssigkeitschromatograph vorgeschaltet, ist die Analyse von Stoffgemischen genauer, da die Substanzen eines Gemisches und die Zielanalyte vorgetrennt werden (Collaboration et al., 2012). Das Prinzip der Flüssigkeitschromatographie ist die Trennung zu untersuchender Substanzen nach Löslichkeit und Polarität. Hierfür werden in der Probe gelöste Substanzen auf einer Chromatographiesäule, welche mit stationärer Phase beschichtet ist, durch eine mobile Phase zeitversetzt eluiert. Je nach Stärke der Affinität zur stationären Phase gegenüber der mobilen Phase benötigen die zu untersuchenden Substanzen unterschiedlich viel Zeit für ihre Elution, die sogenannte Retentionszeit. (Gross, 2019a)

Als Ionenquelle wurde die Elektrospray-Ionisation (ESI), ein bei Atmosphärendruck schonendes Ionisationsverfahren entwickelt und hier verwendet. An die hocherhitzte Spitze einer Metallkapillare, durch die die eluierten Komponenten mit mobiler Phase fließen, wird eine Gleichspannung angelegt, sodass am Ende der Kapillare die Analytlösung positiv oder negativ ionisiert ist. Die gleich geladenen Lösungsmitteltröpfchen an der Spitze der Kapillare stoßen sich ab und treten als sich immer feiner verteilendes Aerosol aus der Metallkapillare aus. Ein neutrales Trägergas wird zur Unterstützung einer Verdampfung verwendet. Bei der Verdampfung nimmt

der Radius der Tropfen so weit ab, dass freie Ionen in die Gasphase emittiert werden. Durch die Potentialdifferenz und das Vakuum jenseits und im Innern der Transferkapillare, werden die ionisierten Komponenten in das Vakuum des Analysators geleitet. (Gross, 2019b)

Für alle Analysatoren gilt, dass elektrische, statische oder magnetische Felder erstellt werden, mit denen die Ionen interagieren. Damit diese Interaktion ungestört ist, müssen die Ionen isoliert in der Gasphase, d. h. im Hochvakuum (10^{-3} bis 10^{-7} mbar) vorliegen. Die für diese Studie verwendete Triple-Quadrupol-Analytik (hier Thermo TSQ Quantum Discovery Max) umfasst drei hintereinandergeschaltete Quadrupole (Q1-Q3) (siehe Abb. 4). Ein Quadrupol besteht aus zwei entgegengesetzten Dipolen, die sich an den Ecken eines Rechtecks befinden und deren Pole abwechselnd angeordnet sind. So besteht der Quadrupol-Analysator aus vier parallel angeordneten Stäben, von denen die diagonal gegenüberliegenden Stäbe an den gleichen Pol einer Radiofrequenz-Wechselspannungsquelle angeschlossen werden. Zudem wird eine Gleichspannung angelegt. Die Ionen aus der Ionenquelle fließen parallel entlang der Stabachsen und werden dabei von dem Stab mit der ihr entgegengesetzten Ladung angezogen. Bei einem Zusammentreffen würden die Ionen neutralisiert werden. Bei adäquatem Verhältnis der Radiofrequenz zur Spannung werden die Quadrupole rechtzeitig umgepolt, sodass es nicht zu einem Zusammentreffen mit dem Stab kommt. So schwingen die Ionen zwischen den Stäben, ohne sie zu berühren. Durch die unterschiedliche Masse relativ zur Ladung unter Anlegen der Gleichspannung kommt es zur Massenselektion, da nur für einen kleinen m/z -Bereich Ionen durchgelassen werden. Q1 dient als Eintrittskanal und filtert die Ionen, die in den Q2 gelangen sollen, anhand ihres m/z . Q2 enthält eine Kollisionseinheit, in der die in Q1 ausgewählten Ionen fragmentiert werden, indem sie mit neutralen Gasmolekülen kollidiert werden und so massenselektiv fragmentiert werden und dann an den Q3 weitergeleitet werden. Q3 ist der Detektionsabschnitt, indem die fragmentierten Ionen detektiert und analysiert werden (siehe Abb. 4). (Gross, 2019c, Shi et al., 2012)

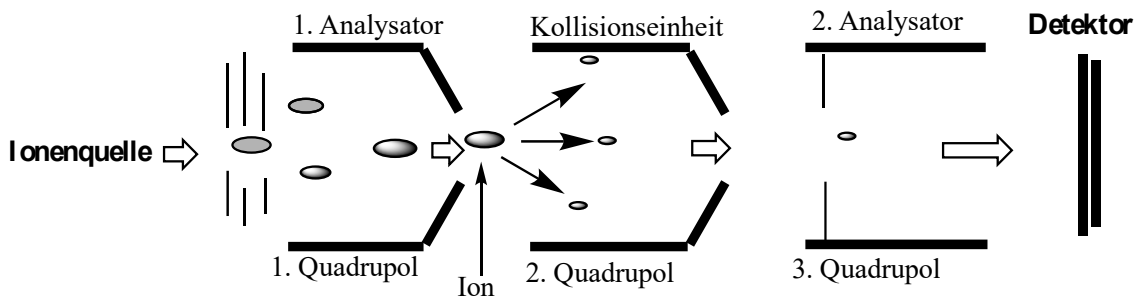


Abbildung 4: Schema eines Triple-Quadrupol-Analysator (Faktor et al., 2012)

Abgebildet ist ein Triple-Quadrupol-Analysator mit vorgeschalteter Ionenquelle und nachgeschaltetem Detektor.

Bei dem Triple-Quadrupole-Analysator unterscheidet man u.a. zwischen dem SRM-Modus (selected reaction monitoring oder Produkt-Ionen-Scan) und dem Neutralverlust-Scan („neutral loss scan“). Im SRM-Modus gibt es zwei Stationen der Massenselektion, wobei hierfür die Masse festgelegt wird, sodass nur bestimmte Ionen, bzw. Fragmente die Analysatoren durchqueren können.

Wenn vom Molekülion neutrale Fragmente abgespalten werden, nennt man das Neutralverlust. Der Neutralverlust-Scan registriert Signale immer dann, wenn ein bekannter Vorläufer unter definiertem Neutralverlust zerfällt. Im Gegensatz dazu wird der Produkt-Ionen-Scan zur Strukturaufklärung eingesetzt, während der Neutralverlust-Scan dazu dient, die Selektivität der analytischen Informationen zu verbessern (Gross, 2019d). Der Neutralverlust-Scan wurde verwendet, um die Phosphatidylethanolamin-komponenten zu messen.

2.3.5 PROBENAUFBEREITUNG ZUR MASSENSPEKTROMETRISCHEN ANALYSE

2.3.5.1 WASSERLÖSLICHE METABOLITEN DER OBERPHASE

Zur massenspektrometrischen (MS-) Analytik der Oberphase mit den wässrigen Metaboliten des Blutplasmas wurde 200 µl Oberphase und 1000 µl Wasser zusammen in ein MS-Vial pipettiert und durch Rütteln vermischt.

2.3.5.2 LIPIDHALTIGE UNTERPHASE

2.3.5.2.1 SUBKUTANES FETT

Zur MS-Analytik der Phospholipide des subkutanen Fettgewebes wurde 100 µl Unterphase mit 1 ml Methanol:Chloroform:Wasser im Verhältnis 38:60:2 verdünnt. Dann wurden 500 µl Unterphase mit 25 µl PC20:0/20:0-Standard verdünnt.

2.3.5.2.2 BLUTPLASMA

Zur MS-Analytik der Phospholipide des Blutplasmas wurden 100 µl Unterphase mit 300 µl Methanol:Chloroform:Wasser (38:60:2) verdünnt, entsprechend einer Phospholipidkonzentration von 3 µmol/l.

2.3.5.2.3 ERYTHROZYTENMEMBRANEN

Zur MS-Analytik der Phospholipide der Erythrozytenmembran wurde 100 µl Unterphase mit 1,5 ml Methanol:Chloroform:Wasser im Verhältnis 38:60:2 verdünnt.

2.3.5.3 MS-ANALYSE DER LIPIDHALTIGEN UNTERPHASE

Die lipidhaltige Unterphase der oben beschriebenen Lipidextraktion wurde flüssigchromatographisch in die Lipidklassen PC, PE, SM, Lyso-PC und Ceramid getrennt. Für PC, SPM, CER und Lyso-PCs wurde das SRM-Untersuchungsverfahren mit positiver Ionisation angewandt. Die PEs dagegen wurden über den Neutralverlust-Scan bestimmt (Bernhard et al., 2014). In Tabelle 18 sind Retentionszeiten der Lipide aufgeführt:

Tabelle 18: Retentionszeiten der Lipide

Lipide	Retentionszeit (min)
Ceramide	0,9
PE	1,2
Lyso-PE	1,5
PC	2,5
SM	3,3
Lyso-PC	4,9

2.3.5.3.1 ISOTOPE UND ISOTOPENKORREKTUR

Isotope sind Atome, die im Atomkern gleich viele Protonen enthalten, sich aber in der Anzahl der Neutronen unterscheiden. Durch die unterschiedliche Anzahl an Neutronen ergibt sich eine unterschiedliche Atommasse. Im Mittel liegt zu 98,89 % das stabile Kohlenstoffisotop ^{12}C und zu 1,11 % das stabile ^{13}C vor. Dadurch haben kohlenstoffhaltige Moleküle eine mittlere Masse für die klassische Analytik, aber mehrere monoisotopische Massen, von denen massenspektrometrisch nur eine quantifiziert wird. Aus der Anzahl der Kohlenstoffatome einer Verbindung lassen sich die Anteile der M+1 bis M+4-Massen, die mit der Anzahl der Kohlenstoffatome in einem Molekül steigen, berechnen. Das Messsignal (total ion counts=TICs), muss dann substanzspezifisch um diesen ^{13}C -Effekt korrigiert werden. (Pynn et al., 2011, Bernhard et al., 2004)

Mit internem Standard und Mengenangaben der Lösungen ließ sich die Konzentration der vorhandenen Stoffe berechnen. Die Zusammensetzung der Stoffe wird in Mol% angegeben.

2.3.6 GASCHROMATOGRAPHISCHE ANALYSE

2.3.6.1 PRINZIP DER GASCHROMATOGRAPHIE

Um die Fettsäuren der Lipide zu analysieren, wurde Gaschromatographie (GC), in diesem Fall ein Agilent 7820A (Agilent Technologies: Santa Clara, USA) verwendet. Geräte zur GC bestehen aus einem (automatischen) Injektor (resp. Autosampler) (Agilent 7693A Automatic Liquid Sampler, Santa Clara, USA), einer temperierbaren Trennsäule mit Gas als mobiler Phase, einem Detektor sowie einem System zur Datenerfassung und Auswertung.

Über den Injektor wurde die Probe aufgezogen, verdampft und mit einem Trägergas, hier Argon, versetzt. Anschließend wurde das Gemisch auf eine Trennsäule übertragen. Da die Säule nur eine Probenmenge von 0,01 µl benötigt, ist eine Split-Injektion geeignet. Hierfür gelangt ein Teil der verdampften Substanz nicht auf die Kapillare, sondern wird durch das Splitventil abgelassen. Es wurde ein Splitverhältnis von 1:2 angewandt.

Die Trennsäule bestand aus Quarzglas. Bei niedriger Temperatur bindet das Probengemisch an die Innenbeschichtung der Trennsäule (stationäre Phase). Die Säule befindet sich in einem Säulenofen, in dem die Temperatur erhöht werden kann (Tab. 23). Dabei verdampfen die Substanzen an ihrem charakteristischen Siedepunkt, wodurch sie sequentiell eluiert werden. Vom Trägergas getragen gelangen sie in den Detektor. Der Detektor war ein Flammenionisationsdetektor (FID). Bei der Verbrennung der eluierten Substanz mit C-C oder C-H Bindungen entstehen Ionen im Gas. Diese wurden vom FID ermittelt. Demnach hängt die Messung von der Anzahl der C- und H-Atome der zu detektierenden Substanz ab. (Schmid, 2011)

2.3.7 PROBENAUFBEREITUNG ZUR GC-ANALYSE

2.3.7.1 TRENNUNG DER TRIGLYCERIDE VON AMPHIPHILEN LIPIDEN

Tabelle 19: Trennung der Triglyceride durch Festphasenextraktion mittels Aminopropyl-Silicasäule

Schritt	Verfahren
1.	1,5 ml Plasma Unterphase in Pyrex®-Röhrchen
2.	Eindampfen unter Stickstoff-Begasung bei 37°C
3.	Spülen der Röhrchen mit 500 µl Chloroform
4.	Chloroform durch NH ₂ -Säule lassen und auffangen in ein 4-ml-Glasvial

Um die Neutrallipide der Plasma-Unterphase analysieren zu können, müssen sie von den amphiphilen Lipiden getrennt werden. Aufgrund von Wechselwirkungen des polaren Kieselgels in der Aminopropyl-Silicasäule (NH₂-Säule) mit den amphiphilen Lipiden (Phospholipide, freie Fettsäuren) werden diese an die Säule gebunden. Die unpolaren Triglyceride hingegen interagieren nicht mit der stationären Phase und werden direkt eluiert. Voraussetzung ist ein Lösungsmittel, in dem alle Komponenten löslich sind, aber mit dem amphiphile Lipide nicht von der NH₂-Propyl-Phase eluierbar sind (Chloroform). Dazu wurden 1,5 ml Lipidphase (von 4 ml Gesamtvolumen aus 3,8 - 19,0 mg Fettgewebe) in 12-ml-Reagenzgläser mit Schraubverschluss überführt und das Lösungsmittel bei 37°C mit Stickstoff-Begasung eingedampft. Die eingedampften Pyrex®-Röhrchen wurden mit 500 µl Chloroform gelöst und auf die Aminopropyl-Silicasäule pipettiert und in einem 4-ml-Glasröhrchen aufgefangen. Das Probenröhrchen wurde 2× mit 250 µl Chloroform nachgespült und die Aminopropyl-Silicasäule anschließend mit 3×1 ml Chloroform zur Elution aller Neutrallipide gespült.

2.3.7.2 VERESTERUNG DER LIPIDE DES PLASMAEXTRAKTS

Tabelle 20: Fettsäureveresterung des Plasmaextrakts zur gaschromatographischen Analytik

Schritt	Verfahren
1.	3 ml Plasmaextrakt bei 37 °C vollständig eindampfen
2.	Trockensubstanz + 200 ml Toluol:Methanol (1:4) + Rührfischchen
3.	800 IST (wie oben) + 200 µl Acetylchlorid + 1 ml Toluol:Methanol (1:4)
4.	Verschließen und mischen
5.	Inkubieren: 60 min, 100°C, Speed 8
6.	Abkühlen
7.	+ 5 ml 7,5%ige Kaliumcarbonatlösung (30 g K ₂ CO ₃ in 400 ml H ₂ O)
8.	Schütteln 2 min (gut verschlossen!)
9.	Zentrifugieren: 10 min (4000 U/min (2773 xg)); 25°C
10.	Oberphase abpipettieren und Probe eindampfen bis sie trocken ist
11.	Trockensubstanz + 100 µl Toluol:Methanol
12.	Homogenisieren
13.	Überführung in ein 2-ml-Glasvial

Um die PL von den TG zu trennen, läuft die Plasma-Unterphase wie unter 2.3.7.1 beschrieben, durch die Aminopropyl-Silicasäule. Für die Veresterung des Plasmaextrakts wurde von diesem 3 ml bei 37°C vollständig eingedampft. Zur Trockensubstanz wurden 200 ml Toluol:Methanol im Verhältnis 1:4 gegeben. Zusammen mit Rührfischchen wurden 800 µl Interner Standard (IST), 200 µl Acetylchlorid und 1 ml Toluol:Methanol (1:4) hinzupipettiert. Alle weiteren Schritte gleichen der Fettsäureveresterung des Fettgewebeextrakts.

2.3.7.3 VERESTERUNG DER LIPIDE DES FETTGEWEBE-EXTRAKTS

Die weiteren Schritte zur Veresterung der extrahierten Unterphase des subkutanen Fettgewebes wurden im Zentrallabor durchgeführt.

Tabelle 21: Fettsäureveresterung des Fettgewebeextrakts zur gaschromatographischen Analytik

Schritt	Verfahren
1.	Interner Standard (IST) = n3-Docosatriensäure (10 mg/ml) in Toluol:Methanol (1:3) auf Raumtemperatur aufgewärmt
2.	2 ml IST + 200 µl Acetylchlorid + 50 µl Lipidextrakt
3.	Verschließen und mischen
4.	Inkubieren: 60 min, 100°C, Speed 8
5.	Abkühlen
6.	+ 5 ml 7,5%ige Kaliumcarbonatlösung (30 g K ₂ CO ₃ in 400 ml H ₂ O)
7.	Verschließen und 2 min schütteln
8.	Zentrifugieren: 10 min bei 4000 U/min (2773 xg); 25°C
9.	Oberphase abpipettieren und Probe eindampfen bis sie trocken ist
10.	Trockensubstanz + 100 µl Toluol:Methanol
11.	Homogenisieren
12.	Überführung in ein 2-ml-Glasvial

Um die Fettsäuren komplexer Lipide gaschromatographisch zu detektieren, wurden sie zu Methylestern umgeestert. Dafür wurde ein interner Standard aus cis13,16,19-Docosatriensäure (n3-Docosatrien), der in Methanol und Toluol gelöst ist, verwendet. Davon wurden unter dem Abzug 2 ml zusammen mit 200 µL Acetylchlorid und 50 µl Lipidextrakt in mit Methanol gespülte 14-ml-Pyrex®-Röhrchen gegeben. Nachdem die Lösung homogenisiert wurde, wurden die Pyrexröhrchen für 60 Minuten bei 100°C bei Mischgeschwindigkeit 8 in den Heizblock gestellt. Nach dem Abkühlen wurden 5 ml 7,5%tige wässrige Kaliumcarbonatlösung zur Lösung hinzupipettiert, die Pyrex®--

Röhrchen verschlossen, für 2 min von Hand geschüttelt und dann bei 2773 xg für 10 min bei Raumtemperatur zentrifugiert. Anschließend wurde die Oberphase in ein Glasröhrchen überführt und dann fast vollständig eingedampft. Dazu wurden 100 µl Toluol/Methanol gegeben, alles homogenisiert und die Lösung in den Microglaseinsatz eines 2-ml-Vials gegeben, was sodann mit einer Crimp-Zange verschlossen wurde.

2.3.7.4 GC-ANALYSE DER LIPIDE

Die Equilibrationszeit wurde auf 3 Minuten und die Temperatur auf 130°C bis maximal 220°C eingestellt (s. Tabelle 20). Es wurde eine Flussrate des Trägergases Helium von 3 ml/min eingestellt. So dauerte die Messung einer Probe 92 Minuten. Für jede gemessene Substanz wurde eine Retentionszeit ermittelt (siehe Tab. 22). Anhand der Retentionszeiten wurden die Peaks im Verhältnis zum Abstand zum Standard und der typischen Steigung der Eichkurve händisch integriert und in ein Excel-basiertes Makro eingetragen. So hat sich aus der Fläche unter den Peaks die Konzentration ergeben.

Tabelle 22: Referenzfettsäuren und ihre Charakteristika - gaschromatographische Analyse

Hier abgebildet sind die gemessenen Fettsäuren und ihre chemische Nomenklatur, sowie die Retentionszeit und der Retentionsfaktor.

Referenzfettsäuren	Chemische Nomenklatur	Retentionszeit (min)	Retentionsfaktor
Laurinsäure	C12:0	11,368	0,203
Myristinsäure	C14:0	15,611	0,280
Palmitinsäure	C16:0	20,925	0,376
Palmitoleinsäure	C16:1n-7 cis	22,466	0,404
Stearinsäure	C18:0	26,808	0,482
Ölsäure (OA)	C18:1n-9	28,469	0,511
Linolsäure (LA)	C18:2n-6	31,169	0,561
γ-Linolensäure (GLA)	C18:3-n6	33,172	0,598
Arachinsäure	C20:0	33,819	0,609

α -Linolensäure (ALA)	C18:3n-3	34,61	0,623
Cis-8,11,14-Eicosatriensäure	C20:3n-6	41,435	0,747
Behensäure	C22:0	42,384	0,763
Arachidonsäure (ARA)	C20:4n-6	43,452	0,783
Eicosapentaensäure (EPA)	C20:5n-3	49,031	0,880
Docosatetraensäure (DTA)	C22:4n-6	55,783	1,000
Docosapentaensäure	C22:5n-6	56,39	1,015
Docosapentaensäure	C22:5n-3	58,944	1,060
Docosahexaensäure (DHA)	C22:6n-3	63,475	1,142

Tabelle 23: Zeitabhängiger Temperaturanstieg der gaschromatographischen Methode

Die Analytlösung wurde in der Trennsäule sequentiell erhitzt und so, zur Messung der Fettsäuren, ein Verdampfen der Stoffe an ihrem charakteristischen Siedepunkt herbeigeführt.

Zeit (min)	Temp. (°C)
1	130
26	176
37	186
58	190
92	220

2.3.8 PEA-POD-UNTERSUCHUNG

Die PEA-POD®-Untersuchung wurde eingesetzt, um die Körperzusammensetzung (Fett und fettfreie Masse) zu analysieren.

2.3.8.1 PRINZIP DER PEA-POD®-UNTERSUCHUNG

Mittels der schnell durchführbaren, non-invasiven, schmerzfreien Untersuchung des Luftverdrängungsplethysmographie- (Air-Displacement-Plethysmography ADP) Systems, bekannt als PEA-POD®, lässt sich die Körperzusammensetzung, insbesondere der Körperfettanteil eines Menschen bestimmen. Der Luftverdrängungsplethysmograph besteht aus zwei Kammern: einer Testkammer und einer Referenzkammer. Diese Kammern sind durch eine Volumenveränderung verursachende Membran getrennt, die in beiden Kammern gleich große, aber entgegengesetzte Volumenänderungen erzeugt. Die Kalibrierung erfolgt, indem die Testkammer über ein Kalibrierventil mit einem bekannten Referenzvolumen verbunden wird. Die Testkammer ist auf der Oberseite eines beweglichen Wagens montiert, in dem sich auch die Referenzkammer, das Kalibrierungsvolumen, die elektronischen Komponenten, der Computer, der Drucker, die Tastatur und die Maus befinden. Beide Kammern bestehen aus klarem Acrylglas. Zudem sind eine elektronische Waage und ein Bildschirm auf der Oberseite des Wagens befestigt. Jede PEA-POD®-Untersuchung wird durch eine automatisierte Systemkalibrierung eingeleitet. Dabei werden die mit den Volumenveränderungen verbundenen Druckänderungen in beiden Kammern kontinuierlich überwacht und aufgezeichnet. Diese Druckänderungen überschreiten niemals 1 cm H₂O. Während der Kalibrierung wird die Testkammer geleert, und das Kalibrierventil bleibt zunächst geschlossen und wird dann geöffnet. Die während dieses Verfahrens aufgezeichneten Druckänderungen und das bekannte Kalibriervolumen werden zur Durchführung einer 2-Punkt-Kalibrierung verwendet. Dies führt zu einer linearen Beziehung zwischen dem Verhältnis der in den beiden Kammern aufgezeichneten Druckwerte und den Volumenänderungen in der Testkammer. Die physikalische Grundlage zur Berechnung von Volumina aus Druckmessungen basieren auf den unterschiedlichen Verhaltensweisen von Luft unter isothermen und adiabatischen Bedingungen. Unter isothermen Bedingungen bleibt die Lufttemperatur bei Volumenänderungen konstant.

Unter adiabatischen Bedingungen hingegen bleibt die Lufttemperatur bei Volumenänderungen nicht konstant. Boyles Gesetz und das Poisson-Gesetz beschreiben die Kompressibilitätseigenschaften von Gasen unter isothermen bzw. adiabatischen Bedingungen. Diese Gesetze lauten wie folgt:

Boyles Gesetz: $P_1/P_2 = V_2/V_1$

Poissonsches Gesetz: $P_1/P_2 = (V_2/V_1)^\gamma$

wobei P1 und V1 Druck und Volumen im Ausgangszustand und P2 und V2 Druck und Volumen im Endzustand darstellen. Basierend auf diesen beiden Gleichungen muss es für kleine Druckänderungen so sein, dass Luft unter isothermen Bedingungen etwa 40 % kompressibler ist als unter adiabatischen Bedingungen. Da das PEA-POD®-System das Volumen unter der Annahme misst, dass sich die gesamte Luft in der Testkammer adiabatisch verhält, wird automatisch eine Korrektur für die Luft durchgeführt, die aufgrund der Oberfläche des getesteten Objekts oder Subjekts unter isothermen Bedingungen gehalten wird. Eine Lungenvolumenkorrektur wird ebenfalls automatisch durchgeführt, wenn lebende Probanden getestet werden. (Sainz and Urlando, 2003)

2.3.8.2 ABLAUF DER PEA-POD-UNTERSUCHUNG

Für die PEA-POD®-Untersuchung wurde der entkleidete Säugling, der an keinerlei Gerätschaften angeschlossen sein durfte und keinerlei Fremdkörper an sich haben sollte, gewogen und dann in die vorgewärmte Messkammer gelegt. Die Messung der Körpervolumina dauerte 2 min. Mithilfe der Software des Gerätesystems wurde nun, basierend auf dem Körpergewicht und Körpervolumen, der Anteil der Fettmasse an der gesamten Körpermasse (Fettmasse %), die Fettmasse (in kg) und die fettfreie Masse (in kg) berechnet.

3 ERGEBNISSE

3.1 PUBLIKATION DER ERGEBNISSE

Die im Folgenden detailliert beschriebenen Ergebnisse wurden von der Arbeitsgruppe unter dem Titel „Fatty acid composition of adipose tissue at term indicates deficiency of arachidonic and docosahexaenoic acid and excessive linoleic acid supply in preterm infants“ in der Zeitschrift „European Journal of Nutrition“ publiziert (Böckmann et al., 2021).

3.2 DEMOGRAPHISCHE DATEN

Zwischen April 2017 und März 2019 wurde in der Neonatologie des Universitätsklinikums Tübingen an 120 Patienten mindestens eine chirurgische Intervention durchgeführt. Bei 10 Patienten willigten die Eltern nicht ein, an der Studie teilzunehmen. 33 Kinder konnten aufgrund von Ausschlusskriterien nicht in die Studie aufgenommen werden, bei 43 war das Studienteam nicht über eine anstehende Operation informiert oder eine Probenentnahme war aus organisatorischen Gründen nicht durchführbar. Insgesamt 5 Patienten waren aufgeklärt worden, aber eine Probenentnahme ist nicht erfolgt ($n = 3$) oder die entnommene subkutane Probe enthielt kein Fettgewebe ($n = 2$). In Tabelle 24 wird die Stichprobenverteilung ersichtlich.

Tabelle 24: Stichproben-Charakteristik

Angabe der Werte als Median und Interquartilenabstand (25.-75. Perzentil).
Abkürzungen: *m* männlich, *w* weiblich, *PMA* postmenstruelles Alter, *PNA* postnatales Alter.

	Reifgeborene	Frühgeborene	Frühgeborene mit Enterostoma
Anzahl	16	12	3
Geschlecht (m/w)	9/7	11/1	2/1
Geburtsgewicht (g)	3015 (2740- 3432,5)	907,5 (732,5- 1118,8)	730 (485-920)
GA zur Geburt (Wochen)	38,2 (36,7-39,3)	26,6 (25,4-27,9)	27,3 (25,6-28,3)
PNA zur Operation (Wochen)	0,14 (0-0,68)	10 (9,07-11,1)	16 (15,9-18,9)
PMA zur Operation (Wochen)	38,3 (36,7-39,6)	36,6 (35,4-38,4)	44,1 (41,6-46,1)
Operationsindikation			
Leistenhernie	0	11	0
Enterostomaverschluss	0	0	3
Hydrocele	0	1	0
Hydrocephalus	1	0	0
Omphalocele	4	0	0
Gastroschisis	3	0	0
Ösophagusatresie	3	0	0
Zwerchfellhernie	1	0	0
Duodenalatresie	2	0	0
Zystisch adenomatoide Malformation der Lunge (CCAM)	1	0	0
Spina bifida	1	0	0

Die PEA-POD®-Untersuchung konnte an 8 Reifgeborenen und 9 Frühgeborenen vorgenommen werden. Die restlichen Kinder erfüllten die Untersuchungsvoraussetzungen nicht (entkleideter Körper ohne notwendige Fremdmaterialien wie z.B. nasogastrale Sonden, respiratorische Unterstützungssysteme oder Verbandsmaterial) oder der organisatorische Aufwand ließ die Untersuchung nicht zu.

3.3 TEST AUF NORMALVERTEILUNG

Zur Überprüfung der Normalverteilung wurde der Shapiro-Wilk-Test angewendet und ergab, dass keine Normalverteilung der Fettsäurezusammensetzung vorliegt. Die Ergebnisse sind Tabelle 25 zu entnehmen.

Tabelle 25: Test auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test

Signifikanzniveau bei $p < 0,05$.

Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *LA* Linolsäure, *n* Anzahl der Probanden, *PC* Phosphatidylcholin, *PE* Phosphatidylethanolamin, *TG* Triglycerid

	Fettgewebe (<i>n</i> = 31)		Plasma (<i>n</i> = 30)		Erythrozyten (<i>n</i> = 29)	
TG	ARA	$p < 0,001$	ARA	$p < 0,001$		
	DHA	$p < 0,001$	DHA	$p < 0,001$		
	LA	$p = 0,007$	LA	$p = 0,15$		
PC	ARA	$p = 0,001$	ARA	$p = 0,018$	ARA	$p = 0,009$
	DHA	$p = 0,001$	DHA	$p < 0,001$	DHA	$p = 0,006$
	LA	$p = 0,64$	LA	$p = 0,034$	LA	$p = 0,088$
PE	ARA	$p = 0,56$	ARA	$p = 0,166$	ARA	$p = 0,869$
	DHA	$p = 0,073$	DHA	$p = 0,001$	DHA	$p = 0,098$
	LA	$p = 0,029$	LA	$p = 0,171$	LA	$p = 0,138$

3.4 ERNÄHRUNG MIT PARENTERALER LIPIDEMULSION

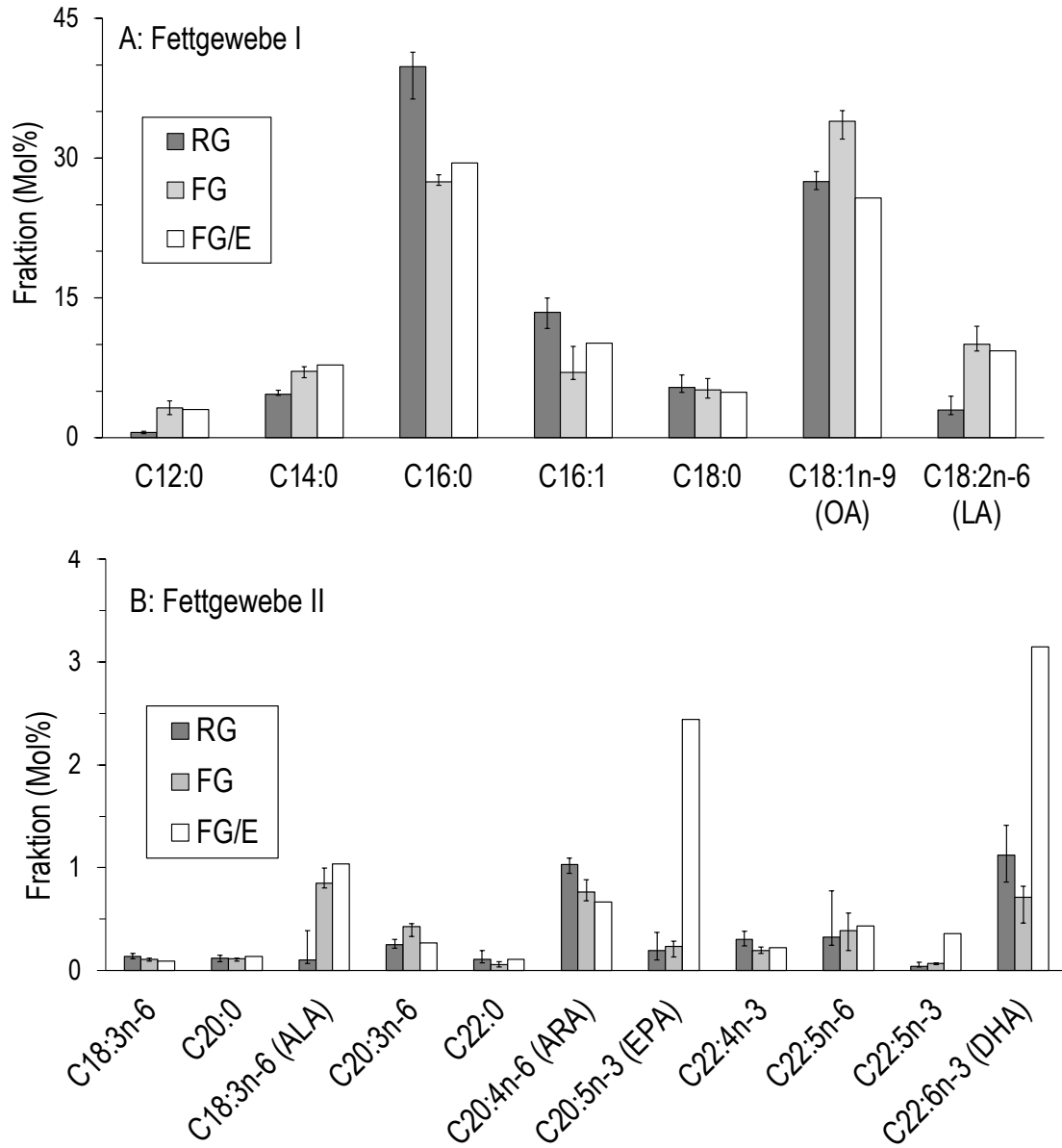
Tabelle 26: Parenterale Lipidemulsion - Dauer und Dosis der Gabe

	SMOFlipid®- Gabe (in d)	Omegaven®- Gabe (in d)	SMOFlipid®- Dosis insgesamt (g/kg KG)	Omegaven®- Dosis insgesamt (g/kg KG)
Proband 1	28	20	35	14,2
Proband 2	20	21	33,3	18,7
Proband 3	32	36	54,4	35,9

Die Studiengruppe FG/E setzte sich lediglich aus drei Patienten zusammen und wurde mit Abstand am längsten parenteral ernährt. Die Kinder erhielten zunächst SMOFlipid® und ab Auftreten von Symptomen einer Cholestase Omegaven® (siehe Tab. 26). Die Lipidzusammensetzung der parenteralen Fettemulsionen ist auf Seite 41 unter 1.5.2.3 und in Tab. 8 beschrieben. Die Studiengruppe FG erhielt zwischen 4 - 7 d (ein Ausreißer erhielt 13 d) SMOFlipid® mit einer Gesamtdosis zwischen 3,3 - 11,1 g/kg KG (17,6 g/kg KG) und 0 d Omegaven®.

3.5 FETTSÄUREPROFIL DER TRIGLYCERIDE

Es erfolgt zunächst die rein deskriptive Darstellung aller gemessenen Fettsäuren der Triglyceridfraktion in Fettgewebe und Blutplasma.



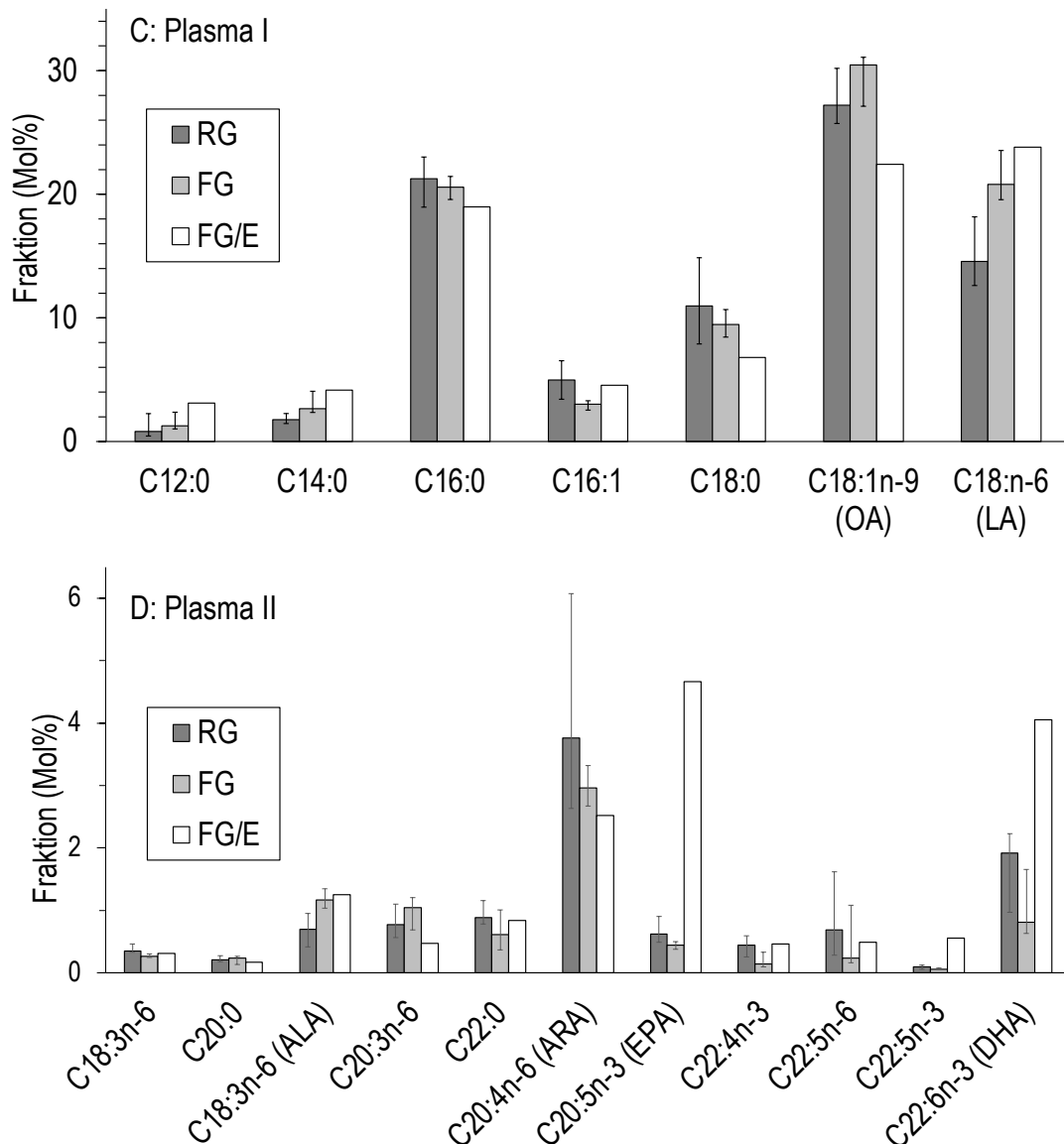


Abbildung 5: Fettsäureprofil der Triglyceride

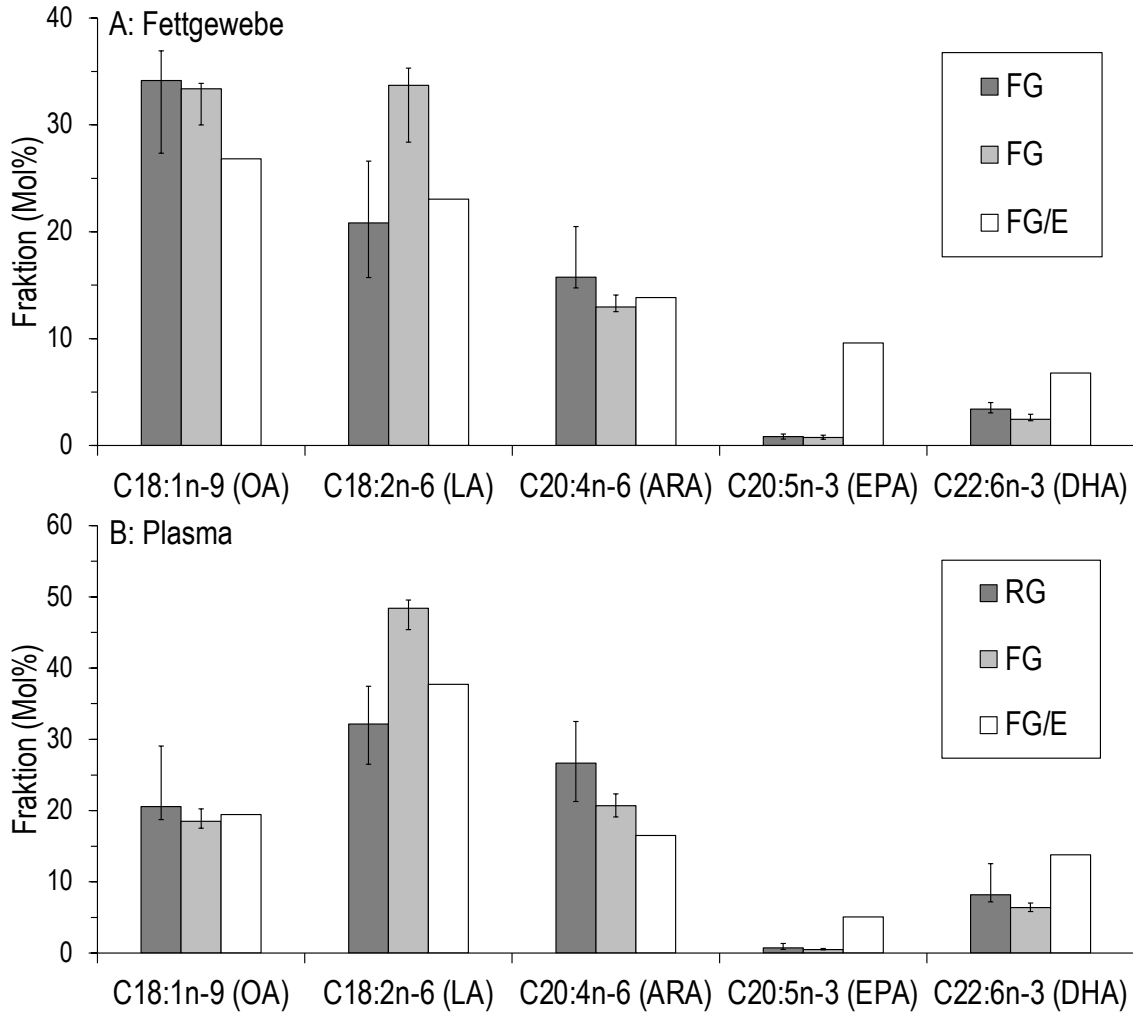
Fettsäureanteile der Triglyceride im **Fettgewebe** (A u. B) und im **Plasma** (C u. D) Reifgeborener nach Geburt (RG; dunkelgrau), Frühgeborener zum ET (FG; mittelgrau) und Frühgeborener mit Enterostoma zum ET (FG/E; weiß). Dargestellt sind die Mediane (sowie 25./75. Perzentile) als molarer Anteil (in Mol%) dieser Fettsäuren an allen Fettsäuren der Triglyceride. Die Gruppe Frühgeborener mit Enterostoma setzt sich lediglich aus 3 Probanden zusammen und ist daher nur als Median dargestellt. Die Fettgewebe- und Plasmaproben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ET entnommen. Reifgeborene (Fett $n = 16$, Plasma $n = 16$), Frühgeborene (Fett $n = 12$, Plasma $n = 9$), Frühgeborene mit Enterostoma, die prolongiert parenterale Ernährung erhielten ($n = 3$). Abkürzungen: *ALA* γ -Linolensäure, *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *EPA* Eicosapentaensäure, *ET* errechneter Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene, *FG/E* Frühgeborene mit Enterostoma, *LA* Linolensäure, *OA* Ölsäure, *TG* Triglyceride

In der Verteilung der Fettsäureanteile der TG im Fettgewebe (Abb.: 5, A u. B) und im Blutplasma (Abb.: 5, C u. D) Reifgeborener (RG), Frühgeborener (FG) und Frühgeborener mit Enterostoma (FG/E) gab es keine prinzipiellen Unterschiede. Im Fettgewebe RG hatte Palmitinsäure (C16:0) den größten Anteil der TG, gefolgt von Ölsäure (C18:1n-9, OA) und Palmitoleinsäure (C16:1). Bei den Frühgeborenen FG ist es Ölsäure, gefolgt von Palmitin- und dann Linolsäure (C18:2n-6, LA). Die Gruppe FG/E setzte sich lediglich aus drei Patienten zusammen und ist nachfolgend nur deskriptiv beschrieben. Hier war auffällig, dass der EPA- und der DHA-Anteil im Vergleich mit RG und FG um ein Vielfaches erhöht war, was auf die Zusammensetzung der parenteralen Lipidemulsion zurückzuführen ist. Dauer und Dosis der Fettemulsionen-Gabe ist Tab. 26 zu entnehmen.

Die Fettsäureanteile in den Triglyceriden des Blutplasmas wurden in allen drei Gruppen dominiert von Palmitinsäure, Ölsäure und Linolsäure. Auffällig ist der geringere LA-Anteil RG und der geringe OA-Anteil, aber deutlich höherer EPA- und DHA-Anteil FG/E.

3.6 PROFIL DER MOLEKULAREN SPEZIES VON PHOSPHATIDYLCHOLIN

Auch hier erfolgt zunächst die deskriptive Darstellung der molekularen Spezies von Phosphatidylcholin.



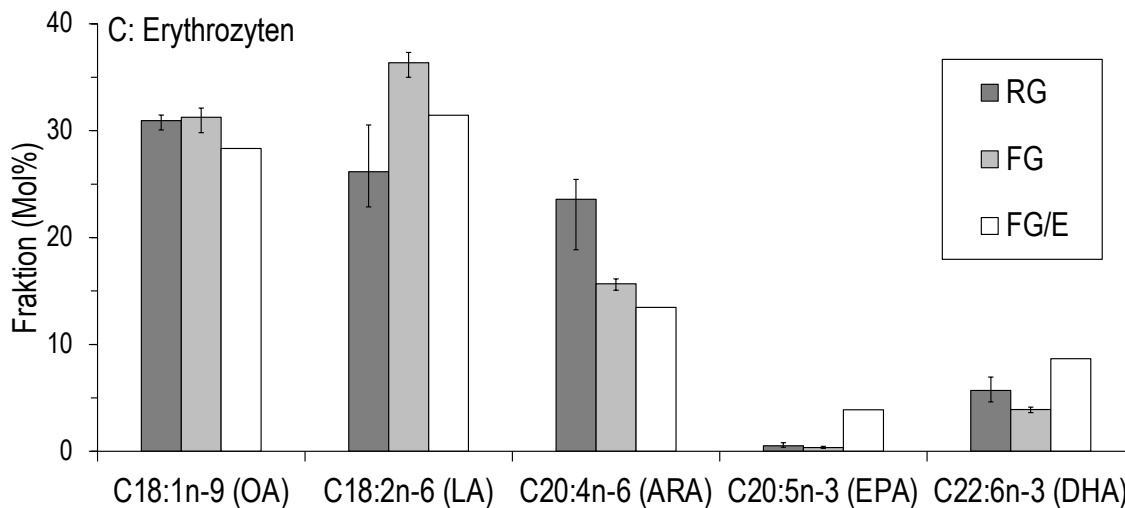


Abbildung 6: Profil der molekularen Spezies von Phosphatidylcholin

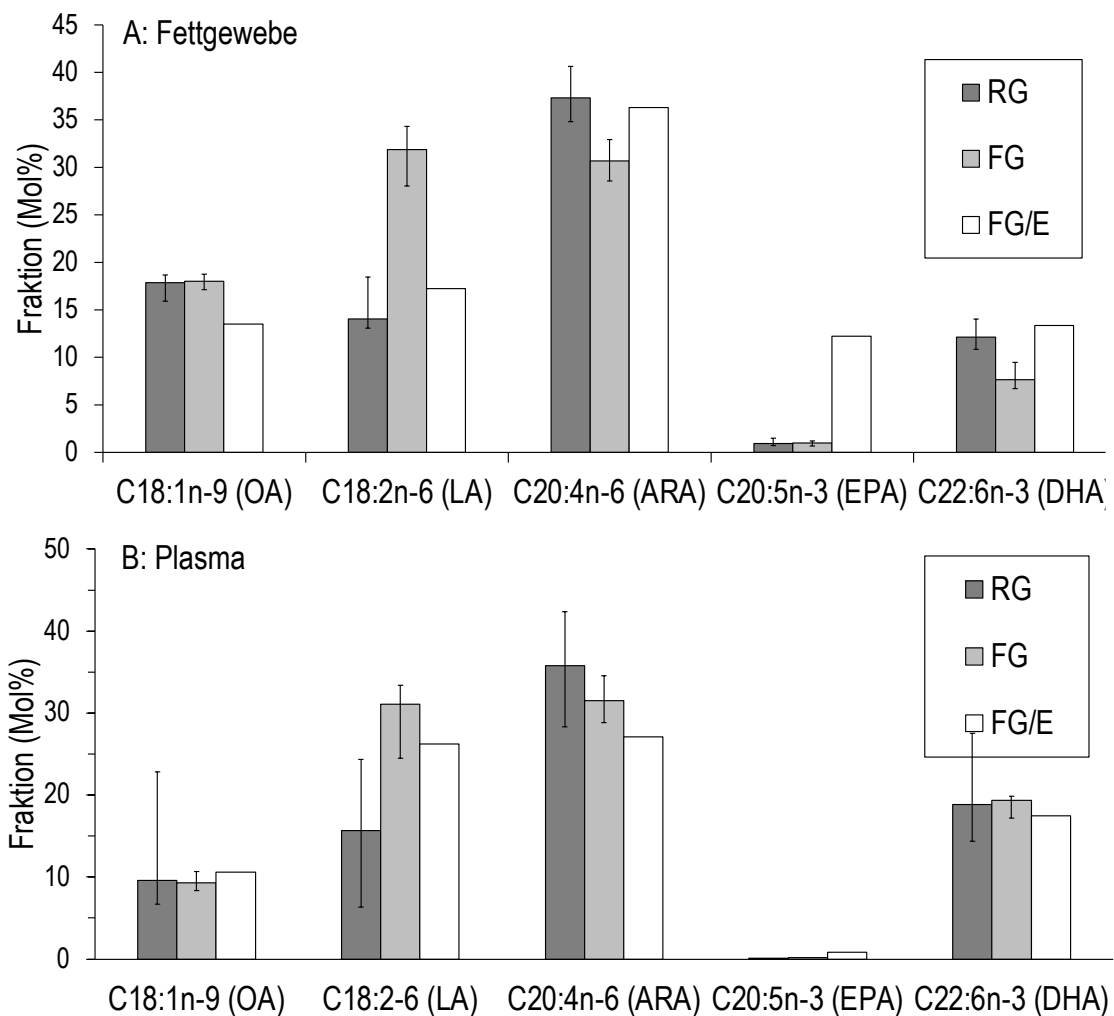
Das Verteilungsmuster der molekularen Spezies von Phosphatidylcholin (PC) im **Fettgewebe** (A), im **Plasma** (B) und in **Erythrozyten** (C) Reifgeborener nach Geburt (RG), Frühgeborener (FG) zum ET und Frühgeborener mit Enterostoma (FG/E) zum ET, welche parenteral ernährt wurden. Die Daten sind molare Prozentsätze der PC-Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PC in Mol% und werden im Säulendiagramm als Median (sowie 25./75. Perzentile) dargestellt. Die Gruppe Frühgeborener mit Enterostoma setzt sich lediglich aus 3 Probanden zusammen und ist daher nur als Median und Box dargestellt. Die Fettgewebe- und Plasmaproben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ET entnommen. Reifgeborene (Fett $n = 16$, Plasma und Erythrozyten $n = 16$), Frühgeborene (Fett $n = 12$, Plasma $n = 9$, Erythrozyten $n = 8$), Frühgeborene mit Enterostoma, die parenterale prolongiert Ernährung erhielten ($n = 3$). Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *EPA* Eicosapentaensäure, *ET* errechneter Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene, *FG/E* Frühgeborene mit Enterostoma, *LA* Linolsäure, *OA* Ölsäure, *PC* Phosphatidylcholin, *RG* Reifgeborene

Das Verteilungsmuster der molekularen Spezies von PC jeweils in Fettgewebe (Abb. 6, A), Plasma (Abb., B) und Erythrozyten (Abb. 6, C) der drei Gruppen RG, FG, FG/E ist in Abbildung 6 dargestellt. Zwischen den unterschiedlichen Kompartimenten Fettgewebe, Plasma und Erythrozyten gab es keine grundsätzlichen Unterschiede der Verteilung der Molekülspezies. Auffällig war der im Fettgewebe geringere Anteil LA-haltiger PC-Spezies am Gesamt-PC bei RG und FG/E im Vergleich zu FG, sowie der um ein Vielfaches höherer Anteil EPA- und DHA-haltiger PC-Spezies am Gesamt-PC bei FG/E, welche langfristig parenteral ernährt wurden. Das Gleiche galt für LA, EPA und DHA im Plasma und Erythrozyten. Im Plasma war der Anteil OA-haltiger PC-Spezies am Gesamt-PC um etwa ein Drittel geringer als im Fettgewebe oder den Erythrozyten.

Prinzipiell galt für alle Kompartimente, dass der Anteil ARA- und DHA-haltiger PC-Spezies am Gesamt-PC bei RG größer war als bei FG. Dafür war der Anteil LA-haltiger PC-Spezies bei FG größer als bei RG.

3.7 PROFIL DER MOLEKULAREN SPEZIES VON PHOSPHATIDYLETHANOLAMIN

Wie zuvor erfolgt zunächst die rein deskriptive Darstellung der molekularen Spezies von Phosphatidylethanolamin.



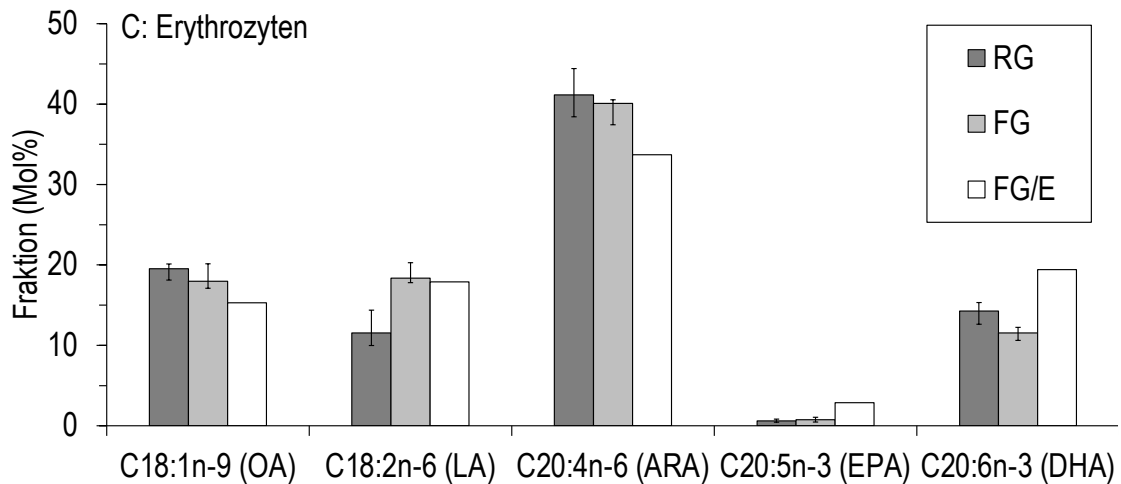


Abbildung 7: Profil der molekularen Spezies von Phosphatidylethanolamin

Das Verteilungsmuster der molekularen Spezies von Phosphatidylethanolamin (PE) im **Fettgewebe** (A), im **Plasma** (B) und in **Erythrozyten** (C) Reifgeborener nach Geburt (RG), Frühgeborener (FG) zum ET und Frühgeborener mit Enterostoma (FG/E) zum ET, welche parenteral ernährt wurden. Die Daten sind molare Prozentsätze der PE-Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PE in Mol% und werden im Säulendiagramm als Median (sowie 25./75. Perzentile) dargestellt. Die Gruppe Frühgeborener mit Enterostoma setzt sich lediglich aus 3 Probanden zusammen und ist daher nur als Median und Box dargestellt. Die Fettgewebe- und Plasmaproben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des (geplanten) ET entnommen. Reifgeborene (Fett $n = 16$, Plasma und Erythrozyten $n = 16$), Frühgeborene (Fett $n = 12$, Plasma $n = 9$, Erythrozyten $n = 8$), Frühgeborene mit Enterostoma, die prolongiert parenterale Ernährung erhielten ($n = 3$). Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *EPA* Eicosapentaensäure, *ET* errechneter Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene, *FG/E* Frühgeborene mit Enterostoma, *LA* Linolsäure, *OA* Ölsäure, *PE* Phosphatidylethanolamin, *RG* Reifgeborene

Das Verteilungsmuster der molekularen Spezies von PE jeweils in Fettgewebe (Abb. 7, A), Plasma (Abb. 7, B) und Erythrozyten (Abb. 7, C) der drei Gruppen RG, FG, FG/E ist in Abbildung 7 dargestellt. In den unterschiedlichen Kompartimenten Fettgewebe, Plasma und Erythrozyten gab es keine grundsätzlichen Unterschiede der Verteilung der Molekülspezies. Auffällig war, dass in allen drei Kompartimente Fettgewebe, Plasma und Erythrozyten, der Anteil ARA-haltiger PE-Spezies am Gesamt-PE am größten war. Dabei hatten RG mehr ARA als FG und in Plasma und Erythrozyten auch mehr als FG/E. Im Vergleich mit den PCs war der Anteil ARA- und DHA-haltiger PE-Spezies am Gesamt-PE in allen Kompartimenten größer und der Anteil LA-haltiger PE-Spezies geringer als

in PCs. Zwischen den Gruppen deckten sich die Ergebnisse mit denen der PCs. RG hatten weniger LA, aber mehr ARA und DHA (außer im Plasma) als FG.

3.8 VERGLEICH VON ARA, DHA UND LA IM FETTGEWEBE VON REIF- UND FRÜHGEBORENEN

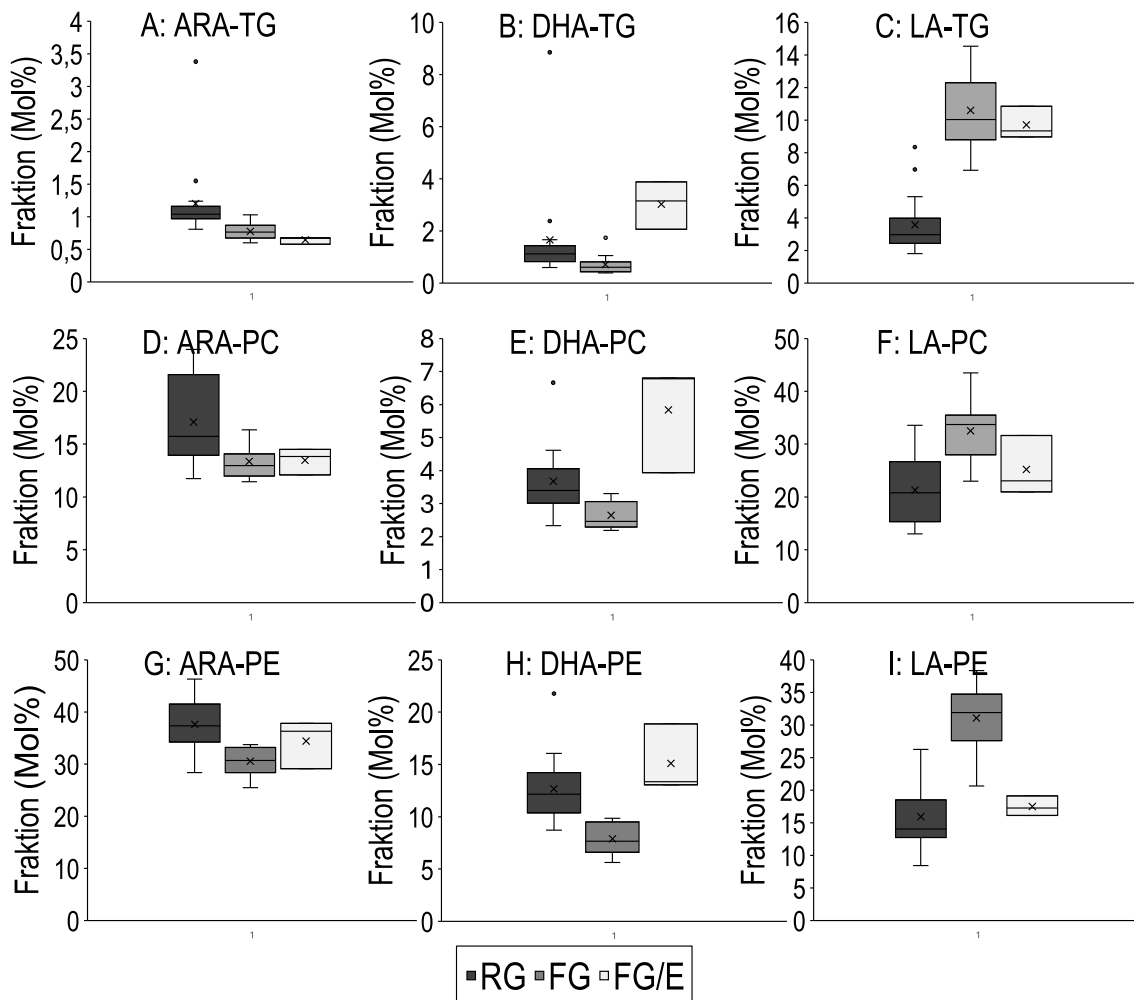


Abbildung 8: Fettsäureanteile im Fettgewebe

Unterschiede der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ARA, DHA und LA in TGs, PCs und PEs im **Fettgewebe Reifgeborener nach Geburt** (RG; dunkelgrau), **Frühgeborener zum ET** (FG; mittelgrau) und **Frühgeborener mit Enterostoma zum ET, die parenteral ernährt wurden** (FG/E; hellgrau). A-C: ARA-, DHA- und LA-Anteile der TG im Fettgewebe. Die Daten zeigen den molaren Anteil (in Mol%) dieser Fettsäuren an allen Fettsäuren der Triglyceride und werden als Mediane mit der 25./75. Perzentile mittels Boxplot dargestellt. D-F: Anteil von ARA-, DHA- und LA-haltigen PC-Spezies am Gesamt-PC im Fettgewebe. G-I: Anteil von ARA-, DHA- und LA-haltigen PE-Spezies am Gesamt-PE im Fettgewebe. Die Daten sind molare Prozentsätze der PC/PE-

Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PC/PE in Mol% und werden als Boxplot dargestellt. Hierbei markiert die untere Begrenzung der Box das 25. Perzentil, der mittlere Strich den Median und die obere Begrenzung das 75. Perzentil. Die „Whiskers“ stellen das Minimum, bzw. das Maximum dar. Alle Fettgewebeprouben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ETs entnommen. Reifgeborene ($n= 16$), Frühgeborene ($n = 12$), Frühgeborene mit Enterostoma, die prolongiert parenterale Ernährung erhielten ($n = 3$). Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *ET* errechneter Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene, *FG/E* Frühgeborene mit Enterostoma, *LA* Linolsäure, *PC* Phosphatidylcholin, *PE* Phosphatidylethanolamin, *RG* Reifgeborene, *TG* Triglyceride

3.8.1 ARA-, DHA- UND LA-ANTEIL DER TRIGLYCERIDE IM FETTGEWEBE

Der ARA- und DHA-Anteil im Fettgewebe als Speicherorgan Reifgeborener (RG) bei Geburt war größer als der Frühgeborener (FG) zum errechneten Entbindungstermin (ET) (siehe Abb. 8, A, B).

Der ARA-Anteil der Fettsäuren der Triglyceride im Fettgewebe von RG betrug 1,04 % (0,98 - 1,14) und somit größer als bei FG zum ET (0,76 % (0,67 - 0,84), $p < 0,001$). Auch der DHA-Anteil der Fettsäuren der Triglyceride im Fettgewebe von RG war mit 1,12 % (0,87 - 1,41) größer als bei FG zum ET (0,61 % (0,44 - 0,82), $p = 0,003$).

Im Vergleich zu RG und FG war in der Gruppe der FG/E, welche parenteral ernährt wurde, war der ARA-Anteil der Fettsäuren der Triglyceride im Fettgewebe mit 0,67 % (0,58 - 0,68) (siehe Abb. 8, A) am geringsten, wohingegen der DHA-Anteil mit 3,15 % (2,06 - 3,88) am größten war (siehe Abb. 8, B). Die Gruppe der FG/E wird in dieser Gruppe zwar in Boxplots dargestellt und beschrieben, da sie sich jedoch lediglich aus 3 Probanden zusammensetzt, ist die hieraus abgeleitete Statistik nicht repräsentativ. Das gilt im Folgenden für alle Boxplots der Gruppe FG/E. Im Gegensatz zu den geringeren ARA- und DHA-Anteilen der FG zum ET im Vergleich zu RG bei Geburt steht der höhere LA-Anteil der Fettsäuren der Triglyceride der FG zum ET mit 10 % (9,3 - 11,9) (siehe Abb. 8, C). RG hatten lediglich einen LA-Anteil von 2,96 % (2,48 - 3,6) ($p < 0,001$). Der LA-Anteil bei parenteral ernährten FG (FG/E) betrug 9,33 % (8,97 - 10,85) (siehe Abb. 8, C).

3.8.2 ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PHOSPHATIDYLCHOLIN-SPEZIES IM FETTGEWEBE

Ebenso wie in den TG machten die ARA- und DHA-haltigen PC-Untergruppen bei RG nach Geburt einen größeren Anteil am Gesamt-PC als bei FG zum ET aus (siehe Abb. 8, D, E). Der Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC im Fettgewebe betrug bei RG nach Geburt 15,7 % (14,7 - 20,5), bei FG zum ET 13 % (12,5 - 14,1) ($p < 0,001$). Auch der Anteil von DHA-PC am Gesamt-PC war bei FG zum ET mit 2,46 % (2,31 - 2,92) geringer als bei RG nach Geburt (3,4 % (3,03 - 4,02) ($p < 0,001$)). Dagegen hatten FG zum ET mit 33,7 % (28,4 - 35,3) einen deutlich größeren Anteil LA-PC am Gesamt-PC als RG mit 20,8 % (15,7 - 26,6) ($p < 0,001$) nach Geburt.

Bei FG/E, welche parenteral ernährt wurden, war der Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC mit 13,84 % (12,1 - 14,5) ähnlich groß wie bei FG zum ET, der DHA-PC-Anteil war mit 6,78 % (3,94 - 6,81) deutlich größer als bei FG zum ET. Für LA-PC von FG/E fanden wir einen Anteil von 23,1 % (20,96 - 31,63) am Gesamt-PC.

3.8.3 ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PE-SPEZIES IM FETTGEWEBE

Die Ergebnisse für die PE-Spezies unterscheiden sich nicht grundsätzlich von denen der Triglyceride und PCs. Die ARA- und DHA-Untergruppen im Fettgewebe von RG nach Geburt machten einen größeren Anteil am Gesamt-PE als bei FG zum ET aus (siehe Abb. 8, G, H). RG nach Geburt wiesen mit 37,3 % (34,8 - 40,6) einen höheren Anteil von ARA-PE am Gesamt-PE auf als FG zum ET mit 30,7 % (28,6 - 32,9) ($p < 0,001$).

Ähnlich wie bei ARA-PE fanden wir für DHA-PE bei RG nach Geburt mit 12,2 % (10,8 - 14,0) vs. 7,64 % (6,71 - 9,47) ($p < 0,001$) größere Anteile als bei FG zum ET. Im Gegensatz dazu hatten FG zum ET einen Anteil von LA-PE am Gesamt-PE von 31,9 % (28 - 34,4) und damit etwa doppelt so viel wie RG mit 14 % (13,1 - 18,5) ($p < 0,001$) (siehe Abb. 8, I).

Der Anteil von ARA-PE am Gesamt-PE von parenteral ernährten FG/E war etwas größer als bei FG (36,29 % (29,11 - 37,82)). Der Anteil von DHA-PE im Fettgewebe von FG/E war mit 13,35 % (13,06 - 18,88) deutlich größer als bei FG zum ET. Der Anteil von LA-PE von parenteral ernährten FG/E zum ET betrug 17,24 % (16,13 - 19,11) (siehe Abb. 8, I).

3.8.4 DARSTELLUNG VON ARA, DHA UND LA IM FETTGEWEBE IN ABHÄNGIGKEIT VOM POSTNATALEN ALTER

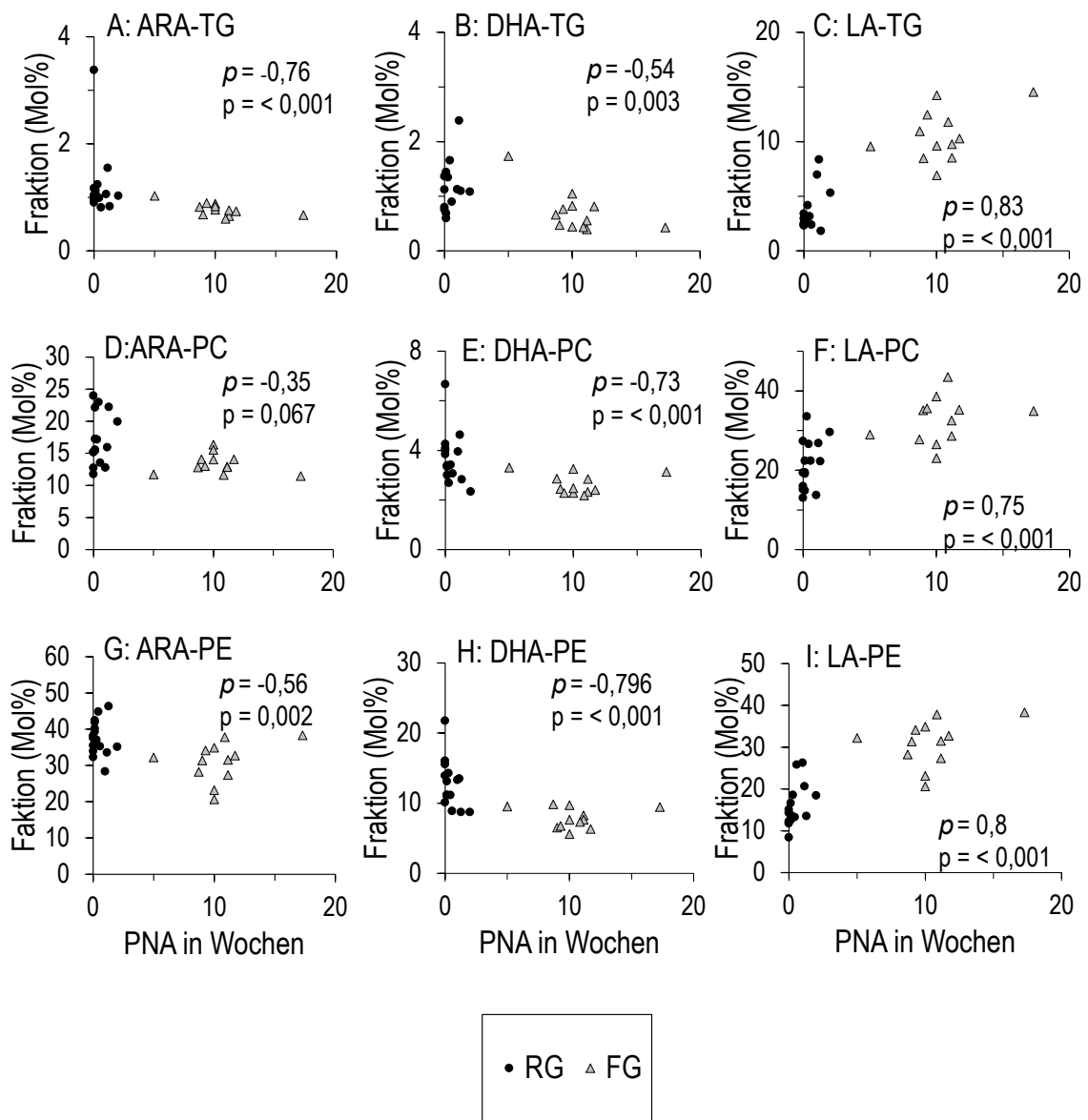


Abbildung 9: Darstellung von ARA, DHA und LA im Fettgewebe in Abhängigkeit vom PNA

Darstellung der Anteile der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ARA, DHA und LA in TGs, PCs und PEs im **Fettgewebe Reifgeborener** nach Geburt (RG; schwarze Kreise) und **Frühgeborener zum ET** (FG; grau gefüllte Dreiecke) in Abhängigkeit vom postnatalen Alter (PNA)(in Wochen). A-C: Darstellung der ARA-, DHA- und LA-Anteile der TG im Fettgewebe in Abhängigkeit vom PNA. Die Daten zeigen den molaren Anteil (in Mol%) dieser Fettsäuren an allen Fettsäuren der Triglyceride. D-F: Darstellung der Anteile von ARA-, DHA- und LA-haltigen PC-Spezies am Gesamt-PC im Fettgewebe in Abhängigkeit vom PNA. G-I: Darstellung der Anteile von ARA-, DHA- und LA-haltigen PE-Spezies am Gesamt- PE im Fettgewebe in Abhängigkeit vom PNA.

Die Daten sind molare Prozentsätze der PC/PE-Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PC/-PE in Mol%. Alle Fettgewebeprouen wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ET entnommen. Reifgeborene ($n = 16$), Frühgeborene ($n = 12$). Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *ET* errechneter Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene, *LA* Linolsäure, *PC* Phosphatidylcholin, *PE* Phosphatidylethanolamin, *PNA* Postnatales Alter, *RG* Reifgeborene, *TG* Triglyceride, ρ (Rho) Spearmans-Korrelationskoeffizient, p Signifikanzniveau

Folgende Parameter des Fettgewebes zeigten negative Korrelationen mit dem PNA:

- a) Anteil von ARA-TG im Fettgewebe ($\rho = -0,76$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 9A),
- b) Anteil von DHA-TG im Fettgewebe ($\rho = -0,54$, $p = 0,003$) (siehe Abb. 9B),
- c) Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC im Fettgewebe ($\rho = -0,35$, $p = 0,067$) (siehe Abb. 9D),
- d) Anteil von DHA-PC am Gesamt-PC im Fettgewebe ($\rho = -0,73$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 9E),
- e) Anteil von ARA-PE am Gesamt-PE im Fettgewebe ($\rho = -0,56$, $p = 0,002$) (siehe Abb. 9G),
- f) Anteil von DHA-PE am Gesamt-PE im Fettgewebe ($\rho = -0,796$, $p < 0,001$), (siehe Abb. 9H).

Im Gegensatz hierzu zeigten die LA-Anteile im Fettgewebe eine positive Korrelation mit dem PNA:

- a) Anteil von LA-TG im Fettgewebe ($\rho = 0,83$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 9C),
- b) Anteil von LA-PC am Gesamt-PC im Fettgewebe ($\rho = 0,75$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 9F),
- c) Anteil von LA-PE am Gesamt-PE im Fettgewebe ($\rho = 0,8$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 9I).

3.9 VERGLEICH VON ARA, DHA UND LA IM BLUTPLASMA VON REIF- UND FRÜHGEBORENEN

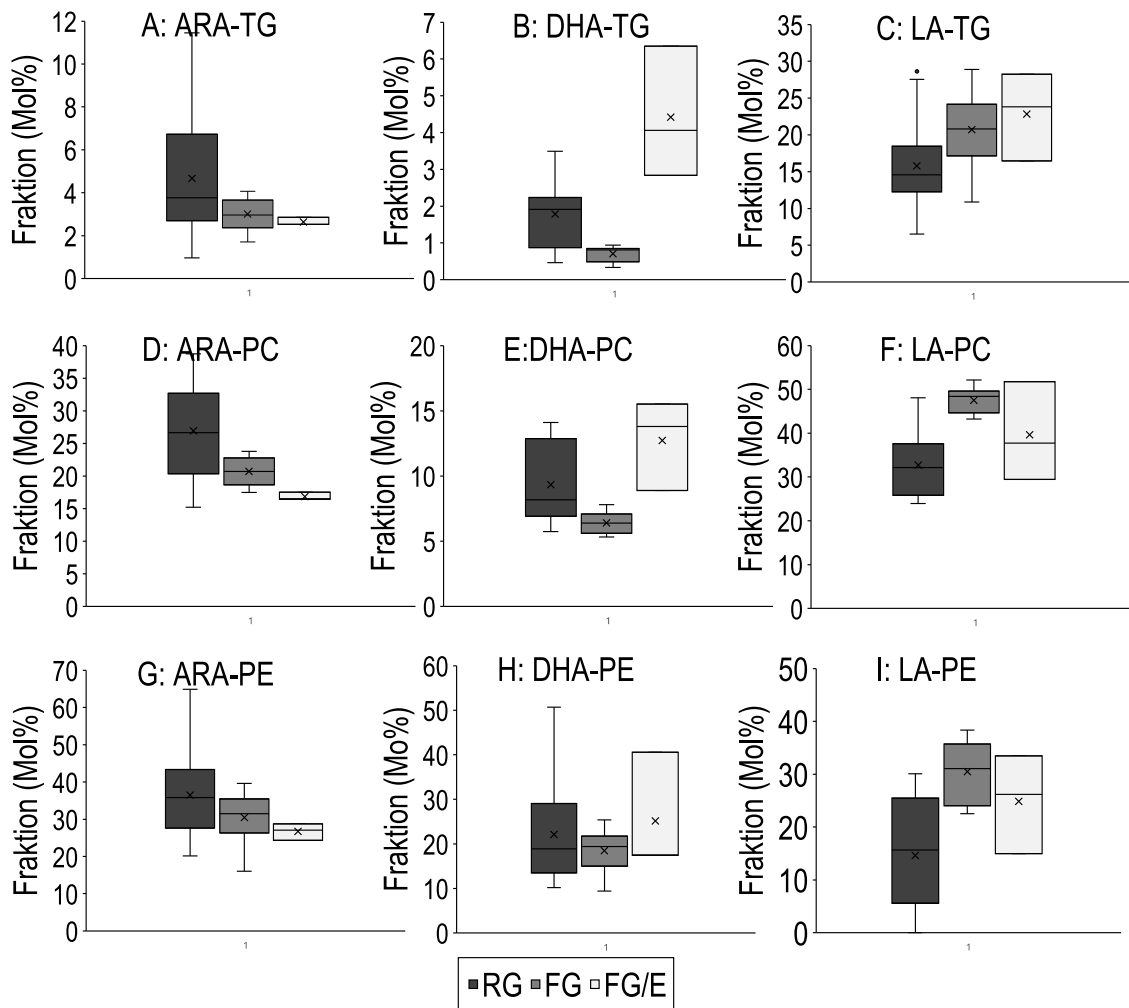


Abbildung 10: Fettsäureanteile im Blutplasma (Böckmann et al., 2021)

Unterschiede der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ARA, DHA und LA in TGs, PCs und PEs im **Plasma Reifgeborener nach Geburt** (RG; dunkelgrau), **Frühgeborener zum ET** (FG; mittelgrau) und **Frühgeborener mit Enterostoma zum ET, die parenteral ernährt wurden** (hellgrau). A-C: ARA-, DHA- und LA-Anteile der TG im Fettgewebe. Die Daten zeigen den molaren Anteil (in Mol%) dieser Fettsäuren an allen Fettsäuren der Triglyceride und werden als Mediane mit der 25./75. Perzentile mittels Boxplot dargestellt. D-F: Anteil von ARA-, DHA- und LA-haltigen PC-Spezies am Gesamt-PC im Fettgewebe. G-I: Anteil von ARA-, DHA- und LA-haltigen PE-Spezies am Gesamt-PE im Fettgewebe. Die Daten sind molare Prozentsätze der PC/PE-Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PC/PE in Mol% und werden als Boxplot dargestellt. Hierbei markiert die untere Begrenzung der Box das 25. Perzentil, der mittlere Strich den Median und die obere Begrenzung das 75. Perzentil. Die „Whiskers“ stellen das Minimum, bzw. das Maximum dar. Alle Fettgewebeprouben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ETs entnommen. Reifgeborene ($n = 16$),

Frühgeborene ($n = 9$), Frühgeborene mit Enterostoma, die parenterale Ernährung erhielten ($n = 3$). Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *ET* errechneter Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene, *FG/E* Frühgeborene mit Enterostoma, *LA* Linolsäure, *PC* Phosphatidylcholin, *PE* Phosphatidylethanolamin, *RG* Reifgeborene, *TG* Triglyceride

3.9.1 ARA-, DHA- UND LA-ANTEIL DER TRIGLYCERIDE IM BLUTPLASMA

Im Blutplasma RG war der ARA- und DHA-Anteil der Fettsäuren der Triglyceride größer als bei FG (siehe Abb. 10, A, B). Bei RG nach Geburt betrug der ARA-Anteil der TGs im Blutplasma 3,76 % (2,81 - 6,07), bei FG zum ET war er mit 2,96 % (2,67 - 3,32) geringer ($p = 0,003$) (siehe Abb. 10, A). Ähnliches galt für DHA: RG nach Geburt hatten mit 1,92 % (0,97 - 2,23) größere DHA-Anteile als FG zum ET (0,81 % (0,63 - 0,85)) ($p = 0,003$) (siehe Abb. 10, B). Die parenteral ernährten FG/E wiesen einen ARA-Anteil von 2,52 % (2,52 - 8,6) und einen deutlich größeren DHA-Anteil als FG von 4,06 % (2,84 - 6,35) (siehe Abb. 10, A u. B) auf.

Der LA-Anteil der TGs im Blutplasma war bei RG am geringsten (14,6 % (12,6 - 18,0)), gefolgt von den FG (20,8 % (19,6 - 23,6)) ($p = 0,042$) und den parenteral ernährten FG/E welche mit 23,8 % (16,46 - 28,26) den größten LA-Anteil der TGs des Blutplasmas besaßen (siehe Abb. 10, C).

3.9.2 ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PC-SPEZIES IM BLUTPLASMA

Ebenso wie in den TGs des Blutplasmas, machten die ARA- und DHA-PC-Untergruppen im Blutplasma von RG nach Geburt einen größeren Anteil am Gesamt-PC aus als bei FG zum ET (siehe Abb. 10, D, E).

Der Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC betrug bei RG nach Geburt 26,7 % (21,3 - 32,5) und bei FG zum ET 20,7 % (19,1 - 22,3) ($p = 0,023$). Auch der DHA-PC-Anteil war bei RG nach Geburt mit 8,16 % (7,18 - 12,5) größer als bei FG zum ET (6,38 % (5,82 - 7,02)) ($p = 0,003$). Der Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC der parenteral ernährten FG/E war zum ET mit 16,52 % (16,45 - 17,53) kleiner als bei RG und FG. Dagegen war er für DHA mit 13,79 % (8,88 - 15,51) deutlich größer als bei FG (siehe Abb. 10, D, E).

Ähnlich wie bei LA-TG fanden wir bei FG zum ET mit 48,4 % (45,4 - 49,6) deutlich größere Anteile von LA-PCs als bei RG nach Geburt (32,3 % (26,5 - 37,4)) ($p < 0,001$). Bei FG/E betrug der Anteil von LA-PC am Gesamt PC 37,72 % (29,44 - 51,76) (siehe Abb. 10, F).

3.9.3 ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PE-SPEZIES IM BLUTPLASMA

Die Ergebnisse der Anteile von ARA-PE und DHA-PE am Gesamt-PE im Blutplasma von RG nach Geburt und FG zum ET ähnelten sich. Der Anteil von ARA-PE bei RG betrug 35,8 % (28,4 - 42,3) und bei FG 31,5 % (28,8 - 34,5) ($p = 0,194$). Der Anteil von DHA-PE bei RG betrug 18,9 % (14,3 - 27,5) und bei FG 19,4 % (17,2 - 19,9) ($p = 0,820$). (siehe Abb. 10, G, H). Bei den FG/E zum ET lag der Anteil von ARA-PE bei 27,1 % (24,31 - 28,71) und der von DHA-PE bei 17,51 % (17,43 - 40,6).

Wie bei den TGs und PCs des Blutplasmas, waren für LA deutliche Unterschiede der Anteile von LA-PE bei RG und FG zu sehen. FG zum ET wiesen mit 31,1 % (24,5 - 33,4) einen deutlich höheren Anteil von LA-PE auf als RG (15,7 % (6,36 - 24,3)) ($p < 0,001$). (siehe Abb. 10, I). Parenteral ernährte FG/E hatten zum ET 26,2 % (14,97 - 33,46) LA.

3.9.4 DARSTELLUNG VON ARA, DHA UND LA IM BLUTPLASMA IN ABHÄNGIGKEIT VOM POSTNATALEN ALTER

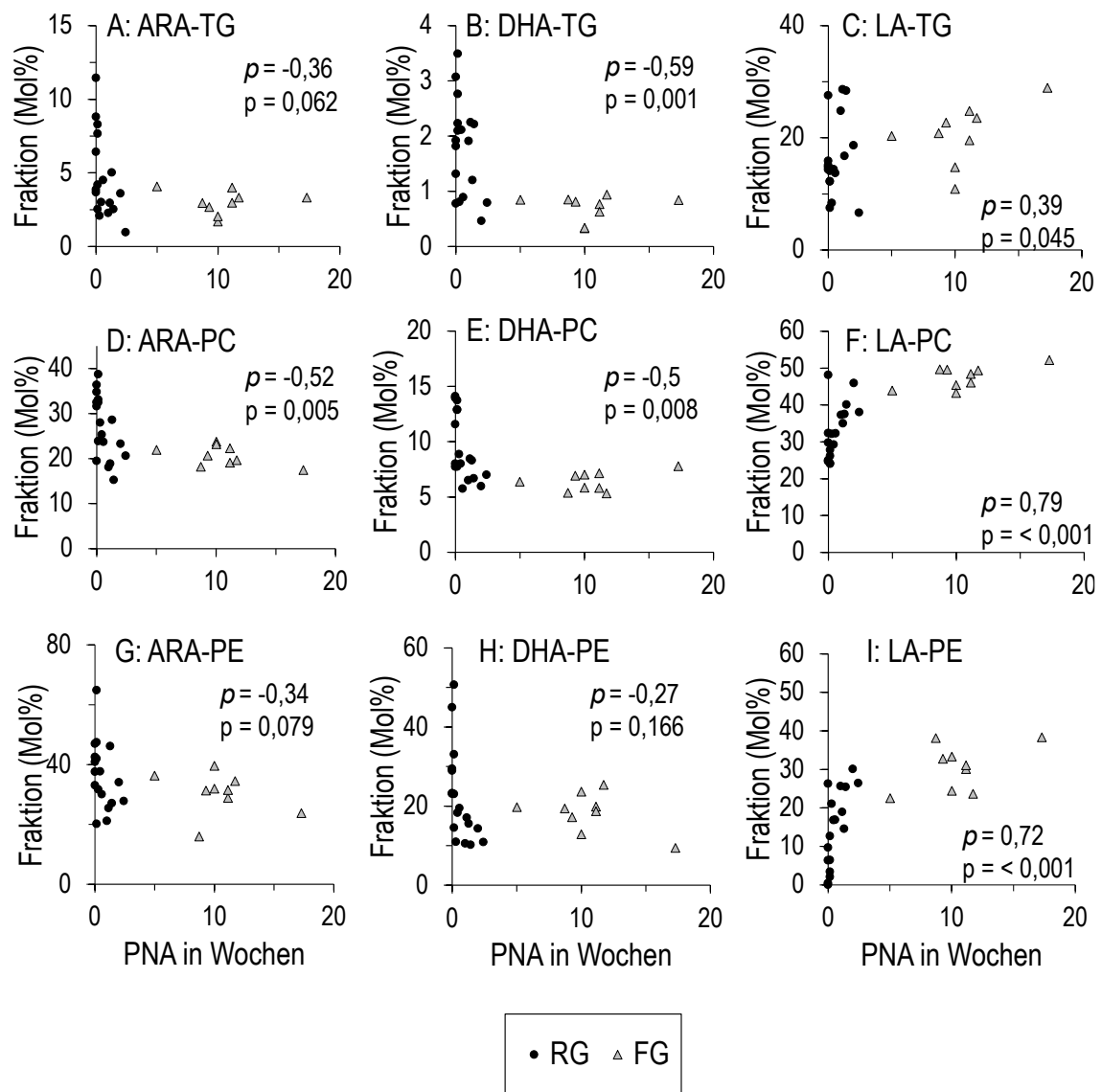


Abbildung 11: Darstellung von ARA, DHA und LA im Plasma in Abhängigkeit vom PNA

Darstellung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ARA, DHA und LA in TGs, PCs und PEs im **Plasma Reifgeborener nach Geburt** (RG; schwarze Kreise, $n = 16$) und **Frühgeborener zum ET** (FG; grau gefüllte Dreiecke, $n = 9$) in Abhängigkeit vom postnatalen Alter (PNA) (in Wochen). A-C: Darstellung der ARA-, DHA- und LA-Anteile der TG im Fettgewebe in Abhängigkeit vom PNA. Die Daten zeigen den molaren Anteil (in Mol%) dieser Fettsäuren an allen Fettsäuren der Triglyceride. D-F: Darstellung der Anteile von ARA-, DHA- und LA-haltigen PC-Spezies am Gesamt-PC im Plasma in Abhängigkeit vom PNA. G-I: Darstellung der Anteile von ARA-, DHA- und LA-haltigen PE-Spezies am Gesamt-PE im Plasma in Abhängigkeit vom PNA. Die Daten sind molare

Prozentsätze der PC/PE-Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PC/PE in Mol%. Alle Fettgewebeproben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ET entnommen. Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *FG* Frühgeborene, *ET* errechneter Entbindungstermin, *LA* Linolsäure, *PC* Phosphatidylcholin, *PE* Phosphatidylethanolamin, *PNA* Postnatales Alter, *RG* Reifgeborene, *TG* Triglyceride, ρ (Rho) Spearmans-Korrelationskoeffizient, *p* Signifikanzniveau

Folgende Parameter des Blutplasmas zeigten negative Korrelationen mit dem PNA, wobei die Korrelation weniger stark ausfiel als im Fettgewebe:

- a) Anteil von ARA-TG im Blutplasma ($\rho = -0,3$, $p = 0,062$) (siehe Abb. 11A),
- b) Anteil von DHA-TG im Blutplasma ($\rho = -0,59$, $p = 0,001$) (siehe Abb. 11B),
- c) Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC im Blutplasma ($\rho = -0,52$, $p = 0,005$) (siehe Abb. 11D),
- d) Anteil von DHA-PC am Gesamt-PC im Blutplasma ($\rho = -0,5$, $p = 0,008$) (siehe Abb. 11E),
- e) Anteil von ARA-PE am Gesamt-PE im Blutplasma ($\rho = -0,34$, $p = 0,08$) (siehe Abb. 11G),
- f) Anteil von DHA-PE am Gesamt-PE im Blutplasma ($\rho = -0,27$, $p = 0,17$) (siehe Abb. 11H).

Die LA-Anteile im Blutplasma zeigten positive Korrelationen mit dem PNA:

- a) Anteil von LA-TG im Blutplasma ($\rho = 0,39$, $p = 0,045$) (siehe Abb. 11C)
- b) Anteil von LA-PC am Gesamt-PC im Blutplasma ($\rho = 0,79$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 11F),
- c) Anteil von LA-PE am Gesamt-PE im Blutplasma ($\rho = 0,72$, $p < 0,001$).

3.10 VERGLEICH VON ARA, DHA UND LA IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN VON REIF- UND FRÜHGEBORENEN

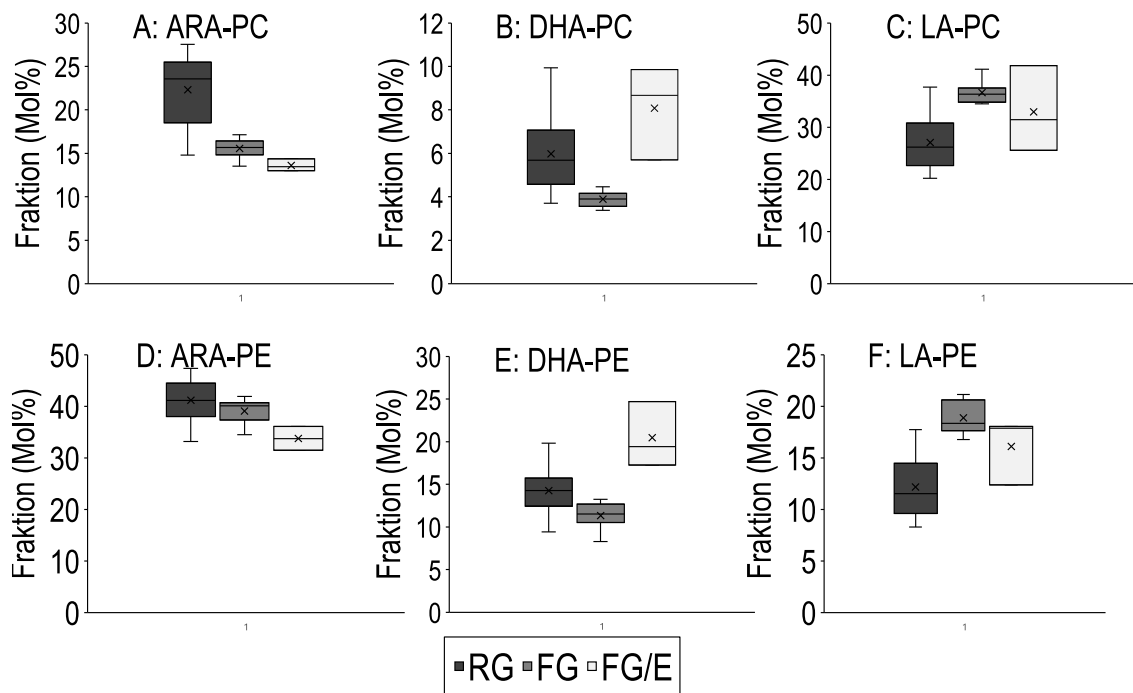


Abbildung 12: Fettsäureanteile in Erythrozytenmembranen

Unterschiede der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ARA, DHA und LA in PCs und PEs in **Erythrozyten** Reifgeborener nach Geburt (RG; dunkelgrau), Frühgeborener zum ET (FG; mittelgrau) und Frühgeborener mit Enterostoma zum ET, die parenteral ernährt wurden (FG/E; hellgrau). A-C: Anteil von ARA-, DHA- und LA-haltigen PC-Spezies am Gesamt-PC im Fettgewebe. D-F: Anteil von ARA-, DHA- und LA-haltigen PE-Spezies am Gesamt-PE im Fettgewebe. Die Daten sind molare Prozentsätze der PC/PE-Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PC/PE in Mol% und werden als Boxplot dargestellt. Hierbei markiert die untere Begrenzung der Box das 25. Perzentil, der mittlere Strich den Median und die obere Begrenzung das 75. Perzentil. Die „Whiskers“ stellen das Minimum, bzw. das Maximum dar. Alle Fettgewebeproben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ET entnommen. Reifgeborene ($n = 16$), Frühgeborene ($n = 8$), Frühgeborene mit Enterostoma, die prolongiert parenterale Ernährung erhielten ($n = 3$). Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *ET* errechneter Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene, *FG/E* Frühgeborene mit Enterostoma, *LA* Linolsäure, *PC* Phosphatidylcholin, *PE* Phosphatidylethanolamin, *RG* Reifgeborene

3.10.1 ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PC-SPEZIES IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN

Der Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC in Erythrozytenmembranen betrug bei RG nach Geburt 23,6 % (18,9 - 25,4) und war damit mit 15,6 % (15,1 - 16,1) geringer als bei FG zum ET ($p < 0,001$) (siehe Abb. 12, A). Ähnliches galt für den Anteil von DHA-PC am Gesamt-PC. Der Anteil von DHA-PC bei RG nach Geburt war mit 5,98 % (3,7 - 4,62) größer als bei FG zum ET (3,9 % (3,62 - 4,14)) ($p = 0,002$) (siehe Abb. 12, B). Parenteral ernährte FG/E hatten zum ET einen im Vergleich zu RG und FG geringeren Anteil ARA-haltiger PC-Spezies von 13,5 % (13,2 - 13,9) (siehe Abb. 12, A). Der Anteil DHA-haltiger PC-Spezies war im Vergleich zu RG und FG größer (8,67 % (7,18 - 9,26)) (siehe Abb. 12, B).

Im Gegensatz dazu hatten FG zum ET deutlich größere Anteile von LA-PC. Diese betrugen bei FG 36,6 % (35,0 - 37,3) und bei RG nach Geburt 26,2 % (22,9 - 30,5) ($p < 0,001$) (siehe Abb. 12, C). Der Anteil von LA-PC am Gesamt-PC in Erythrozytenmembranen von FG/E zum ET lag mit 31,4 % (28,5 - 36,3) dazwischen (siehe Abb. 12, C).

3.10.2 ANTEIL ARA-, DHA- UND LA-HALTIGER PE-SPEZIES IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN

Die Ergebnisse für die PE-Spezies unterschieden sich nicht grundsätzlich von denen der PC-Spezies. Der Anteil von ARA-PE am Gesamt-PE der Erythrozyten betrug bei RG nach Geburt 41,1 % (38,4 - 44,4) und war ähnlich groß wie bei FG zum ET, bei denen der ARA-PE-Anteil 40,1 % (37,4 - 40,5) ($p = 0,174$) betrug (siehe Abb. 12, D). Der Anteil von DHA-PE am Gesamt-PE der Erythrozyten war bei RG nach Geburt mit 14,3 % (12,6 - 15,3) größer als bei FG zum ET (11,5 % (10,6 - 12,2)) ($p = 0,007$) (siehe Abb. 12, E).

FG/E hatten im Vergleich mit RG und FG den kleinsten Anteil ARA-haltiger PE-Spezies am Gesamt-PE (33,7 % (32,6 - 34,9)), jedoch den größten Anteil DHA-haltiger PE-Spezies (19,4 % (18,3 - 22,1)) (siehe Abb. 12, D u. E).

Der Anteil LA-haltiger PE-Spezies am Gesamt-PE war bei RG nach Geburt 11,5 % (9,98 - 14,4) am niedrigsten und bei FG zum ET mit 18,4 % (17,8 - 20,3) am höchsten ($p < 0,001$)

(siehe Abb. 12, F). Der Anteil von LA-PE am Gesamt-PE bei FG/E betrug 17,9 % (15,1 - 18,0) (siehe Abb. 12, F).

3.10.3 DARSTELLUNG VON ARA, DHA UND LA IN ERYTHROZYTENMEMBRANEN IN ABHÄNGIGKEIT VOM POSTNATALEN ALTER

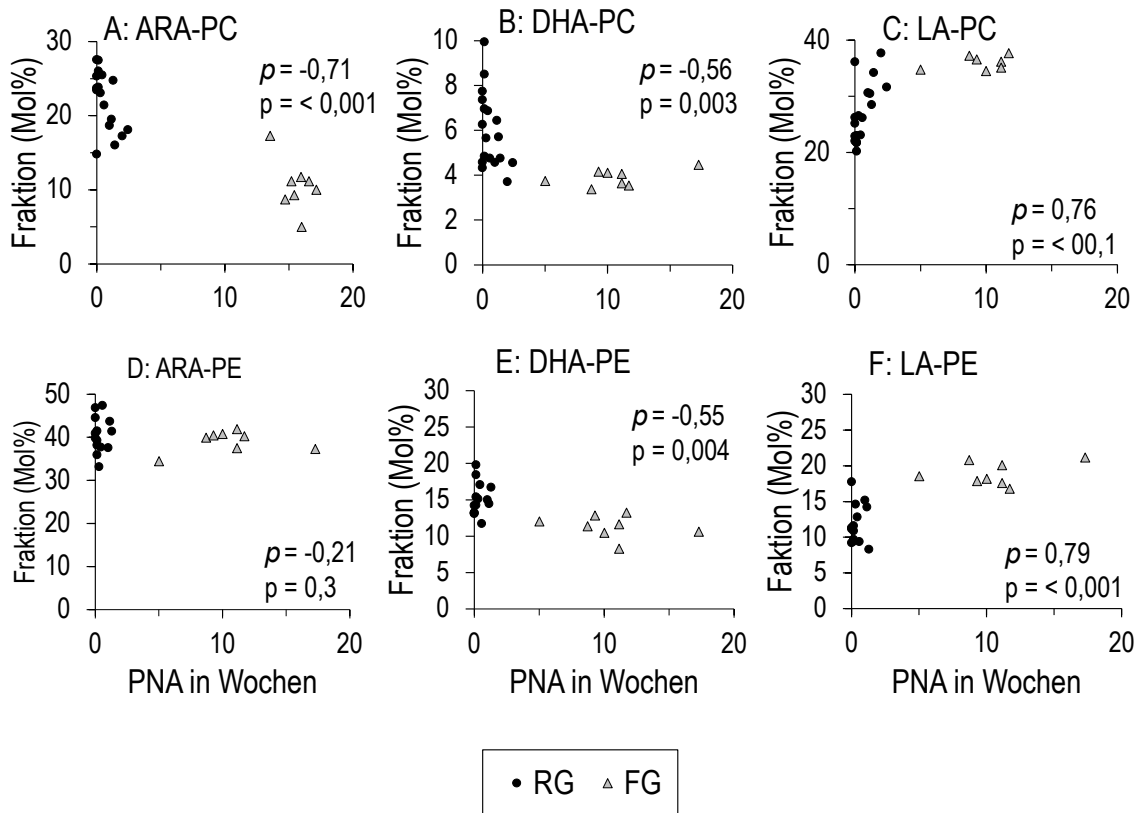


Abbildung 13: Darstellung von ARA, DHA und LA der Erythrozytenmembranen in Abhängigkeit vom PNA

Darstellung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren ARA, DHA und LA in PCs und PEs in **Erythrozyten Reifgeborener nach Geburt** (RG; schwarze Kreise, $n = 16$) und **Frühgeborener zum ET** (FG; grau gefüllte Dreiecke, $n = 8$) in Abhängigkeit vom postnatalen Alter (PNA) (in Wochen).

A-C: Darstellung der Anteile von ARA-, DHA- und LA-haltigen PC-Spezies am Gesamt-PC in Erythrozyten in Abhängigkeit vom PNA. D-F: Darstellung der Anteile von ARA-, DHA- und LA-haltigen PE-Spezies am Gesamt-PE in Erythrozyten in Abhängigkeit vom PNA. Die Daten sind molare Prozentsätze der PC/PE-Untergruppen im Verhältnis zum Gesamt-PC/-PE in Mol%. Alle Fettgewebeproben wurden im Rahmen klinisch indizierter Operationen innerhalb ± 6 Wochen des ET entnommen. Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *FG* Frühgeborene, *ET* errechneter Entbindungstermin, *LA* Linolsäure, *PC* Phosphatidylcholin, *PE*

Phosphatidylethanolamin, *PNA* Postnatales Alter, *RG* Reifgeborene, ρ (Rho) Spearman-Korrelationskoeffizient, p Signifikanzniveau

In den Erythrozytenmembranen zeigten folgende Parameter negative Korrelationen:

- a) Anteil von ARA-PC am Gesamt-PC in Erythrozyten ($\rho = -0,71$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 13A),
- b) Anteil von DHA-PC am Gesamt-PC in Erythrozyten ($\rho = -0,56$, $p = 0,003$) (siehe Abb. 13B),
- c) Anteil von ARA-PE am Gesamt-PE in Erythrozyten ($\rho = -0,21$, $p = 0,3$) (siehe Abb. 13D),
- d) Anteil von DHA-PE am Gesamt-PE in Erythrozyten ($\rho = -0,55$, $p = 0,004$) (siehe Abb. 13E).

Die LA-Anteile in Erythrozytenmembranen wiesen positive Korrelationen auf:

- a) Anteil von LA-PC am Gesamt PC in Erythrozyten ($\rho = 0,76$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 13C),
- b) Anteil von LA-PE am Gesamt-PE in Erythrozyten ($\rho = 0,79$, $p < 0,001$) (siehe Abb. 13F).

3.11 KÖRPERFETTMASSE REIF- UND FRÜHGEBORENER

Die Körperfettmasse der Säuglinge wurde wie unter 2.3.8.2 beschrieben ermittelt. Die Fettmasse in g und die Fettmasse in % sind in Tabelle 27 angegeben und in Abb. 14 grafisch dargestellt. RG hatten zum Zeitpunkt der PEA-POD®-Untersuchung ein PMA von 42,15 SSW (40,3 - 43,5) und FG von 38 SSW (37,4 - 40).

Tabelle 27: Fettmasse Reif- und Frühgeborener

Die Fettmasse wurde mittels PEA-POD®-Untersuchung, wie und 2.3.8.1. beschrieben, bestimmt. Abkürzungen; g Gramm, *Max.* Maximum, *Min.* Minimum, *n* Anzahl

Körperzusammensetzung Reifgeborene (n = 8)					
	Min.	25. Perzentile	Median	75. Perzentile	Max.
Fettmasse (g)	415	442	469	563	835
Fettmasse (%)	11,6	12,9	14,9	18,4	24,3
Körperzusammensetzung Frühgeborene (n = 9)					
	Min.	25. Perzentile	Median	75. Perzentile	Max.
Fettmasse (g)	363	452	543	590	723
Fettmasse (%)	13	16,5	17,8	19,3	22,5

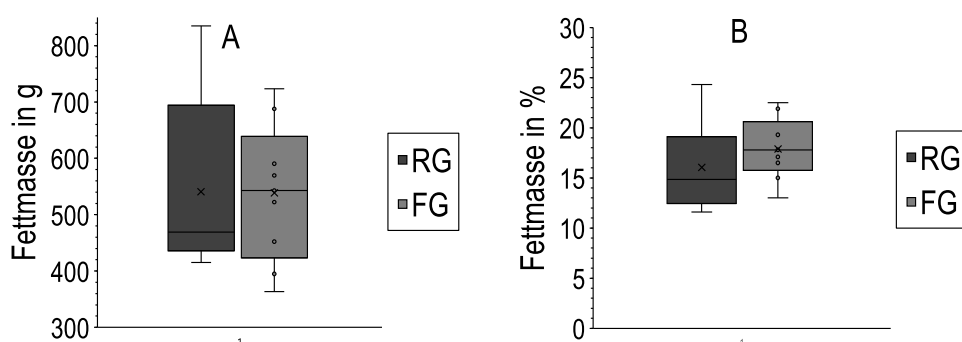


Abbildung 14: Fettmasse Reifgeborener im Vergleich zu Frühgeborenen zum Entbindungstermin

3.12 GESAMT-ARA- UND DHA-GEHALT IM FETTGEWEBE FRÜHGEBORENER AM ERRECHNETEN TERMIN IM VERGLEICH MIT REIFGEBORENEN NACH GEBURT

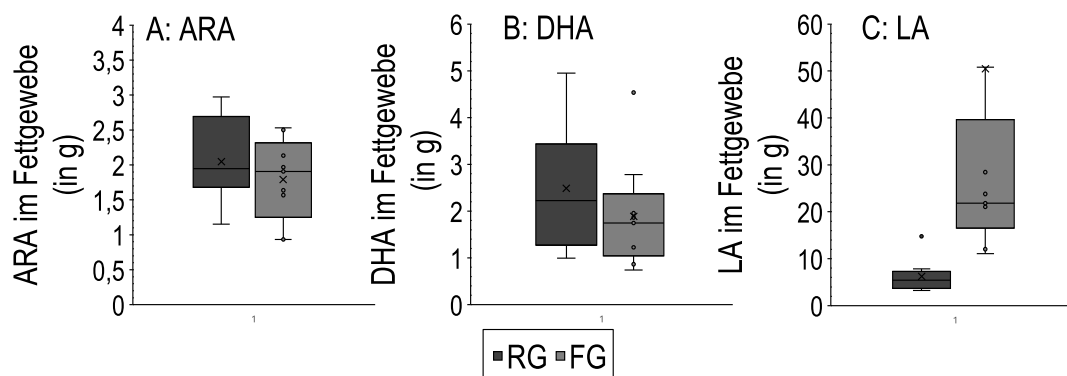


Abbildung 15: Absolute ARA-, DHA- und LA-Anteile im Fettgewebe Reif- und Frühgeborener

Absolutwerte von ARA (A), DHA (B) und LA (C) bezogen aufs gesamte Fettgewebe RG und FG zum ET. Angabe in g als Median und 25./75. Perzentile mittels Boxplot. Der Körperfettanteil RG ($n = 8$) wurde mittels PeaPod®-Untersuchung möglichst zeitnah nach der Geburt bestimmt. Der Körperfettanteil FG ($n = 9$) wurde mittels PeaPod®-Untersuchung zum Zeitpunkt des ET bestimmt. Die Fettgewebeproben wurden im Rahmen klinisch indizierte Operationen innerhalb ± 6 Wochen des (geplanten) ET entnommen. Es wurde extrahiert und analysiert, wie unter „Methoden“ beschrieben. Aus den Fettsäurekonzentrationen (in $\mu\text{g/g}$ Fett) ließen sich die Absolutwerte berechnen. Abkürzungen: *ARA* Arachidonsäure, *DHA* Docosahexaensäure, *ET* Entbindungstermin, *FG* Frühgeborene.

Die Fettmasse in g der Säuglinge wurde mittels PEA-POD-Untersuchung gemessen. Die PEA-POD®-Untersuchung RG fand im Alter von 42+1 SSW PMA (40,3 - 43,5) und die FG im Alter von 38+3 SSW PMA (37+4 - 40) statt. Mithilfe der Fettmasse konnte der absolute Fettsäure-Anteil im Fettgewebe ermittelt werden und ergab, dass der absolute ARA-Anteil im Fettgewebe RG bei ungefähr 1,9 g (1,7 - 2,7) und der FG zum ET bei 1,9 g (1,3 - 2,3) ($p = 0,47$) lag und damit etwa gleich hoch war wie bei RG. Der absolute DHA-Anteil RG im Fettgewebe lag bei 2,2 g (1,3 - 3,4) und der FG zum ET bei 1,7 (1,0 - 2,4) und war damit 23 % (23 - 30) geringer als bei RG ($p = 0,321$). Im Gegensatz dazu war der LA-Anteil im Fettgewebe FG zum ET um ein Vielfaches erhöht und lag bei 21,8 g (16,5 - 39,6) und bei RG bei 5,4 g (3,7 - 7,3) ($p < 0,001$).

4 DISKUSSION

Das Thema dieser Promotionsarbeit ist die Frage, wie sich die vorzeitige Ernährungsumstellung Frühgeborener von der selektiven diaplazentaren Fettsäureversorgung auf die gegenwärtig etablierte enterale und parenterale Nährstoff-Zufuhr der Abteilung Neonatologie des Universitätsklinikum Tübingen, auf die Fettsäurezusammensetzung des „Lipidoms“ Frühgeborener auswirkt. Dies ist wichtig, weil die Fettsäurezusammensetzung der Lipide in den verschiedenen Lipid-Komponenten in engen Grenzen organotypisch und entwicklungsspezifisch ist.

Das Gehirn, welches mit etwa $81,1 \pm 8,1$ Milliarden Neuronen und $84,61 \pm 9,83$ nichtneuronalen Zellen (Gliazellen) etwa 8 Milliarden Synapsen, das komplexeste Organ unseres Körpers ist (Herculano-Houzel, 2009, Lent et al., 2012), enthält nach dem Fettgewebe, die zweithöchste Lipidkonzentration unseres Körpers. Die Membranen dieser Zellen setzen sich zusammen aus polaren Lipiden: Phosphoglyceride, Sphingolipide und Cholesterol (O'Brien and Sampson, 1965b). Das Besondere der Phosphoglyceride der grauen Hirnsubstanz und der Retina ist, dass sie im Vergleich zu den Zellmembranen anderer Gewebe, reich an DHA und ARA sind (Fliesler and Anderson, 1983).

Da die Fettsäure-Verteilung im Gehirn aus offensichtlichen Gründen nicht untersucht werden kann, befasste sich diese Arbeit mit Triglyceriden und Phospholipiden des subkutanen Fettgewebes als Speicherorgan, des Plasmas als Transportmedium zur peripheren Organversorgung und der Erythrozytenmembranen als Repräsentant peripherer Gewebe.

Der normale Fetus wird durch aktiven plazentaren Fettsäuretransport aus dem Blut der Mutter mit ARA und DHA versorgt und speichert im letzten Trimester diese Fettsäuren in den Triglyceriden und im Phosphatidylcholin ein (Clandinin et al., 1981b). Im Gegensatz dazu wird LA im mütterlichen Organismus retiniert, sodass Plasma-PC des Fetus nur halb so viel LA enthält, wie das der Mutter, aber doppelt so viel ARA und ab 32 Woche PMA auch mehr DHA (Bernhard et al., 2019b). Anders als Reifgeborenen, die bis zur Geburt über die Plazenta ernährt werden und nach der Geburt auf die ARA- und DHA-Depots im Fettgewebe zurückgreifen können, endet die selektive plazentare Versorgung Frühgeborener, welche zum Zeitpunkt der Geburt (je nach Unreife) keine

oder geringere Fettsäuredepots aufweisen, unphysiologisch früh und wird durch parenterale und enterale Ernährung ersetzt.

FG werden auf der neonatologischen Intensivstation mit fortifizierter Muttermilch bzw. Formula oder mit parenteralen Lipidemulsionen ernährt, welche, für diesen Zeitpunkt der Entwicklung und der damit einhergehenden Bedürfnisse, inadäquat viel LA und wenig ARA und DHA enthalten (Farquharson et al., 1993).

Eine vorhergehende Studie der Abteilung Neonatologie am Universitätsklinikum Tübingen zeigte, dass die Muttermilch Frühgeborener im Durchschnitt 300 mg/l ARA und 159 mg/l DHA enthält (Maas et al., 2017a). Bei vollaufgebaute Ernährung, d. h. 150 ml/kg/d Muttermilch, liegt damit die mittlere ARA-Zufuhr bei etwa 45 mg/kg/d und die tägliche DHA-Zufuhr bei etwa 24 mg/kg/d. Verläuft die Schwangerschaft normal und erfolgt die Ernährung des Fetus über das mütterliche Blut, gelangt etwa 140-212 mg/kg/d ARA und 43 mg/kg/d DHA zum Fetus (Lapillonne and Jensen, 2009b). Das verursacht, unter der Annahme, dass die Syntheserate des Fetus für ARA und DHA nicht ausreichend ist ein Defizit von mindestens 95 mg/kg ARA und 20 mg/kg DHA täglich (Lapillonne and Jensen, 2009a, Innis, 2005, Clandinin et al., 1981b).

Zur parenteralen Ernährung wird in der Neonatologie des Universitätsklinikum Tübingen in den ersten Tagen nach Geburt SMOFlipid® verabreicht. Bei Anzeichen einer Cholestase im Rahmen einer prolongierten parenteralen Ernährung und einer mit Darmversagen assoziierten Lebererkrankung (Intestinal Failure Associated Liver Disease) wird als parenterale Fettemulsion auf Omegaven® umgestellt. SMOFlipid® setzt sich zusammen aus jeweils 30 % Sojaöl und Kokosöl, 25 % Olivenöl und 15 % Fischöl. Omegaven beinhaltet 100 % Fischöl und besitzt damit die größten Anteile ARA, DHA und EPA.

Eine Studie aus dem Jahr 2011 zeigte an der Fettsäurezusammensetzung der molekularen Spezies von PC und PE in Plasma und Erythrozyten reifer Neugeborener bei parenteraler Ernährung mit Intralipid® und enteraler Ernährung, dass der Anteil ARA-haltiger Spezies der Phosphoglyceride von 17,2 Mol% (Standardfehler $\pm 0,2$) kurz nach der Geburt innerhalb einer Woche um 30 % auf 11,8 % Mol% und der Anteil DHA-haltiger Spezies von 6,9 Mol% (Standardfehler $\pm 0,2$) kurz nach der Geburt um 40 % auf 4,4 Mol% eine Woche nach der Geburt sank (Martin et al., 2011a). Im

Gegensatz dazu stieg der LA-Anteil nach der Geburt innerhalb einer Woche von 7,0 Mol% (Standardfehler $\pm 0,2$) auf 18,8 Mol% um 2,7-fache (Martin et al., 2011b).

Farquahson untersuchte 1993 die Triglyceride des subkutanen Fettgewebes reifer oder fast reifer Neugeborener. Mittels gaschromatographischer Analysen stellte er fest, dass die ARA- und DHA-Anteile der TG im subkutanen Fettgewebe mit dem postnatalen Alter sinken, wohingegen die LA-Anteile zunehmen. Dies entspricht zum einen unseren Beobachtungen unter LA-reicher postnataler Ernährung, zum anderen kann es als zunehmendes Aufbrauchen der ARA/DHA-Depots zugunsten des Gehirnwachstums verstanden werden.

Bei mit Muttermilch ernährten Reifgeborenen sank der ARA-Anteil der TG im subkutanen Fettgewebe von 0,42 % nach der Geburt auf 0,15 % im postnatalen Alter von 21 Wochen. Des Weiteren zeigte er, dass der durchschnittliche DHA-Anteil der Triglyceride des subkutanen Fettgewebes von 0,4 % nach der Geburt auf $< 0,05$ % nach etwa zwei Monaten gesunken war, wenn die Neugeborenen mit Formula ernährt wurden, die kein DHA enthielt (Farquahson et al., 1993). Kurz nach der Geburt bestanden 60 % der Fettsäuren der Triglyceride im subkutanen Fettgewebe aus Palmitin- und Palmitoleinsäure. Diese wurden im Verlauf durch Ölsäure und Linolsäure ersetzt, wobei letztere nach der Geburt vermutlich aus der Nahrung stammte. In den ersten Lebenswochen waren nur sehr geringe Reserven von α -Linolensäure (0,1 %) im subkutanen Gewebe vorhanden, die jedoch schnell auf Werte anstiegen, die stark die diätetische Zufuhr widerspiegeln. (Farquahson et al., 1993)

Während der postnatale Abfall von ARA und DHA und der Anstieg von LA in den Lipiden Reifgeborener wahrscheinlich als physiologisch anzusehen ist, zeigt unsere Studie, dass dieser Prozess aufgrund der Umstellung von der selektiven diaplazentaren Fettsäureversorgung auf die (par)enterale Ernährung bei Frühgeborenen ebenfalls zu beobachten ist, aber wegen der Frühgeburtlichkeit verfrüht geschieht – insbesondere dann, wenn die Frühgeburt zu einem Zeitpunkt eintritt, an dem noch keine oder nur geringe ARA/DHA-haltige Fettdepots angelegt werden konnten (Bernhard et al., 2016b, Farquahson et al., 1993, Martin et al., 2011b).

Vorarbeiten der Abteilung Neonatologie Tübingen haben ebenfalls gezeigt, dass in den Plasmaphospholipiden Frühgeborener der Anteil ARA- und DHA-haltiger Phosphoglyceride (PC, PE) im Vergleich zu Föten gleichen postkonzeptionellen Alters geringer und der LA-Anteil wesentlich erhöht ist. So betrug der Anteil ARA-haltiger PC-Spezies am Gesamt-PC im Plasma von Nabelschnurblut 36,1 % (34,2 - 38,6) und der für DHA 10,2 % (8,8 - 12,8) wohingegen FG nur 20,8 % (19,2 - 23,1) ARA und 5,7 % (5,2 - 6,0) DHA hatten. FG hatten mit 44,7 % (42,27 - 47,18) im Vergleich zu Feten mit 27,38 % (25,54 - 29,33) einen höheren Anteil LA-haltiger PC-Spezies im Blutplasma. (Bernhard et al., 2018) Der Prozess dieser Umstellung ist bei normalem enteralem Kostenaufbau 7-10 Tage nach Geburt abgeschlossen ist (Bernhard et al., 2014).

Im Rahmen dieser Promotion wurde die Fettsäurezusammensetzung von TG, PC und PE im subkutanen Fettgewebe, im Blutplasma und in Erythrozytenmembranen von FG zum ET verglichen mit RG zum Geburtszeitpunkt. Das Resultat war, dass RG, die aufgrund der länger anhaltenden diaplazentaren Versorgung in-utero und der durch den vorrangigen ARA- und DHA-Transport der Plazenta zum Fetus begünstigten Speicherung von ARA und DHA im subkutanen Fettgewebe (Haggarty, 2010) zur Geburt größere ARA- und DHA-Anteile besitzen als FG zum Zeitpunkt ihres errechneten Geburtstermins. Demgegenüber steht, dass Frühgeborene zum Zeitpunkt ihres errechneten Geburtstermins in allen Lipidfraktionen größere LA-Anteile in allen untersuchten Kompartimenten aufwiesen.

In dieser Studie wurde weiterhin gezeigt, dass die daraus resultierende unphysiologische Fettsäurezusammensetzung nicht nur die, wie vorhergehend beschrieben und hier erneut bestätigt, die Phospholipide im Blutplasma FG betrifft, sondern auch ihr Fettgewebe als größtem Speicher der essentiellen Fettsäuren ARA und DHA.

Analog betrifft es die Phospholipide aller weiteren untersuchten Kompartimente, wie das PC der Adipozytenmembranen und der Erythrozytenmembranen als Repräsentant peripherer Gewebe. Plasma-PC ist Bestandteil der Lipoproteine und vorherrschende Transportform von ARA und DHA zur Versorgung peripherer Organe (Bernhard et al., 2018). Unter Zusammenschau dieser Fakten ergibt sich die Annahme, dass infolge einer Frühgeburt wahrscheinlich alle Zellkompartimente, also auch die Zellmembranen

neonatologisch kritischer Organe (Gehirn, Lunge, Auge) in Bezug auf die Fettsäurezusammensetzung ihrer Strukturlipide derangiert sind.

Meine Untersuchung des Fettgewebes RG und FG zum ET hat ergeben, dass FG in der Zeit nach ihrer Geburt bis zum ET im Fettgewebe zumindest für DHA ein kumulatives Defizit von 23 % (22 - 30) ($p = 0,321$) angesammelt haben. Im Median wurde für den ARA-Pool trotz Abnahme des ARA-Anteils für FG ein ähnlicher Gesamtpool ermittelt wie bei RG (ARA im Fettgewebe von FG: 1,9 g (1,2 - 2,3); ARA im Fettgewebe von RG: 1,9 g (1,7 - 2,7) ($p = 0,47$)). Der absolute LA-Anteil im Fettgewebe FG zum ET hingegen war viermal größer als bei RG (LA im Fettgewebe von FG: 21,8 g (16,5 - 39,6); LA im Fettgewebe von RG: 5,4 g (3,7 - 7,3) ($p < 0,001$)). Diese Rechnungen beruhen allerdings, aufgrund der später beschriebenen Schwierigkeiten der PEA-POD®-Untersuchung, auf den Daten von lediglich 8 RG und 9 FG. Verglichen mit den Ergebnissen von Wiechers et. al., welche eine PEA-POD®-Studie mit größerer Fallzahl ($n = 105$) durchführte, erscheinen die Ergebnisse unserer Messungen jedoch stimmig. Wiechers et. al. erhob bei Neugeborenen, die nach der 28. SSW PMA geboren wurden, eine Fettmasse von 403 g (332 - 469) und bei Neugeborenen, die vor der 28. SSW PMA geboren wurden, eine Fettmasse von 436 g (370 - 595). Beide Gruppen hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung ein Alter von etwa 37,5 Wochen PMA. (Wiechers et al., 2022)

Es ist unklar, ob für eine adäquate Entwicklung das Gesamt-ARA- bzw. -DHA-Depot oder die relativen Anteile von ARA/DHA an den LC-PUFAs relevant ist. Der geringe Unterschied der ARA-Anteile im Fettgewebe ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass ARA in einem höheren Maße metabolisch reguliert wird und die ARA-Anteile der Gewebe weniger von der zugeführten Ernährung beeinflusst sind (Diau et al., 2005). Diau et al. verglich die Auswirkung von ARA- und DHA-haltiger, sowie Säuglingsformula ohne ARA und DHA auf die Fettsäurezusammensetzung des zentralen Nervensystems von früh- und reifgeborenen Pavianen. Das Gehirn wurde im (korrigierten) Alter von 28 Tagen seziiert und die Fettsäuren mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie analysiert. Es zeigte sich, dass eine DHA-Supplementierung Auswirkung auf die DHA-Konzentration im ZNS hat, während die ARA-Anteile im ZNS nicht wesentlich durch die Ernährung beeinflusst wurden (Diau et al., 2005).

Bis 2016 lautete die Gesetzgebung, dass Säuglingsformula mindestens genauso viel ARA wie DHA enthalten muss und das höchstens 0,5 % der Fettsäuren DHA sein darf (EU, 2006). Seit 2016 gibt die europäische Kommission vor, dass Säuglingsformula zwischen 20-50 mg DHA/100 kcal (ca. 0,5 - 1 % der Fettsäuren) enthalten sollen. Formula ohne DHA-Inhalt sind ab Inkrafttreten dieser Gesetzgebung im Februar 2021 nicht mehr zulässig (EU, 2016). Eine ARA-Untergrenze gibt es nicht. Diese Tatsache ist sehr kritisch zu betrachten. Diverse Studien zeigen, dass die alleinige DHA-Supplementierung keinen positiven, bzw. einen negativen Effekt hat. Das alleinige Hinzufügen von DHA (60 mg/kg/d enteral in Kapselform) zur Ernährung FG (GA < 29 Wochen) hatte negative Auswirkungen auf das Risiko der Entwicklung einer Bronchopulmonalen Dysplasie und auf die Überlebenswahrscheinlichkeit von Frühgeborenen (Collins et al., 2017). Die kombinierte ARA- und DHA-Supplementierung im Verhältnis 2:1 ARA:DHA hingegen wirkte sich positiv aus auf die ARA- und DHA-Level im Blut Frühgeborener (Frost et al., 2021), auf die Beatmungsdauer Frühgeborener (Wendel et al., 2023) sowie auf die Frühgeborenenretinopathie (Hellström et al., 2021a). Die multizentrische Mega-Donna-Studie ergab zum einen, dass die enterale Supplementierung der Ernährung Frühgeborener (GA < 28 Wochen) mit 100 mg/kg/d ARA und 50 mg/kg/d DHA postnatal innerhalb der ersten 28 Tage das Risiko für eine schwere ROP (Stadium 3 und/oder Typ 1) um 50 % senkte (Hellström et al., 2021a). Zum anderen war das geringere Risiko für die Erkrankung einer schweren ROP nur dann reduziert, wenn zusätzlich zu den höheren DHA-Serumspiegeln die Frühgeborenen auch ausreichend hohe ARA-Serumspiegel vorwiesen (Hellström et al., 2021b).

Etlliche Studien ergaben, dass die Supplementierung der Ernährung Neugeborener mit DHA in Kombination mit ausreichend ARA (in dieser Studie im Verhältnis 1:1 ARA:DHA) zu einem verbesserten Zuwachs des Kopfumfanges führt, was Ausdruck sein könnte für den gleichzeitigen Zuwachs des Gehirnvolumens und die Entwicklung des zentralen Nervensystems (van de Lagemaat et al., 2011), sowie bei einem ARA:DHA-Verhältnis von 2:1 zu verbesserten kognitiven Funktionen (Birch et al., 2000) und zu einer verbesserten Sehschärfe (Birch et al., 2010) führt.

Im Widerspruch zu den aktuellen gesetzlichen Vorgaben steht die Empfehlung der ESPGHAN. Diese hält eine ARA-Untergrenze für notwendig und empfiehlt eine ARA-

Zufuhr von 30-100 mg/kg/d und DHA-Zufuhr von 30-65 mg/kg/d (Embleton et al., 2023). Schon 2013 legte auch die EFSA fest, dass Neugeborene bis ins Alter von 6 Monaten einen täglichen Bedarf von 140 mg ARA und 100 mg DHA haben (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies, 2013). Daher schrieb eine Gruppe internationaler Ernährungs-Spezialisten folgende Stellungnahme zur Gesetzgebung aus 2016: „In Übereinstimmung mit der Europäischen Akademie für Pädiatrie empfiehlt die Ernährungskommission, Säuglingsanfangs- und Folgenahrung zu verwenden, die sowohl DHA als auch mindestens die gleiche Menge ARA enthalten, solange zu Eignung und Sicherheit einer anders gearteten Zusammensetzung keine überzeugende Datenlage aus klinischen Studien mit adäquatem Studiendesign und adäquater Fallzahl vorliegt“ (Bührer et al., 2020). Diese Forderung deckt sich mit der Position unserer Arbeitsgruppe zur Ernährung Frühgeborener an der neonatologischen Abteilung des Universitätsklinikum Tübingen, die den Zusatz von ARA und DHA im Verhältnis 1-2:1 ARA:DHA als sinnvoll erachtet (Böckmann et al., 2021).

Obwohl in der Vergangenheit an der Anpassung von Säuglingsformula an die Bedürfnisse Neugeborener gearbeitet wurde, unterscheidet sie sich in der Lipidzusammensetzung von der Muttermilch. Beide genügen, offensichtlich aus den altersinadäquaten Zusammensetzungen ihrer Lipide, nicht den Anforderungen FG, bzw. weichen deutlich von der diaplazentaren Lipidversorgung ab. Unsere Ergebnisse der Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung von subkutanem Fettgewebe, Plasma und Erythrozytenmembranen zeigen, dass davon alle leicht untersuchbaren Kompartimente betroffen sind. Da das „Lipidom“ aller bisher untersuchten Organe in engen Grenzen alters- und gewebespezifisch definiert ist, ergibt sich die Frage, ob seine Derangierung nicht zur beeinträchtigen Organentwicklung und -pathologie beiträgt. Es sind weitere Studien zu den Auswirkungen einer hinreichenden und balancierten ARA- und DHA-Versorgung, und einer Reduzierung der LA-Zufuhr in der Ernährung Frühgeborener notwendig. Solche Veränderungen der Fettsäure-Versorgung könnte günstige Auswirkungen auf die allgemeine körperliche und speziell die neurologische und pulmonale Entwicklung und das Immunsystem haben (Calder, 2003, Sanchez-Mejia et al., 2008, Williams et al., 1989, Innis, 2003, Mitchell et al., 2012).

Eine Schwachstelle dieser Studie ist, dass die Gruppe der Frühgeborenen von männlichen Kindern (Leistenhernien-OP) dominiert ist. Ursache ist die Bindung der Probenacquisition an die OP-Indikation. Zudem gelang es leider nicht, die Körperfettmasse aller Patienten mittels PEA-POD® zu bestimmen, um daraus und aus den ermittelten Lipiddaten die Poolgröße von ARA, DHA und LA zu berechnen. Dem zugrunde lag, dass die Kinder zum großen Teil durchgehend per Monitor überwacht werden mussten, an respiratorische Unterstützungssysteme gebunden waren oder nasogastrale Sonden hatten. Diese Behandlungsmaßnahmen schlossen in einigen Fällen aus, dass die Kinder in die Messkammer des PEA-POD®s gelegt werden konnten. In anderen Fällen konnte die PEA-POD®-Untersuchung aus organisatorischen Gründen nicht durchgeführt werden. Dennoch ist der relative Anteil der Fettsäuren in den Lipiden der Gewebe und Kompartimente ein Repräsentant des Fettsäurestatus der untersuchten und wahrscheinlich auch weiterer, kritischer Organe (Gehirn, Auge, Lunge). Sie vermitteln ein Bild der möglicherweise generalisierten Lipidom-Veränderungen Frühgeborener gegenüber der physiologischen Norm des intrauterinen Wachstums.

Positiv zu bewerten ist hingegen die prospektive Datenerhebung und Probensammlung und verblindete biochemische Analytik mit zuvor verwendeten und etablierten biochemischen Techniken der Gaschromatographie und Tandemmassenspektrometrie.

Reifgeborene haben über mindestens 13 Wochen in utero die Fettsäure ARA und DHA im progredient wachsenden (24 - 40 SSW PMA) Fettgewebe speichern können (Bernhard et al., 2019b), sodass dieses zum Zeitpunkt der Geburt reich an ARA und DHA ist und wenig LA enthält (Crawford et al., 2023). Reifgeborene können daher für die Versorgung der peripheren Gewebe und des zentralen Nervensystems auf ARA- und DHA-Depots im Fettgewebe zurückgreifen, was in den ersten Lebensmonaten eine unbeeinträchtigte Entwicklung der Organe, einschließlich des Gehirns, gewährleistet. Im Vergleich dazu haben Frühgeborene zum errechneten Geburtstermin weniger ARA und DHA und dafür mehr LA im Fettgewebe. Die Veränderungen der Anteile von ARA- und DHA-haltigen PC-Spezies am Gesamt-PC im Fettgewebe sind äquivalent zu denen von Plasma und Erythrozyten. Die Ernährung, die Frühgeborene erhalten, ist reich an LA und enthält wenig ARA und DHA, somit nicht physiologisch und nicht

angepasst an die diaplazentare Versorgung in utero. Sie ist vermutlich die Ursache für diese Fettsäureveränderung zum errechneten Geburtstermin

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Zellmembranen der Organe des menschlichen Körpers, besonders die des neuronalen Gewebes wie Gehirn und Retina, aber auch des Lungenparenchyms und anderer Organe und Zellen sind reich an den LC-PUFA ARA und DHA, die in Glycerophospholipiden acyliert sind. Diese Komponenten sind damit im wesentlichen Strukturbausteine von Organen und gleichzeitig Reservoir für die Freisetzung von Fettsäuren zur Bildung funktionell wichtiger Mediatoren. Neben immunmodulatorischen Funktionen, die ARA-Derivate innehaben, ist ARA und DHA unersetzlich für Zellteilung, Signalübertragung und Gehirnwachstum. Besonders hohe DHA-Anteile finden sich in den Photorezeptorzellen der Retina, außerdem beeinflusst DHA das Lernen und Verhaltensweisen. Ab dem späten zweiten Trimester steigt im mütterlichen Organismus der LC-PUFA-PC-Transport zur Plazenta. Die Plazenta transportiert vorrangig ARA und DHA zum Fetus und hält dabei LA im maternalen Blut zurück (Biomagnifikation), sodass im fetalen subkutanen Fettgewebe ein ARA und DHA-Depot angelegt wird. Diese selektive plazentare Versorgung endet bei Frühgeborenen unphysiologisch früh und wird postnatal durch parenterale oder enterale Ernährung ersetzt. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass postnatal mit der gegenwärtigen Ernährung der ARA- und DHA-Anteil der TG, PC und PE im Fettgewebe, Plasma und in Erythrozytenmembranen innerhalb weniger Tage um 30-50 % sinkt und der LA-Anteil steigt. Daraus folgt, dass das Frühgeborene während seines schnellen Wachstums ab der 24. SSW PMA ARA und DHA nicht ausreichend im Fettgewebe deponieren kann. Da in-utero 90 % von ARA und DHA im Fettgewebe deponiert werden, legt dessen verminderter Gehalt an ARA und DHA bei Frühgeborenen auch eine Minderversorgung der Organe nahe. Dieser Schluss wird durch die Daten von Blutplasma und Erythrozytenmembranen gestützt.

Die Veränderungen des Lipidoms Frühgeborener kann mit der aktuell verfügbaren Ernährung für reife Neugeborene nicht behoben werden. Ebenso sind die verfügbaren oralen Supplemente und Produkte für die parenterale Ernährung Frühgeborener zur Korrektur dieser Veränderungen ungeeignet, da sie sich nicht am selektiven Fettsäure-Transport durch die Plazenta orientieren.

Es ist möglich, dass die schlechtere kognitive Entwicklung Frühgeborener wenigstens teilweise durch inadäquate Ernährung und vielleicht eben auch durch die hier nachgewiesene unphysiologische Versorgung mit Fettsäuren (mit-)verursacht wird.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- AL, M. D., VAN HOUWELINGEN, A. C., KESTER, A. D., HASAART, T. H., DE JONG, A. E. & HORNSTRA, G. 1995. Maternal essential fatty acid patterns during normal pregnancy and their relationship to the neonatal essential fatty acid status. *Br J Nutr*, 74, 55-68.
- ALLEN, M. C. & CAPUTE, A. J. 1989. Neonatal neurodevelopmental examination as a predictor of neuromotor outcome in premature infants. *Pediatrics*, 83, 498-506.
- AMBOSS Die Zelle; Zellorganellen; Lipiddoppelschicht.
- ANCEL, P.-Y., GOFFINET, F., KUHN, P., LANGER, B., MATIS, J., HERNANDORENA, X., CHABANIER, P., JOLY-PEDESPAN, L., LECOMTE, B. & VENDITTELLI, F. 2015. Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study. *JAMA pediatrics*, 169, 230-238.
- ANDREAS, N. J., KAMPMANN, B. & MEHRING LE-DOARE, K. 2015. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev*, 91, 629-35.
- APTE, S. V. & IYENGAR, L. 1972. Composition of the human foetus. *Br J Nutr*, 27, 305-12.
- AYLWARD, G. P. 2002. Cognitive and neuropsychological outcomes: more than IQ scores. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 8, 234-40.
- AZEVEDO, F. A., CARVALHO, L. R., GRINBERG, L. T., FARFEL, J. M., FERRETTI, R. E., LEITE, R. E., FILHO, W. J., LENT, R. & HERCULANO-HOUZEL, S. 2009. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *Journal of Comparative Neurology*, 513, 532-541.
- BALLARD, O. & MORROW, A. L. 2013. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am*, 60, 49-74.
- BARKER, D. J., THORNBURG, K. L., OSMOND, C., KAJANTIE, E. & ERIKSSON, J. G. 2010. The surface area of the placenta and hypertension in the offspring in later life. *The International journal of developmental biology*, 54, 525.
- BAZAN, N. G., REDDY, T. S., BAZAN, H. E. & BIRKLE, D. L. 1986. Metabolism of arachidonic and docosahexaenoic acids in the retina. *Prog Lipid Res*, 25, 595-606.
- BECK, S., WOJDYLA, D., SAY, L., BETRAN, A. P., MERIALDI, M., REQUEJO, J. H., RUBENS, C., MENON, R. & VAN LOOK, P. F. 2010. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bulletin of the world health organization*, 88, 31-38.
- BEHRMAN, R. E. B., A. S. 2007. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*, Washington (DC), Institute of Medicine (US).
- BELFORT, M. B., RIFAS-SHIMAN, S. L., KLEINMAN, K. P., GUTHRIE, L. B., BELLINGER, D. C., TAVERAS, E. M., GILLMAN, M. W. & OKEN, E. 2013. Infant feeding and childhood cognition at ages 3 and 7 years: Effects of breastfeeding duration and exclusivity. *JAMA Pediatr*, 167, 836-44.
- BENASSAYAG, C., RIGOURD, V., MIGNOT, T., HASSID, J., LEROY, M., ROBERT, B., CIVEL, C., GRANGE, G., DALLOT, E. & TANGUY, J. 1999. Does high polyunsaturated free

- fatty acid level at the feto-maternal interface alter steroid hormone message during pregnancy? *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 60, 393-399.
- BERGHAUS, T. M., DEMMELMAIR, H. & KOLETZKO, B. 2000. Essential fatty acids and their long-chain polyunsaturated metabolites in maternal and cord plasma triglycerides during late gestation. *Neonatology*, 77, 96-100.
- BERNARD, J. Y., DE AGOSTINI, M., FORHAN, A., ALFAIATE, T., BONET, M., CHAMPION, V., KAMINSKI, M., DE LAUZON-GUILLAIN, B., CHARLES, M. A. & HEUDE, B. 2013. Breastfeeding duration and cognitive development at 2 and 3 years of age in the EDEN mother-child cohort. *J Pediatr*, 163, 36-42.e1.
- BERNHARD, W. 2014a. Fett-Extraktion für MS.
- BERNHARD, W. 2014b. LIPIDEXTRAKTIONEN/Plasmaextraktion nach Bligh&Dyer.
- BERNHARD, W. 2014c. Plasmaextraktion nach Bligh&Dyer.
- BERNHARD, W., BOCKMANN, K., MAAS, C., MATHES, M., HOVELMANN, J., SHUNOVA, A., HUND, V., SCHLEICHER, E., POETS, C. F. & FRANZ, A. R. 2019a. Combined choline and DHA supplementation: a randomized controlled trial. *Eur J Nutr*.
- BERNHARD, W., MAAS, C., SHUNOVA, A., MATHES, M., BÖCKMANN, K., BLEEKER, C., VEK, J., POETS, C. F., SCHLEICHER, E. & FRANZ, A. R. 2018. Transport of long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm infant plasma is dominated by phosphatidylcholine. *Eur J Nutr*, 57, 2105-2112.
- BERNHARD, W., POETS, C. F. & FRANZ, A. R. 2019b. Choline and choline-related nutrients in regular and preterm infant growth. *Eur J Nutr*, 58, 931-945.
- BERNHARD, W., PYNN, C. J., JAWORSKI, A., RAU, G. A., HOHLFELD, J. M., FREIHORST, J., POETS, C. F., STOLL, D. & POSTLE, A. D. 2004. Mass spectrometric analysis of surfactant metabolism in human volunteers using deuteriated choline. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 170, 54-58.
- BERNHARD, W., RAITH, M., KOCH, V., KUNZE, R., MAAS, C., ABELE, H., POETS, C. F. & FRANZ, A. R. 2014. Plasma phospholipids indicate impaired fatty acid homeostasis in preterm infants. *Eur J Nutr*, 53, 1533-47.
- BERNHARD, W., RAITH, M., KOCH, V., MAAS, C., ABELE, H., POETS, C. F. & FRANZ, A. R. 2016a. Developmental changes in polyunsaturated fetal plasma phospholipids and feto-maternal plasma phospholipid ratios and their association with bronchopulmonary dysplasia. *European Journal of Nutrition*, 55, 2265-2274.
- BERNHARD, W., RAITH, M., KOCH, V., MAAS, C., ABELE, H., POETS, C. F. & FRANZ, A. R. 2016b. Developmental changes in polyunsaturated fetal plasma phospholipids and feto-maternal plasma phospholipid ratios and their association with bronchopulmonary dysplasia. *Eur J Nutr*, 55, 2265-74.
- BEZARD, J., BLOND, J. P., BERNARD, A. & CLOUET, P. 1994. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. *Reprod Nutr Dev*, 34, 539-68.
- BHATIA, H. S., AGRAWAL, R., SHARMA, S., HUO, Y. X., YING, Z. & GOMEZ-PINILLA, F. 2011. Omega-3 fatty acid deficiency during brain maturation reduces neuronal and behavioral plasticity in adulthood. *PLoS One*, 6, e28451.

- BHUTTA, A. T., CLEVES, M. A., CASEY, P. H., CRADOCK, M. M. & ANAND, K. J. 2002. Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. *Jama*, 288, 728-37.
- BIRCH, E. E., CARLSON, S. E., HOFFMAN, D. R., FITZGERALD-GUSTAFSON, K. M., FU, V. L., DROVER, J. R., CASTANEDA, Y. S., MINNS, L., WHEATON, D. K. & MUNDY, D. 2010. The DIAMOND (DHA Intake And Measurement Of Neural Development) Study: a double-masked, randomized controlled clinical trial of the maturation of infant visual acuity as a function of the dietary level of docosahexaenoic acid. *The American journal of clinical nutrition*, 91, 848-859.
- BIRCH, E. E., GARFIELD, S., HOFFMAN, D. R., UAUY, R. & BIRCH, D. G. 2000. A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Developmental medicine and child neurology*, 42, 174-181.
- BLASBALG, T. L., HIBBELN, J. R., RAMSDEN, C. E., MAJCHRZAK, S. F. & RAWLINGS, R. R. 2011. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. *Am J Clin Nutr*, 93, 950-62.
- BLENOWE, H., COUSENS, S., CHOU, D., OESTERGAARD, M., SAY, L., MOLLER, A., KINNEY, M. & LAWN, J. 2012. Chapter 2: 15 million preterm births: Priorities for action based on national, regional and global estimates. *Born too soon: The global action report on preterm birth*.
- BLIGH, E. G. & DYER, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37, 911-917.
- BÖCKMANN, K. A., VON STUMPF, A., BERNHARD, W., SHUNOVA, A., MINARSKI, M., FRISCHE, B., WARMANN, S., SCHLEICHER, E., POETS, C. F. & FRANZ, A. R. 2021. Fatty acid composition of adipose tissue at term indicates deficiency of arachidonic and docosahexaenoic acid and excessive linoleic acid supply in preterm infants. *Eur J Nutr*, 60, 861-872.
- BONDI, C. O., TAHA, A. Y., TOCK, J. L., TOTAH, N. K., CHEON, Y., TORRES, G. E., RAPOPORT, S. I. & MOGHADDAM, B. 2014. Adolescent behavior and dopamine availability are uniquely sensitive to dietary omega-3 fatty acid deficiency. *Biol Psychiatry*, 75, 38-46.
- BOURRE, J. M., FRANCOIS, M., YOUYOU, A., DUMONT, O., PICIOTTI, M., PASCAL, G. & DURAND, G. 1989. The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr*, 119, 1880-92.
- BRENNAN, J. T., VARAMINI, B., JENSEN, R. G., DIERSEN-SCHADE, D. A., BOETTCHER, J. A. & ARTERBURN, L. M. 2007a. Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast milk worldwide. *The American journal of clinical nutrition*, 85, 1457-1464.
- BRENNAN, J. T., VARAMINI, B., JENSEN, R. G., DIERSEN-SCHADE, D. A., BOETTCHER, J. A. & ARTERBURN, L. M. 2007b. Docosahexaenoic and arachidonic acid concentrations in human breast milk worldwide. *Am J Clin Nutr*, 85, 1457-64.

- BUCK, G. M., MSALL, M. E., SCHISTERMAN, E. F., LYON, N. R. & ROGERS, B. T. 2000. Extreme prematurity and school outcomes. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 14, 324-31.
- BÜHRER, C., ENSENAUER, R., JOCHUM, F., KALHOFF, H., KÖRNER, A., KOLETZKO, B., LAWRENZ, B., MIHATSCH, W., RUDLOFF, S., ZIMMER, K.-P., BÜHRER, C., ENSENAUER, R., JOCHUM, F., LAWRENZ, B., KÖRNER, A., KOLETZKO, B., MIHATSCH, W., RUDLOFF, S., ZIMMER, K.-P. & ERNÄHRUNGSKOMMISSION DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR KINDER- UND, J. 2020. Sollen Säuglingsnahrungen sowohl Docosahexaensäure als auch Arachidonsäure enthalten? *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 168, 536-540.
- BUSH, R. A., MALNOË, A., REMÉ, C. E. & WILLIAMS, T. P. 1994. Dietary deficiency of N-3 fatty acids alters rhodopsin content and function in the rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 35, 91-100.
- BUTTE, N. F. 2000. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 71, 1256S-61S.
- CALDER, P. C. 2003. N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic. *Lipids*, 38, 343-52.
- CALDER, P. C. 2006. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*, 83, 1505s-1519s.
- CALKINS, K. L., PUDER, M. & GURA, K. The evolving use of intravenous lipid emulsions in the neonatal intensive care unit. *Seminars in perinatology*, 2019. Elsevier, 151155.
- CALLAGHAN, W. M., MACDORMAN, M. F., RASMUSSEN, S. A., QIN, C. & LACKRITZ, E. M. 2006. The Contribution of Preterm Birth to Infant Mortality Rates in the United States. *Pediatrics*, 118, 1566-1573.
- CARLSON, S. E. 1996. Arachidonic acid status of human infants: influence of gestational age at birth and diets with very long chain n-3 and n-6 fatty acids. *The Journal of nutrition*, 126, 1092S-1098S.
- CARNIELLI, V. P., WATTIMENA, D. J., LUIJENDIJK, I. H., BOERLAGE, A., DEGENHART, H. J. & SAUER, P. J. 1996. The very low birth weight premature infant is capable of synthesizing arachidonic and docosahexaenoic acids from linoleic and linolenic acids. *Pediatric research*, 40, 169-174.
- CASARES, D., ESCRIBÁ, P. V. & ROSSELLÓ, C. A. 2019. Membrane Lipid Composition: Effect on Membrane and Organelle Structure, Function and Compartmentalization and Therapeutic Avenues. *Int J Mol Sci*, 20.
- CHAMBAZ, J., RAVEL, D., MANIER, M. C., PEPIN, D., MULLIEZ, N. & BEREZIAT, G. 1985. Essential fatty acids interconversion in the human fetal liver. *Biol Neonate*, 47, 136-40.
- CHAWANPAIBOON, S., VOGEL, J. P., MOLLER, A. B., LUMBIGANON, P., PETZOLD, M., HOGAN, D., LANDOULSI, S., JAMPATHONG, N., KONGWATTANAKUL, K., LAOPAIBOON, M., LEWIS, C., RATTANAKANOKCHAI, S., TENG, D. N., THINKHAMROP, J., WATANANIRUN, K., ZHANG, J., ZHOU, W. & GÜLMEZOGLU, A. M. 2019. Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Glob Health*, 7, e37-e46.

- CHRISTIE, W. W. 2019. A Beginner's Guid to Mass Spectrometry of Fatty Acids.
- CLANDININ, M., CHAPPELL, J., HEIM, T., SWYER, P. & CHANCE, G. 1981a. Fatty acid utilization in perinatal de novo synthesis of tissues. *Early human development*, 5, 355-366.
- CLANDININ, M., CHAPPELL, J., LEONG, S., HEIM, T., SWYER, P. & CHANCE, G. 1980. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. *Early human development*, 4, 121-129.
- CLANDININ, M. T., CHAPPELL, J. E., HEIM, T., SWYER, P. R. & CHANCE, G. W. 1981b. Fatty acid utilization in perinatal de novo synthesis of tissues. *Early Hum Dev*, 5, 355-66.
- COLLABORATION, A., AAD, G., ABBOTT, B., ABDALLAH, J., ABDELALIM, A. A., ABDESSELAM, A., ABDINOV, O., ABI, B., ABOLINS, M., ABOUZEID, O. S., ABRAMOWICZ, H., ABREU, H., ACERBI, E., ACHARYA, B. S., ADAMCZYK, L., ADAMS, D. L., ADDY, T. N., ADELMAN, J., ADERHOLZ, M., ADOMEIT, S., ADRAGNA, P., ADYE, T., AEFSKY, S., AGUILAR-SAAVEDRA, J. A., AHARROUCHE, M., AHLEN, S. P., AHLES, F., AHMAD, A., AHSAN, M., AIELLI, G., AKDOGAN, T., AKESSON, T. P., AKIMOTO, G., AKIMOV, A. V., AKIYAMA, A., ALAM, M. S., ALAM, M. A., ALBERT, J., ALBRAND, S., ALEKSA, M., ALEKSANDROV, I. N., ALESSANDRIA, F., ALEXA, C., ALEXANDER, G., ALEXANDRE, G., ALEXOPOULOS, T., ALHROOB, M., ALIEV, M., ALIMONTI, G., ALISON, J., ALIYEV, M., ALLBROOKE, B. M., ALLPORT, P. P., ALLWOOD-SPIERS, S. E., ALMOND, J., ALOISIO, A., ALON, R., ALONSO, A., ALVAREZ GONZALEZ, B., ALVIGGI, M. G., AMAKO, K., AMARAL, P., AMELUNG, C., AMMOSOV, V. V., AMORIM, A., AMOROS, G., AMRAM, N., ANASTOPOULOS, C., ANCU, L. S., ANDARI, N., ANDEEN, T., ANDERS, C. F., ANDERS, G., ANDERSON, K. J., ANDREAZZA, A., ANDREI, V., ANDRIEUX, M. L., ANDUAGA, X. S., ANGERAMI, A., ANGHINOLFI, F., ANISENKOV, A., ANJOS, N., ANNOVI, A., ANTONAKI, A., ANTONELLI, M., ANTONOV, A., ANTOS, J., ANULLI, F., AOUN, S., APERIO BELLA, L., APOLLE, R., ARABIDZE, G., ARACENA, I., ARAI, Y., ARCE, A. T., ARFAOUI, S., ARGUIN, J. F., ARIK, E., ARIK, M., ARMBRUSTER, A. J., et al. 2012. Measurement of the top quark mass with the template method in the [Formula: see text] channel using ATLAS data. *Eur Phys J C Part Fields*, 72, 2046.
- CONTARINI, G. & POVOLO, M. 2013. Phospholipids in milk fat: composition, biological and technological significance, and analytical strategies. *Int J Mol Sci*, 14, 2808-31.
- CRAWFORD, M. A. & BROADHURST, C. L. 2012. The role of docosahexaenoic and the marine food web as determinants of evolution and hominid brain development: the challenge for human sustainability. *Nutr Health*, 21, 17-39.
- CRAWFORD, M. A. & SINCLAIR, A. J. 1971. Nutritional influences in the evolution of mammalian brain. In: lipids, malnutrition & the developing brain. *Ciba Found Symp*, 267-92.
- CRAWFORD, M. A., SINCLAIR, A. J., HALL, B., OGUINDIPE, E., WANG, Y., BITSANIS, D., DJAHANBAKHCH, O. B., HARBIGE, L., GHEBREMESKEL, K., GOLFETTO, I., MOODLEY, T., HASSAM, A., SASSINE, A. & JOHNSON, M. R. 2023. The

- imperative of arachidonic acid in early human development. *Progress in Lipid Research*, 91, 101222.
- DANIELS, J. L., LONGNECKER, M. P., ROWLAND, A. S., GOLDING, J. & HEALTH, A. S. T. U. O. B. I. O. C. 2004. Fish intake during pregnancy and early cognitive development of offspring. *Epidemiology*, 15, 394-402.
- DAS, U. N. 2006. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 1, 420-439.
- DAWSON, G. 2015. Measuring brain lipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851, 1026-1039.
- DEETH, H. 1997. The role of phospholipids in the stability of milk fat globules. *Australian Journal of Dairy Technology*, 52.
- DEL PRADO, M., VILLALPANDO, S., ELIZONDO, A., RODRIGUEZ, M., DEMMELMAIR, H. & KOLETZKO, B. 2001. Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. *Am J Clin Nutr*, 74, 242-7.
- DEMAR, J. C., JR., MA, K., BELL, J. M., IGARASHI, M., GREENSTEIN, D. & RAPOPORT, S. I. 2006. One generation of n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation increases depression and aggression test scores in rats. *J Lipid Res*, 47, 172-80.
- DIAU, G.-Y., HSIEH, A. T., SARKADI-NAGY, E. A., WIJENDRAN, V., NATHANIELSZ, P. W. & BRENNAN, J. T. 2005. The influence of long chain polyunsaturate supplementation on docosahexaenoic acid and arachidonic acid in baboon neonate central nervous system. *BMC medicine*, 3, 1-12.
- DOGRA, M. R., KATOCH, D. & DOGRA, M. 2017. An Update on Retinopathy of Prematurity (ROP). *The Indian Journal of Pediatrics*, 84, 930-936.
- DOMENICHELLO, A. F., CHEN, C. T., TREPANIER, M. O., STAVRO, P. M. & BAZINET, R. P. 2014. Whole body synthesis rates of DHA from alpha-linolenic acid are greater than brain DHA accretion and uptake rates in adult rats. *J Lipid Res*, 55, 62-74.
- DOYLE, L. W. & ANDERSON, P. J. 2005. Improved neurosensory outcome at 8 years of age of extremely low birthweight children born in Victoria over three distinct eras. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 90, F484-8.
- DOYLE, L. W. & ANDERSON, P. J. Long-term outcomes of bronchopulmonary dysplasia. *Seminars in fetal and neonatal medicine*, 2009. Elsevier, 391-395.
- DUTTARROY, A. K. 2009. Transport of fatty acids across the human placenta: a review. *Progress in lipid research*, 48, 52-61.
- DUTTARROY, A. K. & BASAK, S. 2021. Maternal Fatty Acid Metabolism in Pregnancy and Its Consequences in the Feto-Placental Development. *Front Physiol*, 12, 787848.
- EFSA PANEL ON DIETETIC PRODUCTS, N. & ALLERGIES 2010. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to docosahexaenoic acid (DHA) and maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 533, 691, 3150), protection of blood lipids from oxidative damage (ID 630), contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight (ID 629), brain, eye and nerve development (ID 627, 689, 704, 742, 3148, 3151), maintenance of normal brain function (ID 565, 626, 631, 689, 690, 704, 742, 3148, 3151), maintenance of normal vision (ID 627, 632, 743, 3149) and maintenance of normal spermatozoa motility (ID 628) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 8, 1734.

- EFSA PANEL ON DIETETIC PRODUCTS, N. & ALLERGIES 2013. Scientific Opinion on nutrient requirements and dietary intakes of infants and young children in the European Union. *EFSA Journal*, 11, 3408.
- EMBLETON, N. D., MOLTU, S. J., LAPILLONNE, A., VAN DEN AKKER, C. H., CARNIELLI, V., FUSCH, C., GERASIMIDIS, K., VAN GOUDOEVER, J. B., HAIDEN, N. & IACOBELLI, S. 2023. Enteral nutrition in preterm infants (2022): a position paper from the ESPGHAN committee on nutrition and invited experts. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 76, 248-268.
- EU 2006. Commission Directive 2006/141/EC of 22 December 2006 on infant formulae and follow-on formulae and amending Directive 1999/21/EC. *Official Journal of the European Union*, 49, 1-33.
- EU 2016. Commission Delegated Regulation (EU) 2016/127 of 25 September 2015 supplementing Regulation (EU) No 609/2013 of the European Parliament and of the Council as regards the specific compositional and information requirements for infant formula and follow-on formula and as regards requirements on information relating to infant and young child feeding. *Off J Eur Union*, 50, 1.
- FAHY, E., COTTER, D., SUD, M. & SUBRAMANIAM, S. 2011. Lipid classification, structures and tools. *Biochim Biophys Acta*, 1811, 637-47.
- FAKTOR, J., DVORAKOVA, M., MARYAS, J., PROCHÁZKOVÁ, I. & BOUCHAL, P. 2012. Identification and characterisation of pro-metastatic targets, pathways and molecular complexes using a toolbox of proteomic technologies. *Klinická onkologie : casopis České a Slovenské onkologické společnosti*, 25 Suppl 2, 2S70-7.
- FARQUHARSON, J., COCKBURN, F., PATRICK, W. A., JAMIESON, E. C. & LOGAN, R. W. 1993. Effect of diet on infant subcutaneous tissue triglyceride fatty acids. *Arch Dis Child*, 69, 589-93.
- FIDLER, N., SAUERWALD, T., POHL, A., DEMMELMAIR, H. & KOLETZKO, B. 2000. Docosahexaenoic acid transfer into human milk after dietary supplementation: a randomized clinical trial. *J Lipid Res*, 41, 1376-83.
- FLIESLER, S. J. & ANDERSON, R. E. 1983. Chemistry and metabolism of lipids in the vertebrate retina. *Prog Lipid Res*, 22, 79-131.
- FLORIS, L. M., STAHL, B., ABRAHAMSE-BERKEVELD, M. & TELLER, I. C. 2020. Human milk fatty acid profile across lactational stages after term and preterm delivery: A pooled data analysis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 156, 102023.
- FRANCÈS, H., MONIER, C. & BOURRE, J. M. 1995. Effects of dietary alpha-linolenic acid deficiency on neuromuscular and cognitive functions in mice. *Life Sci*, 57, 1935-47.
- FRAYN, K. N. 2009. *Metabolic regulation: a human perspective*, John Wiley & Sons.
- FRAZER, L. C. & MARTIN, C. R. 2021. Parenteral lipid emulsions in the preterm infant: current issues and controversies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*.
- FRESENIUS, K. 2015. Omegaven-Fresenius Emulsion zur Infusion (package insert).
- FRESENIUS, K. 2019. SMOFlipid 200 mg/ml Emulsion zur Infusion (Package insert). *U.S. Food and Drug Administration website*.

- FROST, B. L., PATEL, A. L., ROBINSON, D. T., BERSETH, C. L., COOPER, T. & CAPLAN, M. 2021. Randomized controlled trial of early docosahexaenoic acid and arachidonic acid enteral supplementation in very low birth weight infants. *The Journal of Pediatrics*, 232, 23-30. e1.
- FU, Z. & SINCLAIR, A. J. 2000. Increased alpha-linolenic acid intake increases tissue alpha-linolenic acid content and apparent oxidation with little effect on tissue docosahexaenoic acid in the guinea pig. *Lipids*, 35, 395-400.
- FUKAYA, T., GONDAIRA, T., KASHIYAE, Y., KOTANI, S., ISHIKURA, Y., FUJIKAWA, S., KISO, Y. & SAKAKIBARA, M. 2007. Arachidonic acid preserves hippocampal neuron membrane fluidity in senescent rats. *Neurobiol Aging*, 28, 1179-86.
- GALKINA, O. V., VETROVOY, O. V. & ESCHENKO, N. D. 2021. The Role of Lipids in Implementing Specific Functions in the Central Nervous System. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 47, 1004-1013.
- GAYNON, M. W. & STEVENSON, D. K. 2000. What can We learn from STOP-ROP and earlier studies? *Pediatrics*, 105, 420-1.
- GIBELLINI, F. & SMITH, T. K. 2010. The Kennedy pathway--De novo synthesis of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. *IUBMB Life*, 62, 414-28.
- GOULD, J. F., MAKRIDES, M., GIBSON, R. A., SULLIVAN, T. R., MCPHEE, A. J., ANDERSON, P. J., BEST, K. P., SHARP, M., CHEONG, J. L. & OPIE, G. F. 2022. Neonatal docosahexaenoic acid in preterm infants and intelligence at 5 years. *New England Journal of Medicine*, 387, 1579-1588.
- GOYEN, T. A., LUI, K. & WOODS, R. 1998. Visual-motor, visual-perceptual, and fine motor outcomes in very-low-birthweight children at 5 years. *Dev Med Child Neurol*, 40, 76-81.
- GROSS, J. H. 2019a. Chromatographie-Massenspektrometrie-Kopplung. *Massenspektrometrie: Spektroskopiekurs kompakt*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- GROSS, J. H. 2019b. Ionisationsmethoden. *Massenspektrometrie: Spektroskopiekurs kompakt*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- GROSS, J. H. 2019c. Massenanalysatoren. *Massenspektrometrie: Spektroskopiekurs kompakt*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- GROSS, J. H. 2019d. Tandem-Massenspektrometrie. *Massenspektrometrie: Spektroskopiekurs kompakt*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- GROSS, S. J., METTELMAN, B. B., DYE, T. D. & SLAGLE, T. A. 2001. Impact of family structure and stability on academic outcome in preterm children at 10 years of age. *J Pediatr*, 138, 169-75.
- GROTE, V., VERDUCI, E., SCAGLIONI, S., VECCHI, F., CONTARINI, G., GIOVANNINI, M., KOLETZKO, B. & AGOSTONI, C. 2016. Breast milk composition and infant nutrient intakes during the first 12 months of life. *Eur J Clin Nutr*, 70, 250-6.
- GROTHER, J., RIETHMÜLLER, J., TSCHÜRTZ, S. M., RAITH, M., PYNN, C. J., STOLL, D. & BERNHARD, W. 2015. Plasma phosphatidylcholine alterations in cystic fibrosis patients: impaired metabolism and correlation with lung function and inflammation. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 35, 1437-1453.

- GRUNAU, R. E., WHITFIELD, M. F. & DAVIS, C. 2002. Pattern of learning disabilities in children with extremely low birth weight and broadly average intelligence. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 156, 615-20.
- HACHEM, M., GÉLOËN, A., VAN, A. L., FOUMAUX, B., FENART, L., GOSSELET, F., DA SILVA, P., BRETON, G., LAGARDE, M., PICQ, M. & BERNOUD-HUBAC, N. 2016. Efficient Docosahexaenoic Acid Uptake by the Brain from a Structured Phospholipid. *Mol Neurobiol*, 53, 3205-3215.
- HADLEY, K. B., RYAN, A. S., FORSYTH, S., GAUTIER, S. & SALEM, N. 2016. The Essentiality of Arachidonic Acid in Infant Development. *Nutrients*, 8.
- HAGGARTY, P. 2004. Effect of placental function on fatty acid requirements during pregnancy. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58, 1559-1570.
- HAGGARTY, P. 2010. Fatty acid supply to the human fetus. *Annu Rev Nutr*, 30, 237-55.
- HALSEY, C. L., COLLIN, M. F. & ANDERSON, C. L. 1996. Extremely low-birth-weight children and their peers. A comparison of school-age outcomes. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 150, 790-4.
- HAUSER, K. 2012. Duale Reihe Biochemie. 3, 329-331.
- HAYES, J., DON, FEOLA, D. J., MURPHY, B. S., SHOOK, L. A. & BALLARD, H. O. 2010. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Respiration*, 79, 425-436.
- HELLSTRÖM, A., NILSSON, A. K., WACKERNAGEL, D., PIVODIC, A., VANPEE, M., SJÖBOM, U., HELLGREN, G., HALLBERG, B., DOMELLÖF, M., KLEVEBRO, S., HELSTRÖM, W., ANDERSSON, M., LUND, A. M., LÖFQVIST, C., ELFVIN, A., SÄVMAN, K., HANSEN-PUPP, I., HÅRD, A. L., SMITH, L. E. H. & LEY, D. 2021a. Effect of Enteral Lipid Supplement on Severe Retinopathy of Prematurity: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr*, 175, 359-367.
- HELLSTRÖM, A., PIVODIC, A., GRÄNSE, L., LUNDGREN, P., SJÖBOM, U., NILSSON, A. K., SÖDERLING, H., HÅRD, A. L., SMITH, L. E. H. & LÖFQVIST, C. A. 2021b. Association of Docosahexaenoic Acid and Arachidonic Acid Serum Levels With Retinopathy of Prematurity in Preterm Infants. *JAMA Netw Open*, 4, e2128771.
- HERCULANO-HOUZEL, S. 2009. The human brain in numbers: a linearly scaled-up primate brain. *Front Hum Neurosci*, 3, 31.
- HERRERA, E. 2000. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. *Eur J Clin Nutr*, 54 Suppl 1, S47-51.
- HERRERA, E., LASUNCION, M. A., GOMEZ-CORONADO, D., ARANDA, P., LOPEZ-LUNA, P. & MAIER, I. 1988. Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and the fate of circulating triglycerides in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 158, 1575-83.
- HERRERA, O. R., CAVINESS, L. A. & HELMS, R. A. 2019. Emergence of new injectable lipid emulsions in the USA: guidance for pediatric clinicians. *Food and Nutrition Sciences*, 10, 823.
- HEWAWASAM, E., COLLINS, C. T., MUHLHAUSLER, B. S., YELLAND, L. N., SMITHERS, L. G., COLOMBO, J., MAKRIDES, M., MCPHEE, A. J. & GOULD, J. F. 2021. DHA supplementation in infants born preterm and the effect on attention at 18 months' corrected age: follow-up of a subset of the N3RO randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 125, 420-431.

- HIBBELN, J. R., NIEMINEN, L. R. & LANDS, W. E. 2004. Increasing homicide rates and linoleic acid consumption among five Western countries, 1961-2000. *Lipids*, 39, 1207-13.
- HOVING, E. B., VAN BEUSEKOM, C. M., NIJEBOER, H. J. & MUSKIET, F. A. 1994. Gestational age dependency of essential fatty acids in cord plasma cholesterol esters and triglycerides. *Pediatr Res*, 35, 461-9.
- HUDDY, C. L., JOHNSON, A. & HOPE, P. L. 2001. Educational and behavioural problems in babies of 32-35 weeks gestation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 85, F23-8.
- HYTTEN, F. 1991. Weight gain in pregnancy. *Clinical physiology in obstetrics*, 173-203.
- INNES, J. K. & CALDER, P. C. 2018. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 132, 41-48.
- INNIS, S. M. 2003. Perinatal biochemistry and physiology of long chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr*, 143, S1-8.
- INNIS, S. M. 2005. Essential fatty acid transfer and fetal development. *Placenta*, 26 Suppl A, S70-5.
- INNIS, S. M. 2014. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. *The American journal of clinical nutrition*, 99, 734S-741S.
- INTRALIPID, K. F. I. P. I. 2015. U.S. Food and Drug Administration website.
- IQTIG, I. 2020. Bundesauswertung zum Erfassungsjahr 2020. *Verfügbar unter: https://iqtiq.org/downloads/auswertung/2020/16n1gebh/QSKH_16n1-GEBH_2020_BUAW_V01_2021-08-10.pdf#page=84.66 aufgerufen am 30.12.2024.*
- JASTRZEBSKA, B., DEBINSKI, A., FILIPEK, S. & PALCZEWSKI, K. 2011. Role of membrane integrity on G protein-coupled receptors: Rhodopsin stability and function. *Prog Lipid Res*, 50, 267-77.
- JAUNIAUX, E., HEMPSTOCK, J., GREENWOLD, N. & BURTON, G. J. 2003. Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies. *Am J Pathol*, 162, 115-25.
- JOBE, A. H. & BANCALARI, E. 2001. Bronchopulmonary dysplasia. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 163, 1723-1729.
- KAKUTANI, S., ISHIKURA, Y., TATEISHI, N., HORIKAWA, C., TOKUDA, H., KONTANI, M., KAWASHIMA, H., SAKAKIBARA, Y., KISO, Y. & SHIBATA, H. 2011. Supplementation of arachidonic acid-enriched oil increases arachidonic acid contents in plasma phospholipids, but does not increase their metabolites and clinical parameters in Japanese healthy elderly individuals: a randomized controlled study. *Lipids in health and disease*, 10, 1-12.
- KAMINO, D., STUDHOLME, C., LIU, M., CHAU, V., MILLER, S. P., SYNNESE, A., ROGERS, E. E., BARKOVICH, A. J., FERRIERO, D. M. & BRANT, R. 2018. Postnatal polyunsaturated fatty acids associated with larger preterm brain tissue volumes and better outcomes. *Pediatric research*, 83, 93-101.
- KAMP, F., ZAKIM, D., ZHANG, F., NOY, N. & HAMILTON, J. A. 1995. Fatty acid flip-flop in phospholipid bilayers is extremely fast. *Biochemistry*, 34, 11928-37.

- KATSUKI, H. & OKUDA, S. 1995. Arachidonic acid as a neurotoxic and neurotrophic substance. *Prog Neurobiol*, 46, 607-36.
- KAUFMANN, P. 1992. Placental development. *Maternal-fetal physiology*, 47-55.
- KELLEY, D. S., TAYLOR, P. C., NELSON, G. J. & MACKEY, B. E. 1998. Arachidonic acid supplementation enhances synthesis of eicosanoids without suppressing immune functions in young healthy men. *Lipids*, 33, 125-130.
- KOLETZKO, B. 2016. Human Milk Lipids. *Ann Nutr Metab*, 69 Suppl 2, 28-40.
- KOLETZKO, B., BERGMANN, K., BRENNAN, J. T., CALDER, P. C., CAMPOY, C., CLANDININ, M. T., COLOMBO, J., DALY, M., DECSI, T. & DEMMELMAIR, H. 2020. Should formula for infants provide arachidonic acid along with DHA? A position paper of the European Academy of Paediatrics and the Child Health Foundation. *The American journal of clinical nutrition*, 111, 10-16.
- KOLETZKO, B., MROTZEK, M. & BREMER, H. J. 1988. Fatty acid composition of mature human milk in Germany. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 47, 954-959.
- KOLETZKO, B., RODRIGUEZ-PALMERO, M., DEMMELMAIR, H., FIDLER, N., JENSEN, R. & SAUERWALD, T. 2001. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Human Development*, 65, S3-S18.
- KURSUM, O., KARATAS, H., BARISKANER, H. & OZTURK, S. 2022. Arachidonic acid metabolites in neurologic disorders. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 21, 150-159.
- LACOMBE, R. J. S., CHOUINARD-WATKINS, R. & BAZINET, R. P. 2018. Brain docosahexaenoic acid uptake and metabolism. *Mol Aspects Med*, 64, 109-134.
- LANDS, W., INOUE, M., SUGIURA, Y. & OKUYAMA, H. 1982. Selective incorporation of polyunsaturated fatty acids into phosphatidylcholine by rat liver microsomes. *Journal of Biological Chemistry*, 257, 14968-14972.
- LAPILLONNE, A. & JENSEN, C. L. 2009a. Reevaluation of the DHA requirement for the premature infant. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 81, 143-50.
- LAPILLONNE, A. & JENSEN, C. L. 2009b. Reevaluation of the DHA requirement for the premature infant. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81, 143-150.
- LAURITZEN, L., HANSEN, H. S., JORGENSEN, M. H. & MICHAELSEN, K. F. 2001. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog Lipid Res*, 40, 1-94.
- LEAF, A. A., LEIGHFIELD, M. J., COSTELOE, K. L. & CRAWFORD, M. A. 1992. Factors affecting long-chain polyunsaturated fatty acid composition of plasma choline phosphoglycerides in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 14, 300-8.
- LEAF, D. A., CONNOR, W. E., BARSTAD, L. & SEXTON, G. 1995. Incorporation of dietary n-3 fatty acids into the fatty acids of human adipose tissue and plasma lipid classes. *The American journal of clinical nutrition*, 62, 68-73.
- LEE, A. C., KATZ, J., BLENCOWE, H., COUSENS, S., KOZUKI, N., VOGEL, J. P., ADAIR, L., BAQUI, A. H., BHUTTA, Z. A., CAULFIELD, L. E., CHRISTIAN, P., CLARKE, S. E., EZZATI, M., FAWZI, W., GONZALEZ, R., HUYBREGTS, L., KARIUKI, S., KOLSTEREN, P., LUSINGU, J., MARCHANT, T., MERIALDI, M., MONGKOLCHATI, A., MULLANY, L. C., NDIRANGU, J., NEWELL, M. L., NIEN, J. K., OSRIN, D., ROBERFROID, D.,

- ROSEN, H. E., SANIA, A., SILVEIRA, M. F., TIELSCH, J., VAIDYA, A., WILLEY, B. A., LAWN, J. E. & BLACK, R. E. 2013. National and regional estimates of term and preterm babies born small for gestational age in 138 low-income and middle-income countries in 2010. *Lancet Glob Health*, 1, e26-36.
- LEE, E. J., SIMMER, K. & GIBSON, R. A. 1993. Essential fatty acid deficiency in parenterally fed preterm infants. *J Paediatr Child Health*, 29, 51-5.
- LEFEBVRE, F., GLORIEUX, J. & ST-LAURENT-GAGNON, T. 1996. Neonatal survival and disability rate at age 18 months for infants born between 23 and 28 weeks of gestation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 174, 833-838.
- LEFEBVRE, F., MAZURIER, E. & TESSIER, R. 2005. Cognitive and educational outcomes in early adulthood for infants weighing 1000 grams or less at birth. *Acta Paediatr*, 94, 733-40.
- LENT, R., AZEVEDO, F. A., ANDRADE-MORAES, C. H. & PINTO, A. V. 2012. How many neurons do you have? Some dogmas of quantitative neuroscience under revision. *European Journal of Neuroscience*, 35, 1-9.
- LEPPING, R. J., HONEA, R. A., MARTIN, L. E., LIAO, K., CHOI, I. Y., LEE, P., PAPA, V. B., BROOKS, W. M., SHADDY, D. J. & CARLSON, S. E. 2019. Long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in the first year of life affects brain function, structure, and metabolism at age nine years. *Developmental psychobiology*, 61, 5-16.
- LIM, S. Y., HOSHIBA, J., MORIGUCHI, T. & SALEM, N., JR. 2005a. N-3 fatty acid deficiency induced by a modified artificial rearing method leads to poorer performance in spatial learning tasks. *Pediatr Res*, 58, 741-8.
- LIM, S. Y., HOSHIBA, J. & SALEM, N., JR. 2005b. An extraordinary degree of structural specificity is required in neural phospholipids for optimal brain function: n-6 docosapentaenoic acid substitution for docosahexaenoic acid leads to a loss in spatial task performance. *J Neurochem*, 95, 848-57.
- LÖFFLER, G. 2007. *Biochemie und Pathobiochemie*, Heidelberg, Springer Medizin Verlag.
- LÖFQVIST, C. A., NAJM, S., HELLGREN, G., ENGSTRÖM, E., SÄVMAN, K., NILSSON, A. K., ANDERSSON, M. X., HÅRD, A.-L., SMITH, L. E. & HELLSTRÖM, A. 2018. Association of retinopathy of prematurity with low levels of arachidonic acid: a secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA ophthalmology*, 136, 271-277.
- LUBY, J. L., BELDEN, A. C., WHALEN, D., HARMS, M. P. & BARCH, D. M. 2016. Breastfeeding and childhood IQ: the mediating role of gray matter volume. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 55, 367-375.
- LUCAS, A., MORLEY, R., COLE, T. J., LISTER, G. & LEESON-PAYNE, C. 1992. Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet*, 339, 261-4.
- M, I. S. 2005. Essential Fatty Acid Transfer and Fetal Development. *Placenta*, 26, S70-75.

- MAAS, C., FRANZ, A. R., SHUNOVA, A., MATHES, M., BLEEKER, C., POETS, C. F., SCHLEICHER, E. & BERNHARD, W. 2017a. Choline and polyunsaturated fatty acids in preterm infants' maternal milk. *Eur J Nutr*, 56, 1733-1742.
- MAAS, C., FRANZ, A. R., SHUNOVA, A., MATHES, M., BLEEKER, C., POETS, C. F., SCHLEICHER, E. & BERNHARD, W. 2017b. Choline and polyunsaturated fatty acids in preterm infants' maternal milk. *European Journal of Nutrition*, 56, 1733-1742.
- MADAN, A., JAN, J. E. & GOOD, W. V. 2005. Visual development in preterm infants. *Dev Med Child Neurol*, 47, 276-80.
- MAGNUSSON, A. L., WATERMAN, I. J., WENNERGREN, M., JANSSON, T. & POWELL, T. L. 2004. Triglyceride hydrolase activities and expression of fatty acid binding proteins in the human placenta in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction and diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 4607-14.
- MAGNUSSON-OLSSON, A., HAMARK, B., ERICSSON, A., WENNERGREN, M., JANSSON, T. & POWELL, T. 2006. Gestational and hormonal regulation of human placental lipoprotein lipase. *Journal of lipid research*, 47, 2551-2561.
- MAKRIDES, M., GIBSON, R. A., MCPHEE, A. J., COLLINS, C. T., DAVIS, P. G., DOYLE, L. W., SIMMER, K., COLDITZ, P. B., MORRIS, S. & SMITHERS, L. G. 2009. Neurodevelopmental outcomes of preterm infants fed high-dose docosahexaenoic acid: a randomized controlled trial. *Jama*, 301, 175-182.
- MARTIN, C. R., DASILVA, D. A., CLUETTE-BROWN, J. E., DIMONDA, C., HAMILL, A., BHUTTA, A. Q., CORONEL, E., WILSCHANSKI, M., STEPHENS, A. J. & DRISCOLL, D. F. 2011a. Decreased postnatal docosahexaenoic and arachidonic acid blood levels in premature infants are associated with neonatal morbidities. *The Journal of pediatrics*, 159, 743-749. e2.
- MARTIN, C. R., DASILVA, D. A., CLUETTE-BROWN, J. E., DIMONDA, C., HAMILL, A., BHUTTA, A. Q., CORONEL, E., WILSCHANSKI, M., STEPHENS, A. J., DRISCOLL, D. F., BISTRIAN, B. R., WARE, J. H., ZAMAN, M. M. & FREEDMAN, S. D. 2011b. Decreased postnatal docosahexaenoic and arachidonic acid blood levels in premature infants are associated with neonatal morbidities. *J Pediatr*, 159, 743-749.e1-2.
- MARTIN, C. R., LING, P. R. & BLACKBURN, G. L. 2016. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients*, 8.
- MARTINEZ, M. 1992a. Abnormal profiles of polyunsaturated fatty acids in the brain, liver, kidney and retina of patients with peroxisomal disorders. *Brain Res*, 583, 171-82.
- MARTINEZ, M. 1992b. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *The Journal of Pediatrics*, 120, S129-S138.
- MARTINEZ, M., BALLABRIGA, A. & GIL-GIBERNAU, J. J. 1988. Lipids of the developing human retina. I. Total fatty acids, plasmalogens, and fatty acid composition of ethanolamine and choline phosphoglycerides. *Journal of Neuroscience Research*, 20, 484-490.
- MATTHEWS, T., MACDORMAN, M. & THOMA, M. 2015. Infant mortality statistics from the 2013 period linked birth/infant death data set. National vital statistics reports vol 64. *Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics*.

- MCCARTON, C. M., BROOKS-GUNN, J., WALLACE, I. F., BAUER, C. R., BENNETT, F. C., BERNBAUM, J. C., BROYLES, R. S., CASEY, P. H., MCCORMICK, M. C., SCOTT, D. T., TYSON, J., TONASCIA, J. & MEINERT, C. L. 1997. Results at age 8 years of early intervention for low-birth-weight premature infants. The Infant Health and Development Program. *Jama*, 277, 126-32.
- MCCORMICK, M. C., BROOKS-GUNN, J., WORKMAN-DANIELS, K., TURNER, J. & PECKHAM, G. J. 1992. The health and developmental status of very low-birth-weight children at school age. *Jama*, 267, 2204-8.
- MCDONALD-GIBSON, R. G., YOUNG, M. & HYTTEN, F. E. 1975. Changes in plasma non esterified fatty acids and serum glycerol in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*, 82, 460-6.
- MITCHELL, D. C., NIU, S. L. & LITMAN, B. J. 2012. Quantifying the differential effects of DHA and DPA on the early events in visual signal transduction. *Chem Phys Lipids*, 165, 393-400.
- MORROW-TLUCAK, M., HAUDE, R. H. & ERNHART, C. B. 1988. Breastfeeding and cognitive development in the first 2 years of life. *Soc Sci Med*, 26, 635-9.
- MOSCA, F. & GIANNI, M. L. 2017. Human milk: composition and health benefits. *Pediatr Med Chir*, 39, 155.
- NEURINGER, M., CONNOR, W. E., LIN, D. S., BARSTAD, L. & LUCK, S. 1986. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal omega 3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83, 4021-5.
- NGUYEN, T. 2013. Total number of synapses in the adult human neocortex. *Undergraduate Journal of Mathematical Modeling: One+ Two*, 3, 26.
- O'BRIEN, J. S. & SAMPSON, E. L. 1965a. Fatty acid and fatty aldehyde composition of the major brain lipids in normal human gray matter, white matter, and myelin. *J Lipid Res*, 6, 545-51.
- O'BRIEN, J. S. & SAMPSON, E. L. 1965b. Lipid composition of the normal human brain: gray matter, white matter, and myelin. *Journal of lipid research*, 6, 537-544.
- OGUNDIPE, E., JOHNSON, M. R., WANG, Y. & CRAWFORD, M. A. 2016. Peri-conception maternal lipid profiles predict pregnancy outcomes. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 114, 35-43.
- OMEGAVEN, K. F. O. P. I. 2018. *U.S. Food and Drug Administration website* [Online]. Available: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/0210589s000lbl_edt.pdf [Accessed].
- OTTO, S., HOUWELINGEN, A., ANTAL, M., MANNINEN, A., GODFREY, K., LOPEZ-JARAMILLO, P. & HORNSTRA, G. 1997. Maternal and neonatal essential fatty acid status in phospholipids: an international comparative study. *European journal of clinical nutrition*, 51, 232-242.
- OU, X., ANDRES, A., PIVIK, R., CLEVES, M., SNOW, J., DING, Z. & BADGER, T. 2016. Voxel-based morphometry and fMRI revealed differences in brain gray matter in breastfed and milk formula-fed children. *American Journal of Neuroradiology*, 37, 713-719.
- PALLÁS ALONSO, C. R., DE LA CRUZ BÉRTOLO, J., MEDINA LÓPEZ, M. C., BUSTOS LOZANO, G., DE ALBA ROMERO, C. & SIMÓN DE LAS HERAS, R. 2000. [Age for

- sitting and walking in children born weighing less than 1,500 g and normal motor development at two years of age]. *An Esp Pediatr*, 53, 43-7.
- PATEL, R. M. 2016. Short- and Long-Term Outcomes for Extremely Preterm Infants. *Am J Perinatol*, 33, 318-28.
- PYNN, C. J., HENDERSON, N. G., CLARK, H., KOSTER, G., BERNHARD, W. & POSTLE, A. D. 2011. Specificity and rate of human and mouse liver and plasma phosphatidylcholine synthesis analyzed in vivo [S]. *Journal of lipid research*, 52, 399-407.
- ROBINSON, D. T., CAPLAN, M., CARLSON, S. E., YODER, R., MURTHY, K. & FROST, B. 2016. Early docosahexaenoic and arachidonic acid supplementation in extremely-low-birth-weight infants. *Pediatric research*, 80, 505-510.
- ROBINSON, D. T., CARLSON, S. E., MURTHY, K., FROST, B., LI, S. & CAPLAN, M. 2013. Docosahexaenoic and arachidonic acid levels in extremely low birth weight infants with prolonged exposure to intravenous lipids. *J Pediatr*, 162, 56-61.
- RYCKMAN, K., SPRACKLEN, C., SMITH, C., ROBINSON, J. & SAFTLAS, A. 2015. Maternal lipid levels during pregnancy and gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Bjog: an international journal of obstetrics & gynaecology*, 122, 643-651.
- SAIGAL, S., HOULT, L. A., STREINER, D. L., STOSKOPF, B. L. & ROSENBAUM, P. L. 2000. School difficulties at adolescence in a regional cohort of children who were extremely low birth weight. *Pediatrics*, 105, 325-31.
- SAINZ, R. D. & URLANDO, A. 2003. Evaluation of a new pediatric air-displacement plethysmograph for body-composition assessment by means of chemical analysis of bovine tissue phantoms¹²³. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77, 364-370.
- SAKAMOTO, T., CANSEV, M. & WURTMAN, R. J. 2007. Oral supplementation with docosahexaenoic acid and uridine-5'-monophosphate increases dendritic spine density in adult gerbil hippocampus. *Brain Res*, 1182, 50-9.
- SALEM, N., JR., WEGHER, B., MENA, P. & UAUY, R. 1996. Arachidonic and docosahexaenoic acids are biosynthesized from their 18-carbon precursors in human infants. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 49-54.
- SAMBRA, V., ECHEVERRIA, F., VALENZUELA, A., CHOUINARD-WATKINS, R. & VALENZUELA, R. 2021. Docosahexaenoic and arachidonic acids as neuroprotective nutrients throughout the life cycle. *Nutrients*, 13, 986.
- SANCHEZ-MEJIA, R. O., NEWMAN, J. W., TOH, S., YU, G. Q., ZHOU, Y., HALABISKY, B., CISSÉ, M., SCEARCE-LEVIE, K., CHENG, I. H., GAN, L., PALOP, J. J., BONVENTRE, J. V. & MUCKE, L. 2008. Phospholipase A2 reduction ameliorates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*, 11, 1311-8.
- SANDERS, T. A. 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *Am J Clin Nutr*, 71, 176s-8s.
- SANIN, L. H., LÓPEZ, S. R., OLIVARES, E. T., TERRAZAS, M. C., SILVA, M. A. R. & CARRILLO, M. L. 2001. Relation between birth weight and placenta weight. *Neonatology*, 80, 113-117.
- SCHELLENBERG, I. 2017. Analytische Systeme - Detektorsysteme.

- SCHMID, T. 2011. Analytische Chemie (für Biol. / Pharm. Wiss.) Teil „Chromatographische und elektrophoretische Trennverfahren“. 93.
- SHARP, J. A., MODEPALLI, V., ENJAPOORI, A. K., BISANA, S., ABUD, H. E., LEFEVRE, C. & NICHOLAS, K. R. 2014. Bioactive Functions of Milk Proteins: a Comparative Genomics Approach. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 19, 289-302.
- SHI, T., SU, D., LIU, T., TANG, K., CAMP, D., QIAN, W.-J. & SMITH, R. 2012. Advancing the sensitivity of selected reaction monitoring-based targeted quantitative proteomics. *Proteomics*, 12, 1074-92.
- SIMONS, K. & SAMPAIO, J. L. 2011. Membrane organization and lipid rafts. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 3, a004697.
- SIMOPOULOS, A. P. 2006. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed Pharmacother*, 60, 502-7.
- SIMOPOULOS, A. P. 2016. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients*, 8, 128.
- SINCLAIR, A. J. 1975a. Incorporation of radioactive polyunsaturated fatty acids into liver and brain of developing rat. *Lipids*, 10, 175-184.
- SINCLAIR, A. J. 1975b. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the mammalian brain. *Proc Nutr Soc*, 34, 287-91.
- SINCLAIR, A. J. 2019. Docosahexaenoic acid and the brain- what is its role? *Asia Pac J Clin Nutr*, 28, 675-688.
- SINCLAIR, A. T. & CRAWFORD, M. 1972. The incorporation of linolenic acid and docosahexaenoic acid into liver and brain lipids of developing rats. *FEBS letters*, 26, 127-129.
- SINGH, B. K. S., NARAYANAN, S. S., KHOR, B. H., SAHATHEVAN, S., GAFOR, A. H. A., FIACCADORI, E., SUNDRAM, K. & KARUPAIAH, T. 2021. Corrigendum: Composition and Functionality of Lipid Emulsions in Parenteral Nutrition: Examining Evidence in Clinical Applications. *Frontiers in Pharmacology*, 12.
- SKIPSKI, V. 1972. Plasma lipoproteins: composition, structure and biochemistry. *Blood lipids and lipoproteins. Quantitation, composition and metabolism*, 471-483.
- SOMMERFELT, K., PEDERSEN, S., ELLERTSEN, B. & MARKESTAD, T. 1996. Transient dystonia in non-handicapped low-birthweight infants and later neurodevelopment. *Acta Paediatr*, 85, 1445-9.
- SONSMANN, G. 2019. Massenspektrometrische Analyse von Peptiden und Peptidderivaten [Elektronische Ressource] : Steuerung der Fragmentierung einfach und mehrfach geladener Ionen durch gezielte chemische Modifikationen.
- STAUBACH, F. & LAGRÈZE, W. A. 2002. Frühgeborenenretinopathie. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 150, 302-308.
- STOCKER, J., DEHNER, L. & HUSAIN, A. 2002. Means and standard deviations of weights and measurements of lifeborn infants by body weight (Appendix 28–29). *Stocker & Dehner's Pediatric Pathology. Stocker JT, Dehner LP, eds. 2nd ed. Philadelphia, PA, USA: Lippinkott Williams & Wilkins.*

- STROUSTRUP, A. & TRASANDE, L. 2010. Epidemiological characteristics and resource use in neonates with bronchopulmonary dysplasia: 1993–2006. *Pediatrics*, 126, 291-297.
- SUGASINI, D., THOMAS, R., YALAGALA, P. C. R., TAI, L. M. & SUBBAIAH, P. V. 2017. Dietary docosahexaenoic acid (DHA) as lysophosphatidylcholine, but not as free acid, enriches brain DHA and improves memory in adult mice. *Sci Rep*, 7, 11263.
- SVENNERHOLM, L. 1968. Distribution and fatty acid composition of phosphoglycerides in normal human brain. *J Lipid Res*, 9, 570-9.
- TAYLOR, H. G., KLEIN, N., ESPY, K. A., SCHLUCHTER, M., MINICH, N., STILP, R. & HACK, M. 2018. Effects of extreme prematurity and kindergarten neuropsychological skills on early academic progress. *Neuropsychology*, 32, 809-821.
- THIES, F., MILES, E. A., NEBE-VON-CARON, G., POWELL, J., HURST, T., NEWSHOLME, E. & CALDER, P. C. 2001. Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. *Lipids*, 36, 1183-1193.
- TSIMIS, M., AL-HAMAYEL, N. A., GERMAINE, H. & BURD, I. 2015. Prematurity: present and future. *Minerva ginecologica*, 67, 35.
- TUCKER, J. & MCGUIRE, W. 2004. Epidemiology of preterm birth. *Bmj*, 329, 675-678.
- UAUY, R., MENA, P., WEGHER, B., NIETO, S. & SALEM, N., JR. 2000. Long chain polyunsaturated fatty acid formation in neonates: effect of gestational age and intrauterine growth. *Pediatr Res*, 47, 127-35.
- VAN DE LAGEMAAT, M., ROTTEVEEL, J., MUSKIET, F. A., SCHAAFSMA, A. & LAFEBER, H. N. 2011. Post term dietary-induced changes in DHA and AA status relate to gains in weight, length, and head circumference in preterm infants. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 85, 311-316.
- VAN MEER, G., VOELKER, D. R. & FEIGENSON, G. W. 2008. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9, 112-24.
- VIJAYARAGHAVAN, S., HUANG, B., BLUMENTHAL, E. M. & BERG, D. K. 1995. Arachidonic acid as a possible negative feedback inhibitor of nicotinic acetylcholine receptors on neurons. *J Neurosci*, 15, 3679-87.
- VOHR, B. R., WRIGHT, L. L., POOLE, W. K. & MCDONALD, S. A. 2005. Neurodevelopmental outcomes of extremely low birth weight infants <32 weeks' gestation between 1993 and 1998. *Pediatrics*, 116, 635-43.
- WANG, Z. J., LIANG, C. L., LI, G. M., YU, C. Y. & YIN, M. 2006. Neuroprotective effects of arachidonic acid against oxidative stress on rat hippocampal slices. *Chem Biol Interact*, 163, 207-17.
- WEISINGER, H. S., VINGRYS, A. J. & SINCLAIR, A. J. 1996. Effect of dietary n-3 deficiency on the electroretinogram in the guinea pig. *Ann Nutr Metab*, 40, 91-8.
- WENDEL, K., AAS, M. F., GUNNARSDOTTIR, G., ROSSHOLT, M. E., BRATLIE, M., NORDVIK, T., LANDSEND, E. C. S., FUGELSETH, D., DOMELLÖF, M., PRIPP, A. H., STIRIS, T. & MOLTU, S. J. 2023. Effect of arachidonic and docosahexaenoic acid supplementation on respiratory outcomes and neonatal morbidities in preterm infants. *Clin Nutr*, 42, 22-28.

- WHITFIELD, M. F., GRUNAU, R. V. & HOLSTI, L. 1997. Extremely premature (< or = 800 g) schoolchildren: multiple areas of hidden disability. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 77, F85-90.
- WHO 2013. ICD-10-WHO Version 2013. Köln: Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM).
- WIDDOWSON, E. 1968. Growth and composition of the fetus and newborn. *The fetus and neonate*. Elsevier.
- WIECHERS, C., AVELLINA, V., LUGER, B., BÖCKMANN, K., MINARSKI, M., MAAS, C., BERNHARD, W., POETS, C. F. & FRANZ, A. R. 2022. Body composition of preterm infants following rapid transition to enteral feeding. *Neonatology*, 119, 246-254.
- WILLIAMS, J. H., ERRINGTON, M. L., LYNCH, M. A. & BLISS, T. V. 1989. Arachidonic acid induces a long-term activity-dependent enhancement of synaptic transmission in the hippocampus. *Nature*, 341, 739-42.
- WOLKE, D., SAMARA, M., BRACEWELL, M. & MARLOW, N. 2008. Specific language difficulties and school achievement in children born at 25 weeks of gestation or less. *J Pediatr*, 152, 256-62.
- WURTMAN, R. J. 2008. Synapse formation and cognitive brain development: effect of docosahexaenoic acid and other dietary constituents. *Metabolism*, 57 Suppl 2, S6-10.
- ZHOU, B., XIAO, J. F., TULI, L. & RESSOM, H. W. 2012. LC-MS-based metabolomics. *Molecular BioSystems*, 8, 470-481.
- ZIEGLER, E., O'DONNELL, A., NELSON, S. & FOMON, S. 1976a. Body composition of the reference fetus. *Growth*, 40, 329-341.
- ZIEGLER, E. E., O'DONNELL, A. M., NELSON, S. E. & FOMON, S. J. 1976b. Body composition of the reference fetus. *Growth*, 40, 329-41.

Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen, in der Abteilung Neonatologie unter Betreuung von Prof. Dr. med. Axel Franz durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch die Arbeitsgruppe, d.h. durch Dr. med. Katrin Böckmann (Oberärztin für Kinder- und Jugendmedizin, Neonatologie Tübingen), Prof. Dr. med. Axel Franz (Oberarzt für Kinder- und Jugendmedizin, Neonatologie Tübingen), Prof. Dr. med. Steven Warmann (Oberarzt für Kinderchirurgie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Tübingen), Prof. Dr. med. Dr. rer. Physiol. Wolfgang Bernhard (Facharzt für Physiologie und Ernährungswissenschaft; Laborleiter und Leiter der klinischen und experimentellen Forschung), Prof. Dr. med. Christian Poets (Direktor der Abteilung Neonatologie, Universitätskinderklinik Tübingen).

Die Proben- und Datengewinnung erfolgte nach Einarbeitung durch OÄ Dr. med. Katrin Böckmann durch mich und in Ausnahmefällen bei meiner Verhinderung von Birte Frische. Die Lipidextraktion erfolgte nach Einarbeitung durch Anna Shunova (Medizinisch-Technische-Assistentin der Arbeitsgruppe „Neonataloge Ernährung und Entwicklung“ Tübingen) selbstständig durch mich. Die Messung der Fettgewebe-, Blutplasma- und Erythrozytenproben mittels Massenspektrometer und Gaschromatograph erfolgte mit Unterstützung von Anna Shunova.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch die Leiterin der Biometrie am Center for Pediatric Clinical Studies (CPCS) der Universitäts-Kinderklinik (Dr. biol. hum. Corinna Engel) und nach Anleitung durch OÄ Dr. med. Katrin Böckmann eigenständig durch mich. An der Veröffentlichung der Ergebnisse meiner Arbeit war ich als Koautorin beteiligt.

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

Dresden, den 20. August 2024

Antonia Margarete von Stumpff

Danksagung

Herzlicher Dank für das mir entgegengebrachte Vertrauen, Geduld und die Möglichkeit, mich mit dem spannenden Thema dieser Dissertation auseinandersetzen zu können, gilt Prof. Axel Franz.

Ich danke Prof. Wolfgang Bernhard, welcher mir die Arbeit im Labor ermöglichte und mir immer motivierend und konstruktiv zur Seite stand und mir wertvolles Wissen vermittelte.

Dr. Katrin Böckmann möchte ich für die Unterstützung und sehr gute Betreuung herzlich danken.

Ein besonderer Dank gilt Anna Shunova, mit welcher die Arbeit im Labor unglaublich viel Spaß gemacht hat und die für jedes Problem eine Lösung kannte.

Für die Möglichkeit der Zusammenarbeit mit der Kinderchirurgie des Universitätsklinikum Tübingen danke ich Prof. Steven Warmann.

Bei Birte Frische bedanke ich mich für ihre Hilfe bei der Probandenrekrutierung und Probenasservierung.

Ein großer Dank gebührt allen Beteiligten, den Eltern, die der Studienteilnahme zugestimmt haben, den Pflegekräften der Neonatologie Tübingen und dem OP-Personal der Kinderchirurgie Tübingen.