Biologische Verfügbarkeit der Docosahexaensäure in Muttermilch und Plasma stillender Mütter

Anja Pohl

Aus der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der

Ludwig-Maximilians-Universität-München

Direktor: Prof. Dr. D. Reinhardt

Biologische Verfügbarkeit der Docosahexaensäure in Muttermilch und Plasma stillender Mütter

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Anja Pohl

München

2002

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der

Universität zu München

Berichterstatter:	**Prof. Dr. med. B. Koletzko**
Mitberichterstatter:	**Prof. Dr. B. Göke**
	Prof. Dr. O. Adam
	Porf. Dr. C. von Schacky
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	**Dr. med. T. U. Sauerwald**
Dekan:	**Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter**
Tag der mündlichen Prüfung:	**20.6.2002**

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

2 Studienteilnehmer und Methodik 4

2.1 Studiendesign 4

2.2 Studienteilnehmer 4

2.2.1 Einschlußkriterien 4

2.2.2 Ausschlußkriterien 5

2.2.3 Randomisierung 5

2.2.4 Ethische Aspekte 5

2.3 Zusammensetzung von DHASCO™ (Supplement, Placebo und Tracer) 6

2.4 Tracergabe 7

2.5 Dokumentation 7

2.5.1 Mütter 7

2.5.2 Kinder 7

2.5.3 Ernährung 7

2.6 Indirekte Kalorimetrie 8

2.7 Probensammlung 9

2.7.1 Atemproben 9

2.7.2 Muttermilch 9

2.7.3 Plasma 9

2.8 Analytik 10

2.8.1 Geräte und Chemikalien 10

2.8.2 Probenaufbereitung 12

2.8.2.1 Plasma 12

2.8.2.2 Milch 13

2.8.3 Probenmessung 14

2.8.3.1 Gaschromatographie 14

2.8.3.2 Massenspektrometrie 14

2.9 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse 15

2.9.1 Atemproben 15
2.9.2 Muttermilch 15
2.9.3 Plasma 16
2.10 Statistische Methoden 17

3 Ergebnisse 18

3.1 Studienteilnehmer 18
3.2 Ernährung der Mütter 20
3.3 Indirekte Kalorimetrie 22
3.4 Oxidation 22
3.4.1 Delta over Baseline (DOB)-Werte im Atem CO_2 22
3.4.2 Prozentuale und kumulative Wiederfindung im Atem-CO_2 24
3.5 Muttermilch 26
3.5.1 Volumen und Fettgehalt der Muttermilch 26
3.5.2 Fettsäurezusammensetzung 27
3.5.3 ^{13}C-Anreicherung der markierten Fettsäuren 28
3.5.4 ^{13}C-Anreicherung der DHA 29
3.5.5 ^{13}C-Anreicherung von Myristin-, Palmitin- und Ölsäure 31
3.6 Plasma 34
3.6.1 Fettsäurekonzentrationen 34
3.6.1.1 Phospholipide 35
3.6.1.2 Triglyceride 35
3.6.1.3 Cholesterolester 35
3.6.1.4 DHA-Konzentration in Phospholipiden, Triglyceriden und Cholesterolestern 37
3.6.2 Prozentuale Fettsäurezusammensetzung im Plasma 37
3.6.2.1 Phospholipide 38
3.6.2.2 Triglyceride 39
3.6.2.3 Cholesterolester 40
3.6.3 ^{13}C-Anreicherung der markierten Fettsäuren im Plasma 41
3.6.3.1 Phospholipide 41
3.6.3.2 Triglyceride 42
3.6.3.3 Cholesterolester 43
3.6.4 ^{13}C-Anreicherung der DHA 44

3.6.4.1 Phospholipide 44
3.6.4.2 Triglyceride 45
3.6.4.3 Cholesterolester 45
3.6.5 Einzellfallbetrachtung bei einer Studienteilnehmerin mit zusätzlichen Meßzeitpunkten 46
3.6.5.1 Fettsäurekonzentration 46
3.6.5.2 DHA-Gehalt und DHA-Konzentration 47
3.6.5.3 ^{13}C-Anreicherung der DHA 50

4 Diskussion 51

4.1 Einsatz und Dosierung von ^{13}C-markierter DHA 51

4.2 Oxidation 51

4.3 Muttermilch 53
4.3.1 Volumen und Fettgehalt 53
4.3.2 Fettsäurezusammensetzung 54
4.3.3 ^{13}C-Anreicherung von DHA, Myristin-, Palmitin- und Ölsäure 55

4.4 Plasma 56
4.4.1 Fettsäurezusammensetzung 56
4.4.2 ^{13}C- Anreicherung 58
4.4.2.1 ^{13}C-Anreicherung der DHA 58
4.4.2.2 ^{13}C-Anreicherung der anderen, markierten Fettsäuren 60

5 Zusammenfassung 61

6 Literaturverzeichnis 63

7 Anhang 68

Verzeichnis der Abkürzungen

AA	Arachidonsäure (20:4n-6)
BMI	Body Mass Index (kg/m^2)
CE	Cholesterolester
DHA	Docosahexaensäure (C22:6n-3)
DOB	Delta over baseline
DPA	Docosapentaensäure (C22: 5n-3)
EPA	Eicosapentaensäure (C20: 5n-3)
EU	Energieumsatz (kcal/ 24h)
FS	Fettsäure
GC	Gaschromatographie
GC-C-IRMS	Gaschromatographie-Verbrennungs-Isotopenverhältnis-Massenspektrometer
Gew.%	Gewichtsprozent
LA	Linolsäure (C18:2n-6)
LCP	Long chain polyunsaturated (langkettig, mehrfach ungesättigt)
n	Anzahl
n. s.	nicht signifikant
p	Signifikanzniveau
PL	Phospholipide
PUFA	Polyunsaturated fatty acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
REU	Ruheenergieumsatz (kcal/ 24h)
TG	Triglyceride
VLDL	very low densitiy lipoproteins
vs.	versus

1 Einleitung

Für die optimale Entwicklung des Kindes, vor allem in der Perinatal- und Säuglingszeit, sind längerkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren (long-chain-polyunsaturated fatty acids) von großer Bedeutung. Sie dienen dem Organismus nicht nur als Energielieferanten, sondern sind zu einem hohen Anteil auch Strukturkomponenten in den Geweben[19]. Während des intrauterinen Wachstums kommt es zur Einlagerung großer Mengen von LCP-Fettsäuren im membranreichen Zentralnervensystem und in der Retina[35,44]. Der positive Einfluß von LCP-Fettsäuren auf die neurologische Entwicklung des Kindes konnte bereits anhand verschiedener Studien belegt werden [3,24,31]. So beschreiben beispielsweise Birch *et al.* eine signifikant bessere Entwicklung von kognitiven und motorischen Fähigkeiten bei Säuglingen, die mit Docosahexaensäure (DHA) bzw. DHA und Arachidonsäure (AA) supplementiert wurden[3]. Linol- und α- Linolensäure, die Vorläufer der LCP-Fettsäuren der n-6 bzw. n-3 Reihe, gelten als essentiell, da sie vom Menschen und anderen Organismen nicht selbst synthetisiert werden können[31]. LCP-Fettsäuren werden mit der Nahrung aufgenommen oder durch endogene Synthese aus den Vorläuferstufen der n-6 oder n-3 Reihe gebildet. Die vorherrschende Fettsäure aus der n-3 Reihe in Gehirn und Retina ist die Docosahexaensäure. Besonders hohe Konzentrationen an DHA befinden sich in den Photorezeptoren der Retina. Eine positive Korrelation der Sehfunktion des Kindes und dem DHA-Gehalt seiner Erythrozyten konnte nachgewiesen werden[2,4]. Verschiedene Studien belegen, daß sich durch eine Anreicherung der Nahrung mit DHA der DHA-Gehalt von Plasma und Muttermilch signifikant erhöhen lassen[9,34,41].

Zur Untersuchung von Transfer und Stoffwechsel der DHA eignen sich besonders stabile Isotope. Seit etwa 20 Jahren finden stabile Isotope zunehmend Verwendung als Tracer in klinischen Studien. Mit ihrer Hilfe lassen sich beispielsweise Verteilungsvolumina oder Stoffwechselwege analysieren[38]. Unter Isotopen versteht man Atome gleicher Ordnungszahl (d.h. identischer Anzahl an Protonen), aber unterschiedlicher Masse (Anzahl an Neutronen). Aufgrund dieses Massenunterschiedes zeigen Isotope bei physikalischen, chemischen und biochemischen Vorgängen unterschiedliche Verhaltensweisen[40]. Mit modernen Analyseverfahren, wie beispielsweise der Massenspektrometrie, können mit stabilen Isotopen markierte Tracersubstanzen (z.B. Aminosäuren oder Fettsäuren) aufgrund ihrer unterschiedlichen Kerneigenschaften nachgewiesen werden. Durch die Abwesenheit einer Strahlenbelastung lassen sich stabile Isotope bedenkenlos auch bei Schwangeren, stillenden Frauen und Kindern in Forschung und Diagnostik einsetzen. In der pädiatrischen Forschung

finden hauptsächlich ^{13}C-markierte Verbindungen (Kohlenhydrate, Fettsäuren), ^{15}N-markierte Aminosäuren und $^{2}H_20$ Anwendung. Stabile Isotope kommen aber auch in der Natur, dem menschlichen Körper und in der Nahrung vor. Deshalb führt die Gabe eines Tracers zu einer Änderung des Isotopenverhältnisses im Organismus. Die Tracermengen, die in Forschung und Diagnostik gegeben werden, sind vergleichsweise gering, da bereits z.B. etwa 2000 mg ^{13}C/kg Körpergewicht im menschlichen Körper natürlicherweise vorhanden sind. Nebenwirkungen sind bei Verwendung von ^{13}C-markierten Tracern so gut wie ausgeschlossen, da nur eine geringe relative Massendifferenz zwischen den jeweiligen Isotopen besteht.

Bereits 1987 wurde von Hachey *et al*. der Transfer von Triglyceriden, die mit stabilen Isotopen markiert waren, in die Muttermilch untersucht. An dieser Studie nahmen drei stillende Mütter teil, die ein Triglyceridöl aus ^{2}H-markierter Palmitin-, Öl- und Linolsäure erhielten. Über einen Zeitraum von 72 Stunden wurden Milch- und Blutproben gesammelt. Die Sekretionsmuster der drei Fettsäuren in die Muttermilch unterschieden sich nicht signifikant. Die Triglyceride wurden hauptsächlich durch Chylomikronen und VLDLs in die Milchdrüsen tranportiert und erschienen mit einer Verzögerung von etwa 6 Stunden in der Muttermilch.

Demmelmair *et al*.[14] beschrieben den Stoffwechsel von U^{13}C-markierter Linolsäure bei stillenden Müttern. Sechs Probandinnen erhielten eine mit 2 mg/kg Körpergewicht berechnete Dosis Tracer in der zweiten, sechsten und zwölften Woche der Laktation. Es wurden Milch- und Atemproben gesammelt und Ernährungsprotokolle geführt. Etwa 30 % der in der Muttermilch enthaltenen Linolsäure stammten direkt aus der Nahrung, und ein weiterer Teil erschien nach endogener Konversion als Dihomogammalinolensäure (zu 11 % am Gesamtanteil dieser Fettsäure) und Arachidonsäure (zu 1,2 % am Gesamtanteil) in der Muttermilch.

Untersuchungen zum Stoffwechsel und Transfer von DHA bei stillenden Müttern mit Hilfe von stabilen Isotopen liegen bisher nicht vor.

In dieser Studie wurde der Stoffwechsel der Docosahexaensäure bei elf stillenden Müttern untersucht. Die Mütter erhielten für 13 Tage entweder ein mit DHA- angereichertes Nahrungssupplement (DHASCO™) oder ein Placebo. Im Anschluß daran wurde unter Verwendung eines Tracers, der zu einem hohen Anteil ^{13}C-markierte DHA enthielt (^{13}C-DHASCO™), vor allem der Metabolismus von DHA, aber auch anderer ^{13}C-markierte

Fettsäuren betrachtet. Hierzu wurden Messungen zur Oxidation, zum Transfer in Plasmalipide und zum Transfer in die Muttermilch durchgeführt.

Folgende Hypothesen sollten durch diese Studie überprüft werden:

1. Die DHA-Spiegel in den Plasma- und Muttermilch-Lipiden sind in der DHASCO™-supplementierten Gruppe höher als in der Placebo-Gruppe.
2. Der relative Transfer von DHA in die Muttermilch innerhalb der Gruppen ist vergleichbar mit dem Transfer anderer Fettsäuren.
3. Nur kleine Mengen DHA werden in andere n-3 Fettsäuren umgewandelt.
4. Die Oxidation von ^{13}C-DHASCO™ ist nur gering.

2 Studienteilnehmer und Methodik

2.1 Studiendesign

Es handelte sich um eine prospektive, randomisierte, Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie.
Studienablauf:

Tag 0 (4 Wochen post partum):

- Muttermilchprobe (Leerwert)
- Körpergewicht, Blutdruck, Puls (Mutter)
- Ernährungsanamnese

Tag 1-13:

- 2 x täglich: Einnahme von DHASCO™- (GruppeA) oder
  Placebo-Kapseln (Gruppe B)
- Ernährungsprotokoll über 7 Tage
- Indirekte Kalorimetrie

Tag 14-15:

- Körpergewicht, Blutdruck, Puls (Mutter)
- Proben: Atemtest, Muttermilch, Blut (Leerwert)
- Tracergabe
- weitere Probenentnahmen zu definierten Zeitpunkten

2.2 Studienteilnehmer

Für die Studie wurden 11 gesunde, stillende Mütter kurz vor ihrer Entlassung aus der I. Universitäts-Frauenklinik München rekrutiert. Bei der ersten teilnehmenden Mutter erfolgten in einer Pilotphase bereits initial Messungen; für die Studienauswertung wurden die im Folgenden teilnehmenden 10 Mütter herangezogen.

2.2.1 Einschlußkriterien

Als Voraussetzung für die Studienteilnahme wurde das Alter der Mütter auf 19-35 Jahre begrenzt. Sie sollten einen gesunden, termingerecht geborenen Säugling haben, den sie mindestens für 2 Monate zu stillen beabsichtigten.

Auch wenn das Zufüttern von höchstens 20 % Babynahrung erlaubt war, wurden diejenigen Mütter bevorzugt, die ausschließlich stillen wollten. Außerdem wurde darauf geachtet, daß die Mütter normale Vollkost zu essen beabsichtigten und die Bereitschaft zeigten, über eine Woche (während der Supplementierung) ein Ernährungsprotokoll zu führen.

2.2.2 Ausschlußkriterien

Von der Studie wurden Mütter ausgeschlossen, bei denen eines oder mehrere der folgenden Kriterien zutrafen:

- Stoffwechselerkrankung /gastrointestinale Dysfunktionen (auch des Säuglings)
- akute Infektionskrankheit
- Medikamenteneinnahme
- BMI (Body Mass Index: Körpergewicht [kg]: Körperlänge [m^2]: <17 bzw. >33)
- Zwillings- oder Mehrlingsgeburt
- Raucher
- kein Verzicht auf Fisch in den 2 Wochen der Supplementierung

2.2.3 Randomisierung

Die Untersuchung wurde als Doppelblindstudie durchgeführt. Die Randomisierung der Mütter in die Gruppe A (Supplement) oder B (Placebo) erfolgte nach dem Zufallsprinzip. Hierzu wurde aus einem verschlossenen Umschlag für jeden Teilnehmer die codierte Zuteilung ermittelt.

Etwa 4 Wochen nach der Entbindung erhielten die Mütter eine zweiwöchige Supplementierung mit entweder zwei Kapseln DHASCO™ (= 200 mg DHA/ Tag) oder Placebo.

2.2.4 Ethische Aspekte

Für die Studie wurde die Zustimmung der Ethikkomission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München eingeholt. Alle Studienteilnehmer erteilten nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme.

2.3 Zusammensetzung von DHASCO™ (Supplement, Placebo und Tracer)

Supplement- (DHASCO™), Placebo-Kapseln und Tracer (^{13}C-markiertes DHASCO™) wurden von der Firma Martek (Martek Biosciences Corp., Columbia, Maryland, USA) zur Verfügung gestellt.

Die Zusammensetzung von DHASCO™- (Supplement), Placebo-Kapseln und Tracer ist in Tabelle 1 dargestellt. Gezeigt werden die Daten der Fettsäurezusammensetzung (Gew. %) nach eigener Analyse im Stoffwechsellabor der Kinderpoliklinik München. In den Placebo-Kapseln waren Spuren anderer Fettsäuren nachweisbar, aber keine DHA. Für den Tracer ist eine Spannweite angegeben, da für unsere Studie 3 verschiedene Tracer zur Verfügung standen.

Tabelle 1: Fettsäurezusammensetzung der DHASCO™- bzw. Placebo-Kapseln und des Tracers (Ergebnisse der Untersuchungen unserers Stoffwechsellabors; Gew %)

FS	DHASCO™-Kapseln	Placebo- Kapseln	Tracer
C8:0	-	-	0,0-0,3
C10:0	-	-	1,1-1,8
C12:0	5,4	-	7,8-9,3
C14:0	19,4	-	18,1-19,6
C16:0	17,5	11,0	9,0-13,2
C16:1n-7	1,7	-	0,9-1,0
C18:0	0,4	3,0	0,0-0,3
C18:1n-9	9,5	23,3	5,1-7,4
C18:2n-6	0,6	56,7	-
C18:3n-3	-	4,1	-
C20:0	-	0,4	0,1
C20:1n-9	-	0,3	0,0-0,3
C22:5n-3	0,3	-	0,2-0,4
C22:6n-3	45,1	-	49,3-55,4

2.4 Tracergabe

Am Studientag 14 erhielten die Mütter aus beiden Gruppen als oralen Tracer ^{13}C-markiertes DHASCO™ (2 mg/ kg KG) in Bolusgabe zu einem standatisierten Frühstück. Die jeweils am Morgen frisch abgewogene Menge Tracer wurde auf einem Brötchen eingenommen. Auf einen vollständigen Verzehr wurde geachtet.

2.5 Dokumentation

2.5.1 Mütter

Vor und nach der Supplementierung wurden anthropometrische und klinische Daten (Größe, Gewicht, Blutdruck und Puls) der einzelnen teilnehmenden Mütter erhoben. Es wurden die genannten Ein- und Ausschlußkriterien geprüft. Weiterhin wurden dokumentiert: Anzahl der Schwangerschaften und Geburten, Komplikationen im Verlauf der Schwangerschaft oder der Stillzeit und die Anzahl der eingenommenen Kapseln.

2.5.2 Kinder

Die Ergebnisse der bisher durchgeführten Vorsorgeuntersuchungen (U1, U2 und U3) der Kinder wurden festgehalten. Hierbei wurden vor allem Daten zum Wachstum (Gewicht, Größe und Kopfumfang) dokumentiert und anschließend ausgewertet.

2.5.3 Ernährung

Es wurde eine kurze Ernährungsanamnese durchgeführt. Die Mütter wurden gebeten, an 7 Tagen während der Zeit der Supplementierung ein standardtisiertes Ernährungsprotokoll zu führen. Hierzu wurde die konsumierte Nahrung über die 7 Tage der Protkollperiode gewogen oder die Menge in haushaltsüblichen Maßen angegeben.
Die Auswertung der Protokolle erfolgte mit dem Ernährungs- und Diätberatungsprogramm Prodi Version, 4.4 (Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart). Berechnet wurden die durchschnittlich pro Tag aufgenommenen Mengen folgender Nahrungsbestandteile:
- Eiweiß, Fett und Kohlehydrate
- Gesättigte und mehrfach ungesättigte Fettsäuren
- Ölsäure

- Linolsäure
- α-Linolensäure
- Eicosatriensäure
- Arachidonsäure
- Eicosapentaensäure
- Docosahexaensäure

Auch wurde der Energiegehalt berechnet, den die Mütter im Durchschnitt täglich durch die Nahrung aufnahmen.

2.6 Indirekte Kalorimetrie

Nach Möglichkeit nahmen die Mütter an einer indirekten Kalorimetrie teil. So war es möglich, Daten zur Substratoxidation zu gewinnen. Es wurden 2 Messungen (nüchtern und postprandial) mit dem Gerät DELTATRAC™II (Hoyer, Bremen) über jeweils 30 Minuten durchgeführt. Der Kopf der Teilnehmerin wurde mit einer transparenten Plastikhaube abgedeckt und ein konstanter Zufluß von Raumluft (ca. 40 l/min) eingestellt. Es wurde die gesamte ausgeatmete Luft gesammelt und der Konzentrationsunterschied zwischen der in die Haube eintretenden und austretenden Luft für O_2 und CO_2 berechnet. Gemessen wurden O_2-Verbrauch und CO_2-Produktion. Dies ermöglichte eine direkte Bestimmung des respiratorischen Quotienten (= CO_2-Produktion/ O_2-Verbrauch). Der zur Berechnung des Energieumsatzes zusätzlich benötigte Wert der Stickstoffausscheidung im Urin wurde mit einem Durchschnitt von 13 g/24h zugrundegelegt. Mit Hilfe folgender Formel konnte der Energieumsatz der Studienteilnehmerin berechnet werden:

$EU = 5{,}50\ VO_2 + 1{,}76\ VCO_2 - 1{,}99\ U_N$

EU = Energieumsatz

VO_2 = Volumen O_2-Verbrauch [ml/min]

VCO_2 = Volumen CO_2-Produktion [ml/min]

U_N = Stickstoffausscheidung in den Urin [g/24h]

Zusätzlich bestimmten wir die Differenz zwischen Energieumsatz und Grundumsatz. Dieses ist der unter standartisierten Ruhebedingungen (nüchtern, keine körperlichen Aktivitäten vor der Messung, in ruhiger, entspannter Lage und bei Behaglichkeitstemperatur der Umgebung)

gemessene Energieumsatz, der nach einer Formel von Harris-Benedict für weibliche Personen (>17 Jahre) wie folgt berechnet werden kann:

REU = 655 + 9,6 W + 1,8 H –4,7 A [kcal/24h]
REU = Ruheenergieumsatz
W = Gewicht [kg]
H = Größe [cm]
A = Alter [Jahren]

2.7 Probensammlung

2.7.1 Atemproben

Proben der ausgeatmeten Luft wurden vor Tracergabe und $^{1}/_{2}$, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24 und 48 h nach der Tracergabe gesammelt. Die Luft wurde je dreimal in einen Atemtestbeutel (Firma Medicheck, Essen) ausgeatmet und dann in 10 ml Gasprobenröhrchen (Labco Exetainer® System, Buckinghamshire, England) überführt. Bis zur weiteren Analyse wurden die Proben bei Raumtemperatur aufbewahrt.

2.7.2 Muttermilch

Mit Hilfe einer elektrischen Milchpumpe (Medap Milchsauger, P6010, Bad Homburg) wurden vor Supplementierung und 0, 6, 12, 24, 36 und 48 h nach der Gabe von ^{13}C-markiertem DHASCO™ Milchproben (je 5 ml) gesammelt. Dabei wurden jeweils 2,5 ml Vormilch und 2,5 ml Nachmilch gewonnen und dann gemischt. Die Proben wurden in Braunglasfläschchen mit Schraubkappe und Dichtscheibe (GS-Chromatographieservice GmbH, Langerwehe) umgefüllt und dann bei –20^{o}C eingefroren.
Zur Berechnung der gesamten Milchmenge wurden die abgepumpten und die vom Kind getrunkenen Milchmengen addiert. Hierzu wurde der Säugling vor und nach dem Stillen auf einer geeichten Säuglingswaage gewogen.

2.7.3 Plasma

Blutproben (3 ml) wurden durch eine venöse Blutentnahme 0, 6, 12 und 24 h nach Gabe von ^{13}C-markiertem DHASCO™ gewonnen. Sie wurden in EDTA (Ethylen-Diamin-Tetraacetat)

beschichtete Probenröhrchen (Firma Sarstedt, Nürnbrecht) gegeben, auf Eis zum Stoffwechsellabor der Kinderpoliklinik transportiert und dort mittels Zentrifugation in Plasma und Zellbestandteile aufgetrennt. Direkt nach der Zentrifugation wurde das separierte Plasma in 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße (Eppendorf-Nehler-Hinz-GmbH, Hamburg) umgefüllt und bis zur Analyse bei -80 ^{o}C aufbewahrt.

2.8 Analytik

2.8.1 Geräte und Chemikalien

Geräte:

Analysenwaage, Sartorius R-200 D, Göttingen
DC-Platten Kieselgel 60, Merck 1.05721, Darmstadt
Entwicklungskammer, Desaga, Heidelberg
Exsikkator
Kieselgel mit Feuchtigkeitsindikator, Merck 1925.1000, Darmstadt
Metallblock- Thermostat, Bachhofer GmbH, Typ 2102, Reutlingen
Pipette, Brandt 10-100 µl, Wertheim
Pipetten, abimed 1-10 µl, 10-100 µl, 50-250 µl, Langenfeld
Pipetten, Eppendorf 1-10 µl, 10-100 µl, 50-250 µl, 200-1000 µl, 500- 2500 µl
Thermoplatte S Desaga, Heidelberg
Ultraschallbad Sonorex, Super, Bandelin electronic, Berlin
UV-Lampe
Vortexer, Janke und Kunkel IKA- Labortechnik VF 2, Heitersheim
Zentrifuge Universal 30 F, Hetterich, Tuttlingen

Verbrauchsmaterialien:

Bördelkappen und Dichtscheiben , CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Flasche 4 ml, braun, CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Flasche 8 ml, klar, CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Microvials, Chromacol 1000 X 02-MTV, Trumball (USA)
Pipettenspitzen
Rollrandfläschchen, CS-Chromatographie Service, Langerwehe

Schraubkappen, CS-Chromatographie Service, Langerwehe

Chemikalien:

2,6 Di-tert.-butyl-p-kresol (BHT)
2,7 Dichlorfluorescein
2-Propanol
Aqua ad injectabilia
Chloroform
Diisopropylether
Essigsäure 100 % (Eisessig)
Ethanol absolut
Kaliumoxalat
Methanol LiChrosolv, gradient grade
Methanolische HCL 3N
Methyl Tricosanoate
Natriumcarbonat
Natriumhydrogencarbonat
Natriumsulfat
n-Heptan
n-Hexan
n-Hexan LiChrosolv
Petroleumbenzin Kp. 40-60°C
Phosphatidylcholine Dipentadecanoyl
Tert.-Butyl-methylether
(Firmen Fluca, Larodan,Merck, Pharmacia, Sigma)

Innerer Standard: 10 mg Pentadecaensäure, 10,52 mg Tripentadecaensäure, 25,21 mg Cholesterylpentadecanoate und 14,56 mg Phosphatdidylcholine- Dipentadecanoyl in Lösungsmittel (Methanol : Chloroform, 35:15, v/v mit BHT, 2 g/l) zu 100 ml
Kaliumoxalatlösung (3,5 g Kaliumoxalat/100 ml aqua dest.)

Laufmittel 1: n-Heptan : Diisopropylether : Eisessig (60:40:3, v/v/v)

Puffermischung: Natriumsulfat : Natriumhydrogencarbonat : Natriumcarbonat (2/2/1, w/w/w)

2.8.2 Probenaufbereitung

2.8.2.1 Plasma

Fettextraktion:

Je 250 µl der bei Zimmertemperatur aufgetauten und gut geschüttelten Plasmaproben wurden in Schliffglasröhrchen pipettiert und eingewogen. Anschließend wurden 100 µl innere Standardlösung hinzugegeben. In drei Stufen wurde nun die Fettextraktion durchgeführt. Zunächst wurden 2 ml Hexan:Isopropanol-Gemisch (4:1, v/v) hinzugefügt, für 1min auf den Vortexer gehalten und anschließend bei einer Zentrifugendrehzahl von 2300 U/min zentrifugiert. Die organische Phase, die sich nun im oberen Teil des Röhrchens befand, wurde in ein 4 ml Braunglasröhrchen überführt und unter Stickstoffstrom bei 50° C eingeengt. Der verbliebenen Isopropanolphase wurden in der zweiten und dritten Stufe 2 ml Hexan beigefügt und dann wie in der ersten Extraktionsstufe fortgefahren. Die organische Phase wurde jeweils mit dem zuvor gewonnenen Lipidextrakt vereinigt.

Auftrennung der Lipidklassen:

Diese wurde mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie durchgeführt. Dazu wurde der getrocknete Lipidextrakt in 400 µl Chloroform : Methanol (1:1, v/v) aufgenommen und auf eine Dünnschichtchromatographieplatte aufgetragen. Zweimal wurde mit etwas Chloroform nachgewaschen. Die Kieselgelplatten wurden in ganzer Höhe in einer mit dem Laufmittel gesättigten Kammer entwickelt und anschließend 20 Minuten auf einer Thermoplatte bei ca. 37°C getrocknet. Durch Besprühen der Platten mit Fluoreszenzindikator (2,7- Dichlor-fluorescein gelöst in 1 % Ethanol) konnten die einzelnen Lipidfraktionen unter UV-Licht sichtbar gemacht und markiert werden (von unten nach oben: Phospholipide, freie Fettsäuren, Triglyceride und Cholesterolester). Jede Fraktion wurde einzeln von der Platte mittels Spatel abgelöst, fein pulverisiert und dann in ein 4ml Braunglasröhrchen gegeben.

Fettsäurederivatisierung:

Jeder isolierten Lipidfraktion wurde 1,5 ml methanolische HCl beigefügt und die gut verschlossenen Braunglasröhrchen 45 Minuten lang bei 85°C im Thermoblock gekocht. Nachdem die Proben abgekühlt waren, wurden sie mit der Puffermischung neutralisiert. Die entstandenen Methylester der Fettsäuren wurden nun zweimal mit je 1ml Hexan extrahiert, in

2 ml Rollrandfläschchen überführt und unter Stickstoffstrom eingeengt. Der Rückstand wurde in 50 µl Hexan-BHT (2 g/l) aufgenommen und nach gutem Schütteln in Microvials abgefüllt. Diese wurden in einem 2 ml Braunglasröhrchen mit einer Bördelkappe gut verschlossen. Bis zum Einspritzen in den GC wurden diese Proben bei –80°C gelagert.

2.8.2.2 Milch

Fettextraktion:

Für die gravimetrische Bestimmung des Fettgehalts der Milch wurde die Methode von Brühl[8] und Matissek *et al.*[36] in modifizierter Form angewandt. Um eine homogene Verteilung des Fettes zu erreichen, wurden die bei Zimmertemperatur aufgetauten Milchproben in einem Wasserbad auf 38°C erwärmt[23]. Anschließend erfolgte die Fettextraktion in zwei Stufen. Dazu wurden 1 ml Muttermilch in ein 10-ml Glasröhrchen überführt und 100 µl Kaliumoxalatlösung, 1 ml Ethanol, 1 ml tert.-Butyl-methylether und 1ml Petrolether hinzugegeben. Nach jeder Zugabe von Chemikalien wurden die Proben gut geschüttelt und anschließend mit einer Zentrifugendrehzahl von 2000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Die hierbei gewonnene obere, organische Phase wurde in bereits abgewogene 4 ml-Braunglas-fläschen überführt und danach unter Stickstoffstrom eingeengt. In der zweiten Stufe der Fettextraktion wurde zu der verbliebenen Ethanolphase 1 ml tert.-Butyl-Methylether und 1ml Petrolether zugegeben. Nach gutem Schütteln und Zentrifugation (wie in Stufe eins) wurde die organische Phase dem vorher gewonnen Extrakt zugefügt und unter Stickstoffstrom eingengt. In einem Exsikkator wurde der Fettextrakt nun 24 Stunden lang getrocknet und anschließend die extrahierte Fettmenge ermittelt, indem die 4 ml-Braunglasfläschchen nochmals gewogen wurden. Somit konnte der Fettgehalt der Muttermilch (g Fett/ml Muttermilch) berechnet werden.

Fettsäurederivatisierung:

Nach Auflösung des extrahierten Fettes in 1 ml methanolischer HCl (3N), 1 ml Methanol und 0,5 ml Hexan wurden die gut umgeschwenkten Proben eine Stunde lang im Thermoblock bei 90°C erhitzt. Die gesamte Probe wurde nun in ein Schliffröhrchen überführt und 2 ml Aqua dest. und 3 ml Hexan + BHT (2 g/l) zugegeben. Von der hierbei gewonnenen Hexanphase wurden 200 µl in GC-Vials eingefüllt und bis zur gaschromatographischen Analyse bei -80°C gelagert.

2.8.3 Probenmessung

2.8.3.1 Gaschromatographie

Die quantitative Analyse der Fettsäuren in den Plasma- und Milchproben erfolgte mittels eines Gaschromatographen (Hewlett Packard 5890, Serie II, Hewlett Packard, Böblingen). Dieser war mit einem HP 7376 Autosampler, einem kalten split/splitless-Injektionssystem, mit einem Splitverhältnis 1:20 und einem Flammenionisationsdetektor (FID) ausgestattet. Das Probenvolumen von 3 µl wurde bei einer Temperatur von 250°C injiziert. Auch die Temperatur des Detektors betrug 250°C. Als mobile Phase diente Helium, dessen Startdruck von 1,0 bar während der Laufzeit des Chromatogramms um 0,02 bar/min erhöht wurde. Als Trennsäule wurde eine 50 m Silica- Kapillarsäule (BPX-70- Trennsäule, SGE GmbH, Weiterstadt) verwendet, die einen Innendurchmesser von 0,32 mm und eine polare Belegung aus Bicyanopropyl-Polysiloxan mit einer mittleren Schichtdicke von 0,25 µm besaß. Die Temperatur des Säulenofens betrug anfangs 130°C und wurde bei der Analyse zunächst mit 4°/min auf 180°C, danach mit 3°C/min von 180°C auf 200°C, und schließlich mit 1°C/min auf die konstante Endtemperatur von 210°C erhöht.
Durch den Vergleich der Retentionszeiten mit geeigneten Standardsubstanzen (GLC Reference Standard, GLC-85, Nu-Chek-Prep, Inc. Minnesota, USA) konnten die einzelnen peaks identifiziert werden. Nach Integration der Peakflächen und Bestimmung der Flächenprozente konnten die Gewichtsprozente (Gew. %) der Fettsäuren angegeben werden.

2.8.3.2 Massenspektrometrie

Der ^{13}C-Gehalt der Fettsäuren in den Plasma- und Milchproben sowie der $^{13}CO_2$-Gehalt der Atemproben wurde unter Verwendung eines Gaschromatographie-Verbrennungs-Isotopenverhältnis-Massenspektrometers (GC-C-IRMS), bestehend aus einem split/splitless Gaschromatographen Hewlett Packard 5890 series II) und einem Sektorfeld-massenspektrometer (Finnigan MAT delta S, Bremen, Deutschland), bestimmt. Nach Auftrennung der Fettsäuremethylester durch den Gaschromatographen wurden die Komponenten in der Reihenfolge ihrer Elution in einen Verbrennungsofen (900°C) mit Kupfer-, Nickeloxid- und Platindrähten eingeleitet. Unter Reduktion von Kupfer- und Nickeloxid wurden hier die Fettsäuremethylester zu CO_2 und H_2O oxidiert. Nach Entfernung des Wassers gelangten die zu CO_2 verbrannten Fettsäuren in die Ionenquelle des

Massenspektrometers. Dort wurde das CO_2 durch Elektronenstoß zu CO_2^- ionisiert und beschleunigt. Nach dem Heraustreten aus der Ionenquelle wurde das CO_2^- in ein Magnetfeld geleitet und entsprechend seiner Masse abgelenkt. Somit erfolgte die Auftrennung von $^{12}C^{16}O_2$ (Masse 44) und $^{13}C^{16}O_2$ (Masse 45) bzw. $^{12}C^{16}O^{17}O$ (Masse 45). Zur Detektion der Massenunterschiede wurden Faraday-Kollektoren verwendet, die fest auf die Massen 44, 45 und 46 eingestellt waren. Der durch die jeweilige Anzahl auftreffender Elektronen ausgelöste Strom wurde registriert. Das Verhältnis von CO_2 der Masse 45 zu CO_2 der Masse 44 wurde mit Hilfe der einer Komponente zuzuordnenden Intensitäten der verschiedenen Massen bestimmt. Da sowohl $^{13}C^{16}O_2$ als auch $^{12}C^{16}O\,^{17}O$ die Masse 45 besitzen, war eine Korrektur für den ^{17}O-Gehalt erforderlich. Nachdem der ^{17}O-Gehalt in einem festen Verhältnis zum ^{18}O-Gehalt steht, konnte dies durch die Analyse der Masse 47 ($^{13}C^{16}O^{18}O$) geschehen. Alle anderen Isotopomere von CO_2 konnten aufgrund der extrem geringen Wahrscheinlichkeit ihres Auftretens vernachlässigt werden.

2.9 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse

2.9.1 Atemproben

Die ^{13}C-Anreicherung in den Atemproben wurde in $\delta^{13}C$-Werten angegeben. Diese wurden durch Vergleich des gemessenen $^{13}C/^{12}C$-Verhältnisses mit dem internationalen PDB-Standard (Pee Dee Belemnite-Gestein, $^{13}C/^{12}C = 0{,}0112372$) ermittelt[11].
Die ^{13}C-Gehalte der Proben sind als Delta over Baseline- (DOB-) Werte angegeben. Diese stellen die Abweichung des gemessenen $\delta^{13}C$-Wertes vom Ausgangswert dar.

2.9.2 Muttermilch

Fettsäuregehalt:
Zur Bestimmung des prozentualen Anteils der einzelnen Fettsäuren (Gew.%) in der Muttermilch wurde die jeweils integrierte Fläche der einzelnen Fettsäurepeaks durch die Gesamtfläche aller Fettsäuren dividiert und mit 100 multipliziert:
Gew. % = (Fläche $_{FS}$/ Gesamtfläche) x 100

^{13}C- Anreicherung ($\delta^{13}C$-Werte):

Die Angabe der ^{13}C-Anreicherung in den einzelnen Fettsäuren erfolgte wie bei den Atemproben in $\delta^{13}C$-Werten.

2.9.3 Plasma

Fettsäurekonzentration:

Zur Berechnung der Fettsäure- Konzentrationen (K_{FS}) von Plasma-Phospholipiden, -Triglyceriden und -Cholesterolestern wurde folgende Formel benutzt:

K_{FS} [µg $_{FS}$/ ml Plasma] = (Fläche $_{FS}$ x 10) / {(Fläche C15:0) x (Plasma Einwaage [ml])}

Hierbei entsprach die Fläche des inneren Standards 40 µg C15:0 Methylester/ml Plasma.

Prozentualer Anteil der Fettsäuren (Gew. %):

Zusätzlich zur Konzentration der Fettsäuren wurde der prozentuale Gewichtsanteil der einzelnen Fettsäuren an der Summe aller gemessenen Fettsäuren berechnet. Dieses wurde analog zur Bestimmung des Fettsäuregehalts in der Muttermilch durchgeführt.

Berechnung der Tracerkonzentrationen (Tracer-^{13}C-Werte):

Die ^{13}C-Anreicherung ($\delta^{13}C$-Werte) wurde wie oben beschrieben berechnet. Um zusätzlich auch die Konzentration der Fettsäuren im Plasma zu berücksichtigen, wurden „Tracer -^{13}C-Werte“ (µmol/l) bestimmt. Diese Werte geben für jede Fettsäure an, wieviel µmol des aus dem Tracer stammenden ^{13}C in einer bestimmten Menge Plasma enthalten sind. Folgende Formeln wurden für die Berechnung der Tracer-^{13}C-Werte verwendet:

1. Berechung der in einem Liter Plasma enthaltenen mMol einer Fettsäure ($mMol_{FS}$):
   $mMol_{FS}$ [mmol/l] = $Plasmakonzentration_{FS}$ [mg/l] / $Molekulargewicht_{FS}$ [mg/mmol]

2. Berechnung der entsprechenden mMol C-Atome (C_{FS}):
   C_{FS} [mmol/l] = mMol · (n+1)
   n = Anzahl der C-Atome in der Fettsäure
   (Addition eines C-Atoms wegen Messung von Fettsäuremethylestern)

3. Berechnung des Anteils der aus dem Tracer stammenden ^{13}C-Atome an den gesamten C-Atomen der Fettsäure (Tracer-$^{13}C_{FS}$):
   Tracer-$^{13}C_{FS}$ [µmol/l] = C_{FS} [mmol/l] · APE_{FS} / 100 · 1000

APE = atom percent excess = $AP_x - AP_0$; Abweichung der Anreicherung der gemessenen Substanz von der natürlichen Anreicherung

AP = Atomprozent = $^{13}C/^{12}C$ /(1 + $^{13}C/^{12}C$) · 100

AP_x = Atomprozent zum Zeitpunkt x nach Tracergabe

AP_0 = Atomprozent vor Tracergabe (natürliche Anreicherung)

2.10 Statistische Methoden

Eine Fallzahl von n = 10 wurde als ausreichend geschätzt, um eine 40 %ige Differenz bei der primären Variable (DHA-Gehalt der Muttermilch) zu finden (Power 80 %, Fehlerwahrscheinlichkeit 5 %).

Zur Auswertung der Daten wurde das Programm „SPSS“ für Windows (Version 8.0, SPSS Inc., Chicago, USA, 1998) verwendet. Aufgrund der kleinen Gruppengrößen wurden zur Darstellung der Ergebnisse die Parameter Median, 25. und 75. Perzentile gewählt. Die statistische Analyse zum Vergleich der Gruppen bezüglich der Signifikanz wurde mit Hilfe des Monte Carlo-Tests durchgeführt. Es handelt sich hierbei um einen nichtparametrischen Test, der ähnlich dem Mann-Whitney-U-Test keine Normalverteilung voraussetzt, für kleine Stichproben besonders geeignet ist und auf der Verteilung von Rangplätzen basiert [1,37,39]. Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5% gewählt. Aufgrund der ersten Hypothese (Der Transfer von DHA zur Muttermilch und der Anteil von DHA an den Plasma- und Muttermilchlipiden ist in der DHASCO™-supplementierten Gruppe größer als in der Placebo-Gruppe.), wurde der statistische Test für die DHA einseitig durchgeführt, für alle anderen Parameter aber zweiseitig.

3 Ergebnisse

3.1 Studienteilnehmer

Von den 11 teilnehmenden Müttern gingen 10 in die Studienauswerung ein. Von ihnen wurden fünf dem DHASCO™-Supplement (Gruppe A) und fünf dem Placebo (Gruppe B) zugeteilt. Folgende Parameter wurden bezüglich signifikanter Unterschiede zwischen den beiden Gruppen getestet:

Mütter:

Alter, Größe, Gewicht (vor der Schwangerschaft, vor und nach Supplementierung), BMI, Anzahl der bisherigen Schwangerschaften und Menge der tatsächlich eingenommenen Kapseln.

Mit Ausnahme des Gewichts der Mütter vor Tracergabe [65,2 (64,2; 70,8) kg Gruppe A vs. 74,4 (70,7; 75,6) kg Gruppe B; p = 0,033] bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Kinder:

Größe, Gewicht (bei U1, U2 und U3), Kopfumfang (bei U2 und U3) und Trinkmenge.

Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zu anthropometrischen Daten und Trinkmengen bei den Säuglingen. Im Vergleich zu Referenzdaten von gesunden Säuglingen[30] zeigten die Säuglinge normale Werte für Gewicht, Größe und Kopfumfang.

In den Tabellen 2 und 3 sind die Daten und Meßwerte der Mütter und Kinder getrennt für die beiden Gruppen als Median, 25. und 75. Perzentile dargestellt.

Tabelle 2: Anthropometrische und klinische Daten der Mütter (Gruppe A = DHASCO™, n = 5; Gruppe B = Placebo, n = 5); Median, 25. und 75. Perzentile

	Gruppe	**Median**	**25. Perzentile**	**75. Perzentile**
Alter (Jahre)	A	30	26	33
	B	33	30	35
BMI (kg/m^2) (Gew.vor Suppl.)	A	23,4	21,3	24,0
	B	21,0	20,4	22,3
Gewicht vor Supplementierung (kg)	A	65,3*	64,9	72,2
	B	74,8*	71,6	76,4
Gewicht nach Supplementierung (kg)	A	65,2	64,6	70,8
	B	74,4	70,7	75,6
Gewicht vor Schwangerschaft (kg)	A	62,0	60,0	64,8
	B	63,0	63,0	65,3
Größe (m)	A	1,65	1,63	1,69
	B	1,75	1,69	1,77
Schwangerschaft (Anzahl unter Einschluß der Letzten)	A	1	1	1
	B	2	1	2
Anzahl eingenommener Kapseln (n)	A	27	25	28
	B	27	25	31

*: p = 0,033 (Gruppe A versus Gruppe B)

Tabelle 3: Anthropometrische Daten und Trinkmenge (in der 6. Lebenswoche) der Säuglinge; Median, 25. und 75. Perzentile

	Gruppe	**Median**	**25. Perzentile**	**75. Perzentile**
Trinkmenge (ml/d)	A	598	553	813
	B	645	545	754
U1: Gewicht (g)	A	3750	3380	3893
	B	3530	3420	3720
U1: Größe (cm)	A	53	51	56
	B	53	52	56
U2: Gewicht (g)	A	3500	3300	3668
	B	3500	3383	3578
U2: Größe (cm)	A	53	51	56
	B	53	52	56
U2: Kopfumfang (cm)	A	35	35	37
	B	36	36	37
U3: Gewicht (g)	A	4650	4290	4863
	B	4930	4500	5148
U3: Größe (cm)	A	55	55	56
	B	57	55	58
U3: Kopfumfang (cm)	A	38	37	39
	B	39	39	40

3.2 Ernährung der Mütter

Weder bei der Energiezufuhr, noch in den mit der Nahrung zugeführten Fettsäuren konnten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Auch der prozentuale Anteil an Kohlehydraten, Fett und Eiweiß unterschied sich zwischen den zwei Gruppen nicht signifikant.

Tabelle 4: Ernährung der Mütter (Median, 25. und 75. Perzentile)

	Gruppe	Median	25. Perzentile	75. Perzentile
Energie (kcal)	A	2409,4	1905,4	2454,8
	B	1816,6	1692,2	1900,5
Kohlehydrate (%)	A	51,0	42,5	52,5
	B	45,0	42,0	47,3
Kohlehydrate (g)	A	273,0	228,9	309,2
	B	202,1	174,5	223,8
Eiweiß (%)	A	15,0	11,8	16,0
	B	15,0	14,8	17,5
Eiweiß (g)	A	72,0	64,5	92,2
	B	70,1	67,6	75,4
Fett (%)	A	34,0	32,8	40,3
	B	39,0	37,8	40,0
Fett (g)	A	90,2	76,9	99,7
	B	76,7	74,0	83,6
20:3n-9 (mg)	A	52,5	32,1	92,1
	B	83,6	27,0	111,1
20:4n-6 (g)	A	0,15	0,10	0,18
	B	0,13	0,09	0,20
20:5n-3 (g)	A	0,01	0,01	0,02
	B	0,01	0,00	0,01
22:5n-3 (g)	A	0,03	0,02	0,05
	B	0,01	0,01	0,06
22:6n-3 (g)	A	0,05	0,04	0,12
	B	0,07	0,04	0,10
18:1n-9 (g)	A	27,6	23,9	30,2
	B	23,9	23, 7	25,9
18:2n-6 (g)	A	10,7	9,20	13,5
	B	6,5	6,13	6,8
18:3n3 (g)	A	1,3	1,2	1,7
	B	1,1	1,0	1,2
Gesättigte FS (g)	A	39,1	33,1	42,3
	B	35,2	34,2	39,8
Mehrfach unges. FS(g)	A	13,5	11,1	15,0
	B	8,4	7,5	8,5
Verhältnis PUFA/ges. FS	A	19,2	16,7	22,5
	B	12,9	11,2	19,1

3.3 Indirekte Kalorimetrie

Insgesamt nahmen 9 von 10 der in der Auswertung befindlichen Mütter an dieser Messung teil. Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich Ruheenergie und Energieumsatz zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.
Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse dieser Messung.

Tabelle 5: Ergebnisse der indirekten Kalorimetrie; Median, 25 und 75. Perzentile

	Median		**25. Perzentile**		**75. Perzentile**	
Gruppe	A (n = 5)	B (n = 4)	A (n = 5)	B (n = 4)	A (n = 5)	B (n = 4)
BMI (vor Suppl.)	23,4	21,0	21,3	20,4	24,0	22,3
REU	1450	1500	1435	1472	1470	1535
EU (pp)-REU	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,2
EU (n.)- REU	0,0	0,1	-0,1	0,0	0,1	0,2
CO_2- Produktion (n)	174	192	159	178	189	228
CO_2- Produktion (pp)	194	213	171	206	205	230

BMI = Body Mass Index (kg/m^2); REU = Ruheenergieumsatz (kcal/24h); EU = Energieumsatz (kcal/24h); CO_2- Produktion: (ml/min); n. = nüchtern; pp = postprandial

3.4 Oxidation

3.4.1 Delta over Baseline (DOB)-Werte im Atem CO_2

Für die Berechnung der Oxidation des verabreichten ^{13}C-Fettsäuregemisch (^{13}C-DHASCO™) wurde die postprandiale CO_2-Produktion herangezogen, die in der indirekten Kalorimetrie ermittelt worden war. Der DOB-Wert beschreibt die Abweichung der ^{13}C-Anreicherung im Atem- CO_2 vom Basis- bzw. Ausgangswert.
Während bei Gruppe A der maximale DOB-Wert eine Stunde nach Tracergabe zu finden ist, liegt er bei Gruppe B zwei Stunden nach Tracergabe. Die ^{13}C-Anreicherungen beider Gruppen kehrten 48 Stunden nach Tracergabe etwa wieder zu ihrem Ausgangswert zurück (Tab. 6 und Abb. 1).
Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen konnten ½ Stunde [18,2 (14,4; 21,3) $^0/_{00}$ Gruppe A vs. 3,9 (3,1; 8,7) $^0/_{00}$ Gruppe B; p= 0,033] und 1 Stunde

[22,5 (17,6; 24,0) $^{0}/_{00}$ Gruppe A vs. 14,2 (9,5; 20,0) $^{0}/_{00}$ Gruppe B; p = 0,040] nach Tracergabe nachgewiesen werden.

Tabelle 6: DOB-Werte im Atem- CO_2 ($^{0}/_{00}$) der stillenden Mütter in Guppe A und B; Median, 25. und 75. Perzentile

Zeit nach Tracergabe (h)	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
0,5	18,2 (14,4; 21,3)*	3,9(3,1; 8,7)*
1	22,5 (21,6; 25,9)#	14,2 (9,5; 20,0)#
1,5	20,5 (17,6; 24,0)	13,9 (9,3; 18,8)
2	18,0 (17,1; 23,0)	17,0 (15,7; 17,8)
3	15,7 (14,7; 19,0)	14,9 (12,8; 17,1)
4	14,3 (11,3; 15,9)	12,8 (10,6; 15,4)
5	9,2 (6,7; 11,3)	9,2 (7,9; 14,0)
6	6,1 (4,4; 8,3)	7,9 (5,8; 15,7)
7	4,7 (3,2; 5,8)	5,6 (4,8; 6,8)
8	3,0 (2,2; 4,6)	4,7 (3,1; 5,6)
9	2,6 (2,4; 3,9)	2,8 (2,7; 3,5)
10	2,7 (1,7; 3,4)	2,9 (2,0; 3,3)
11	2,3 (1,3; 3,1)	2,0 (1,7; 2,6)
12	2,2 (1,6; 3,0)	2,2 (1,9; 2,4)
24	1,6 (0,9; 4,0)	1,0 (0,8; 1,4)
30	0,8 (0,16; 2,05)	0,8 (0,6; 1,4)
36	0,7 (0,6; 1,6)	0,9(0,3; 1,1)
48	0,2 (0,0; 0,6)	0,2 (0,1; 0,4)

*: p = 0,033

#: p = 0,040

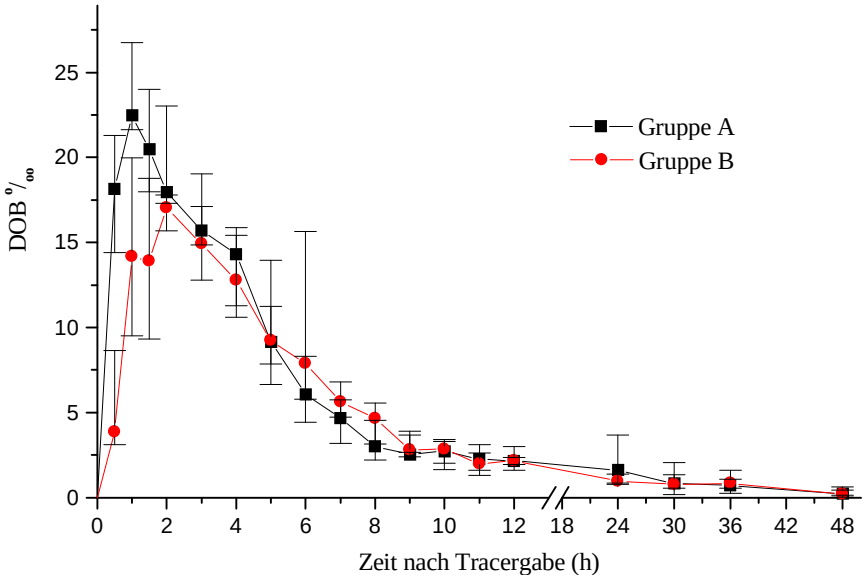

Abbildung 1: Zeitlicher Verlauf der DOB-Werte im Atem-CO_2; Median, 25. und 75. Perzentile

3.4.2 Prozentuale und kumulative Wiederfindung im Atem-CO_2

In Gruppe A lag die prozentuale Wiederfindung des ^{13}C im Atem-CO_2 pro Stunde im Verlauf der ersten beiden Stunden nach Tracergabe tendenziell höher als in Gruppe B. Im Gegensatz dazu waren die Verläufe ab 3h nach Tracergabe fast identisch (Abb. 2).

Die kumulative Wiederfindung von ^{13}C im Atem-CO_2 war innerhalb der ersten vier Stunden in Gruppe A tendenziell höher als in Gruppe B (Abb. 3). Ein signifikanter Unterschied konnte eine Stunde nach Tracergabe festgestellt werden [1,6 (1,4; 1,8) % Gruppe A vs. 0,8 (0,4; 1,2) % Gruppe B; p = 0,033].

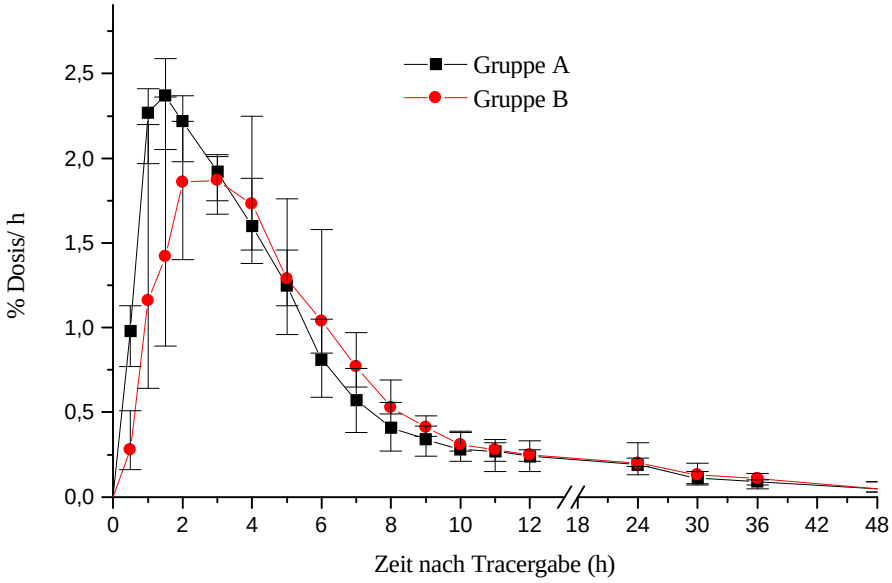

Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der prozentualen ^{13}C-Wiederfindung im Atem-CO_2 (Median, 25. und 75. Perzentile)

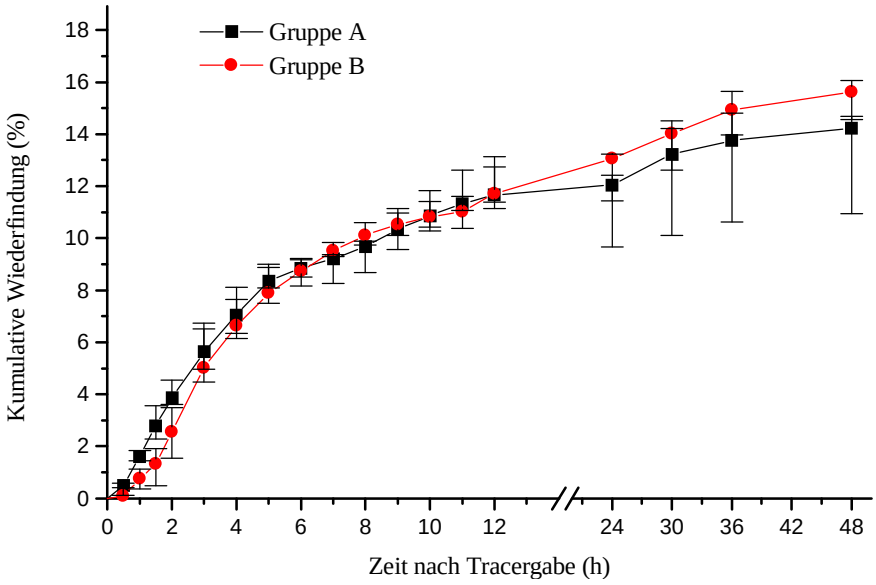

Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf der kumulativen ^{13}C-Wiederfindung im Atem-CO_2 (Median, 25. und 75. Perzentile)

3.5 Muttermilch

3.5.1 Volumen und Fettgehalt der Muttermilch

An den Studientagen 14 und 15 wurde die Gesamtmenge der sezernierten Muttermilch durch Addition der vom Säugling getrunkenen Milchmenge und der für die Laboruntersuchungen abgenommenen Probenmengen bestimmt (Tab.7). Trinkmenge und Gesamtmenge der Muttermilch in Gruppe A und B zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 7: Trinkmenge des Säuglings und Gesamtmenge Muttermilch; Median, 25. und 75. Perzentile

	Gruppe A (DHASCO™)	**Gruppe B (Placebo)**
Trinkmenge Sgl. (ml/d)	598 (553; 813)	645 (545; 754)
Gesamtmenge (ml/d)	656 (585; 729)	662 (565; 766)

Die Muttermilch beider Gruppen hatte am Tag 0, d.h. vor Beginn der Supplementierung bzw. Placebogabe, tendenziell einen etwas geringeren Fettgehalt im Vergleich zu späteren Zeitpunkten. Der Fettgehalt der supplementierten Gruppe (Gruppe A) lag im Durchschnitt unter dem der Placebogruppe (Gruppe B). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand aber zu keinem Zeitpunkt (Tab. 8).

Tabelle 8: Fettgehalt der Muttermilch (g Fett/100ml Milch); Median, 25. und 75. Perzentile

Zeit	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
Tag 0	2,60 (2,18; 4,25)	3,50 (2,00; 5,70)
Tag 14, vor Tracergabe	3,90 (2,58; 5,25)	4,20 (3,65; 4,38)
6h nach Tracergabe	3,50 (3,25; 4,15)	4,70 (3,83; 5,03)
12h nach Tracergabe	3,70 (3,08; 4,53)	4,30 (3,15; 4,63)
24h nach Tracergabe	3,30 (3,00; 3,83)	4,20 (3,95; 4,30)
36h nach Tracergabe	3,90 (3,08; 5,33)	4,00 (3,33; 5,08)
48h nach Tracergabe	3,40 (2,93; 3,90)	4,10 (2,93; 4,63)

3.5.2 Fettsäurezusammensetzung

Es konnten insgesamt 38 Fettsäuren in der Muttermilch bestimmt werden. Eine Tabelle, die einen Überblick über die Fettsäurezusammensetzung (Gew. %) der beiden Studiengruppen vor und nach Supplementierung gibt, befindet sich im Anhang (Tabelle I).

Mit Ausnahme der Docosahexaensäure bestand zu keinem Zeitpunkt ein statistisch signifikanter Unterschied in der Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch zwischen den Gruppen.

In Gruppe A zeigte sich nach der zweiwöchigen Gabe von DHASCO™ (= 200 mg DHA/Tag) ein ca. 1,8 mal höherer Anteil der DHA in der Muttermilch als in Gruppe B. Dieser Unterschied war statistisch signifikant: 0,37 (0,34; 0,40) Gew.% Gruppe A vs. 0,21 (0,19; 0,23) Gew.% Gruppe B; p = 0,003. Auch zu den nachfolgenden Zeitpunkten der Probenentnahme blieb der Anteil der DHA in der Muttermilch der Gruppe A statistisch signifikant höher als in der Gruppe B (Tab. 9 und Abb. 4). Zunächst kam es nach der DHA-Gabe in beiden Gruppen zum Ansteigen der DHA in der Muttermilch. Die DHA-Spiegel in der Muttermilch blieben dann 24, 36 und 48 Stunden nach Tracergabe auf recht stabilem Niveau.

Tabelle 9: DHA-Gehalt (Gew.%) der Muttermilch; Median, 25. und 75. Perzentile

Zeit	**Gruppe**		**p**
	A (DHASCO™)	B (Placebo)	
Tag 0	0,29 (0,27; 0,42)	0,28 (0,25; 0,28)	n.s.
Tag 14, vor Tracergabe	0,37 (0,34; 0,40)	0,21 (0,19; 0,23)	0,003
6h nach Tracergabe	0,44 (0,38; 0,48)	0,23 (0,23; 0,27)	0,004
12h nach Tracergabe	0,40 (0,38; 0,44)	0,27 (0,25; 0,28)	0,005
24h nach Tracergabe	0,33 (0,31; 0,37)	0,23 (0,23; 0,26)	0,033
36h nach Tracergabe	0,33 (0,31; 0,37)	0,23 (0,21; 0,28)	0,012
48h nach Tracergabe	0,32 (0,29; 0,35)	0,22 (0,20; 0,26)	0,017

p: Signifikanzniveau

n.s.: nicht signifikant

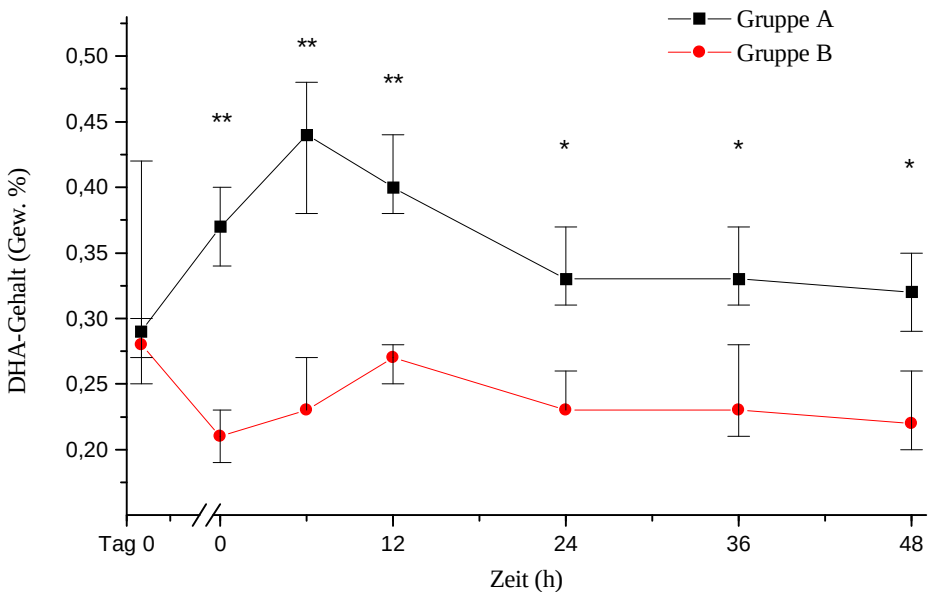

Abbildung 4: DHA-Gehalt (Gew.%) der Muttermilch; Median, 25. und 75. Perzentile
*: p< 0,05; **: p< 0,01

3.5.3 ^{13}C-Anreicherung der markierten Fettsäuren

Durch die GC-C-IRMS-Messung konnten Fettsäuren, deren Kettenlänge aus mehr als 14 C-Atomen besteht, hinsichtlich der ^{13}C-Anreicherung gemessen werden. Es konnte für sieben aus dem ^{13}C-DHASCO™ Tracer stammenden Fettsäuren (C14:0, C16:0, C16:1n-7, C18:0, C18:1n-9, C22: 5n-3, C 22: 6n-3) die Anreicherung nach oraler Tracergabe in der Muttermilch bestimmt werden. Tabelle 10 zeigt die sechs Fettsäuren, die 12 Stunden nach Tracergabe ihr Maximum in der ^{13}C-Anreicherung (DOB max) erreichten.

Tabelle 10: Fettsäuren mit maximaler Anreicherung 12 Stunden nach Tracergabe (Median, 25. und 75. Perzentile) und ihr Anteil im Tracer

Fettsäure	**DOB max ($^{0}/_{00}$)**	**Tracer (Gew.%)**
C14:0	5,7 (4,0; 7,5)	18,1-19,6
C16:0	13,9 (8,5; 17,1)	9,0-13,2
C16:1n-7	9,0 (5,3; 10,2)	0,9-1,0
C18:1n-9	7,1 (4,3; 9,1)	5,1-7,4
C22:5n-3	62,7 (41,4; 84,1)	0,2-0,4
C22:6n-3	4797,7 (3191; 5641)	49,3-55,4

Für die Stearinsäure (C18:0) wurde ein maximales DOB 6, 12 und 24 Stunden nach Tracergabe erreicht (0,37- 2,64 $^{0}/_{00}$). Die Anreicherung lag jedoch nahe der Detektionsgrenze und konnte 36 und 48 Stunden nach Tracergabe nicht mehr nachgewiesen werden.
Zusätzlich zu diesen sieben aus dem Tracer stammenden Fettsäuren wurde die ^{13}C-Anreicherung für C15:0, C18:2n-6, C18:3n-3, C20:3n-3 und C20:4n-6 gemessen. Diese Fettsäuren zeigten keinen Anstieg in der ^{13}C-Anreicherung.
Nur die Fettsäuren, die mit mehr als 5 Gew.% im Tracer vertreten waren, wurden für die statistische Auswertung herangezogen: C14:0, C16:0, C18:1n-9 und C22:6n-3.

3.5.4 ^{13} C-Anreicherung der DHA

Die beiden Gruppen zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Anreicherung ^{13}C-markierter DHA in der Muttermilch. In Tabelle 11 ist die ^{13}C-Anreicherung der DHA im zeitlichen Verlauf nach Tracergabe dargestellt. Beide Gruppen erreichten 12 Stunden nach Tracergabe ihre maximale Anreicherung.

Tabelle 11: ^{13}C-Anreicherung der DHA (DOB-Werte): Median, 25. und 75. Perzentile
(zwischen den Gruppen bestehen keine statistisch signifikanten Unterschiede)

Zeit nach Tracergabe (h)	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
6	2166 (1262; 5413)	2687 (2112; 3113)
12	4111 (2917; 5510)	5641 (3618; 5984)
24	2891 (2240; 3197)	3628 (3052; 3734)
36	1502 (1100; 1803)	1890 (1437; 2158)
48	1003 (961; 1459)	1059 (989; 1687)

In Gruppe B wurde zu allen Zeitpunkten tendenziell eine etwas höhere ^{13}C-Anreicherung der DHA gemessen, was aber aufgrund der großen interindividuellen Unterschiede statistisch nicht signifikant war.
Die relative Wiederfindung (Anreicherung, ausgedrückt als Prozent der aufgenommenen Tracerdosis) der DHA in der Muttermilch wurde für beide Gruppen bestimmt (Tab. 12). Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte zu keinem Zeitpunkt nach Tracergabe festgestellt werden. Dies galt ebenso für die kumulative Wiederfindung von DHA nach 48 Stunden (Tab. 13 und Abb. 5), die für Gruppe A und B im Median etwa bei 9 % bzw. 8 % lag.

Tabelle 12: Relative Wiederfindung (% Dosis) von ^{13}C-DHA in der Muttermilch; Median, 25. und 75. Perzentile

Zeit nach Tracergabe (h)	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
6	0,96 (0,74; 2,88)	0,95 (0,63; 1,14)
12	1,75 (1,46; 2,52)	1,64 (1,45; 2,12)
24	1,87 (1,83; 2,14)	2,37 (2,01; 2,54)
36	1,57 (1,34; 1,75)	1,50 (1,08; 1,80)
48	1,11 (0,99; 1,40)	0,78 (0,75; 1,27)

Tabelle 13: Kumulative Wiederfindung (% Dosis) von ^{13}C-DHA in der Muttermilch; Median, 25. und 75. Perzentile

Zeit nach Tracergabe (h)	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
6	0,96 (0,74; 2,88)	0,95 (0,63; 1,14)
12	2,72 (2,21; 5,41)	2,56 (2,10; 3,41)
24	5,57 (4,04; 7,29)	5,45 (4,26; 5,65)
36	7,71 (5,62; 8,63)	6,96 (5,70; 7,44)
48	9,09 (6,97; 9,67)	8,03 (6,44; 8,49)

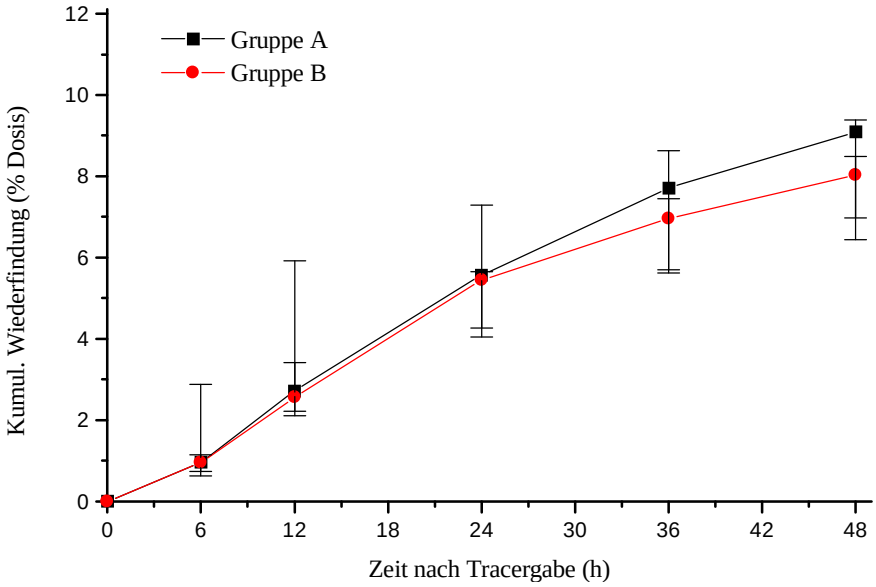

Abbildung 5: Kumulative Wiederfindung (% Dosis) von ^{13}C-DHA in der Muttermilch; Median, 25. und 75. Perzentile

3.5.5 ^{13}C-Anreicherung von Myristin-, Palmitin- und Ölsäure

Da im Tracer neben der DHA auch andere Fettsäuren ^{13}C-markiert waren, konnten wir auch für die Myristin- (C14:0), Palmitin- (C16:0) und Ölsäure (C18:1n-9) die relative und kumulative Wiederfindung berechnen (Tab.14 und Tab.15). Das ermöglichte uns, die Gruppen A und B auch bezüglich der Sekretionsmuster dieser Fettsäuren zu vergleichen. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich der Sekretion von Myristin-, Palmitin- und Ölsäure festgestellt werden.

Die maximale Wiederfindung in der Muttermilch wurde für die Palmitinsäure nach 12 Stunden und für die Myristin- und Ölsäure nach 24 Stunden gemessen. Es fällt auf, daß Myristinsäure in viel geringeren Mengen als Palmitin-, Öl- und Docosahexaensäure in die Muttermilch sezerniert wurde. Dieser Unterschied ist von statistischer Signifikanz ($p < 0{,}0001$, für Gruppe A und B zusammengefaßt).

Zum Vergleich der ^{13}C- Anreicherung aller Fettsäuren ist in Abbildung 6 die relative Wiederfindung von C14:0, C16:0, C18:1n-9 und C 22:6n-3 dargestellt. Mit Ausnahme der

deutlich geringeren Sekretion von C14:0 gegenüber C16:0, C18:1n-9 und C22:6n-3 fanden sich keine Unterschiede zwischen der Fettsäuresekretion in die Muttermilch.

Tabelle 14: Relative Wiederfindung (% Dosis) von C14:0, C16:0 und C18:1n-9 in der Muttermilch; Median, 25. und 75. Perzentile

Fettsäure	**Zeit nach Tracergabe (h)**	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
C14:0	6	0,13 (0,05; 0,19)	0,10 (0,05; 0,16)
	12	0,19 (0,08; 0,24)	0,17 (0,10; 0,24)
	24	0,15 (0,11; 0,19)	0,19 (0,14; 0,26)
	36	0,07 (0,03; 0,17)	0,13 (0,06; 0,18)
	48	0,08 (0,03; 0,24)	0,08 (0,04; 0,22)
C16:0	6	1,15 (0,90; 2,62)	1,10 (0,89; 1,84)
	12	2,17 (1,69; 2,35)	2,10 (1,82; 2,41
	24	1,85 (1,53; 2,24)	1,86 (1,64; 2,91)
	36	1,46 (0,72; 1,84)	1,21 (0,82; 1,74)
	48	1,00 (0,64; 1,23)	0,74 (0,55; 1,06)
C18:1n-9	6	1,46 (1,28; 2,53)	1,41 (1,04; 2,33)
	12	2,29 (2,21; 2,79)	2,35 (2,06; 3,02)
	24	2,56 (1,48; 3,91)	2,67 (1,51; 3,73)
	36	1,76 (0,40; 2,66)	1,56 (0,54; 2,20)
	48	1,23 (0,05; 2,02)	0,50 (0,04; 1,23)

Tabelle 15: Kumulative Wiederfindung (% Dosis) von C14:0, C16:0 und C18:1n-9 in der Muttermilch nach 48 Stunden; Median, 25. und 75. Perzentile

Fettsäure	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
C14:0	0,49 (0,42; 0,85)	0,79 (0,67; 0,87)
C16:0	7,40 (6,43; 9,10)	8,14 (5,93; 8,38)
C18:1n-9	9,14 (8,43; 11,90)	9,97 (5,75; 10,60)

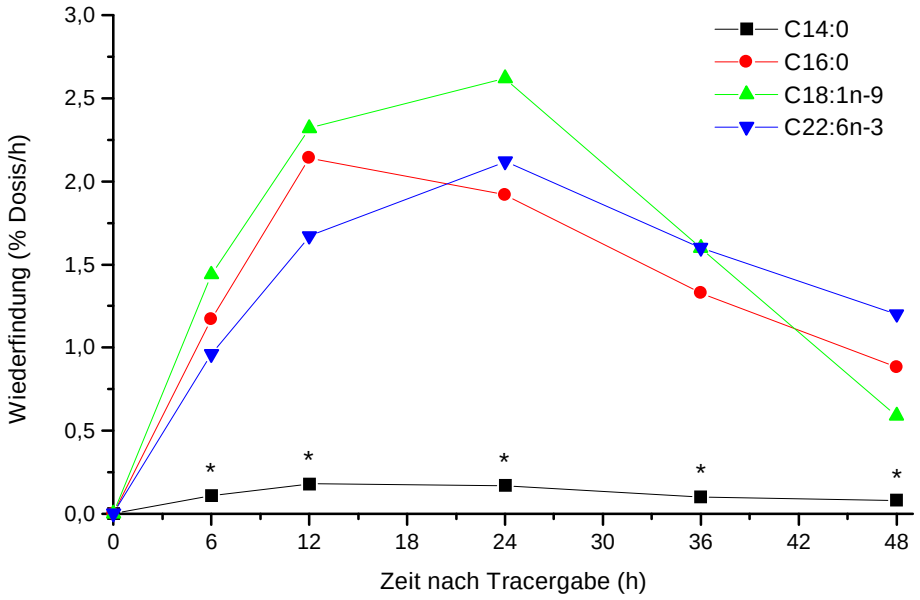

Abbildung 6: Zeitlicher Verlauf der relativen Wiederfindung ^{13}C-markierter Fettsäuren in der Muttermilch (Median; *: p< 0,001)

3.6 Plasma

3.6.1 Fettsäurekonzentrationen

Die im Plasma enthaltenen Fettsäuren wurden getrennt für die drei Lipidfraktionen bestimmt. In der folgenden Tabelle (Tab.16) sind die Gesamtkonzentrationen (µg/ml Plasma) der in den Phospholipiden (PL), Triglyceriden (TG) und Cholesterolester (CE) enthaltenen Fettsäuren vergleichend dargestellt.

Tabelle 16: Gesamtfettsäurekonzentrationen im Plasma (µg/ml); Median, 25. und 75. Perzentile

Zeit nach Tracergabe (h)	Lipid-fraktion	Gruppe	Median	25. Perzentile	75. Perzentile
0	PL	A	1538	1342	1888
		B	1546	1598	1723
	TG	A	457	334	687
		B	470	436	829
	CE	A	704	652	774
		B	767	722	940
6	PL	A	1441	1415	1967
		B	1576	1505	1725
	TG	A	614	339	1451
		B	917	844	1453
	CE	A	771	655	943
		B	865	739	940
12	PL	A	1652	1527	1859
		B	1706	1616	1823
	TG	A	796	782	1040
		B	1127	647	1347
	CE	A	753	648	895
		B	756	736	850
24	PL	A	1541	1455	1710
		B	1598	1455	1710
	TG	A	514	321	654
		B	1045	619	1291
	CE	A	738	629	901
		B	843	709	960

3.6.1.1 Phospholipide

Die Gesamtkonzentration der Phospholipide zeigte, abgesehen von einem geringen Anstieg 12 Stunden nach Tracergabe, über den Beobachtungszeitraum von 24 Stunden einen relativ konstanten Verlauf. Zu keinem Zeitpunkt konnte ein signifikanter Unterschied der Gesamtkonzentration der Phospholipide zwischen den Gruppen festgestellt werden.

3.6.1.2 Triglyceride

In dieser Lipidfraktion konnte ein maximaler Anstieg der Gesamtfettsäurekonzentration bis 6 Stunden nach Tracergabe gemessen werden. Zu diesem Zeitpunkt war die Konzentration der Triglyceride beinahe zweimal höher als der Ausgangswert. Danach zeigten die Triglyceridkonzentrationen eine kontinuierliche Abnahme und erreichten nach etwa 24 Stunden wieder das Niveau der Ausgangswerte.
Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht signifikant in ihrer Gesamtkonzentration der Plasmatriglyceride. Tendenziell wurden in Gruppe A eher geringere Werte als in Gruppe B beobachtet.

3.6.1.3 Cholesterolester

Ähnlich wie bei den Phospholipiden zeigte auch die Lipidfraktion der Cholesterolester einen recht konstanten Verlauf der Gesamtfettsäurekonzentration.

Da die beiden Gruppen hinsichtlich der Plasmafettsäurekonzentration nicht signifikant verschieden waren, wurden im Folgenden die Meßwerte aller Mütter zusammengefaßt und der zeitliche Verlauf der Konzentrationen getrennt für die drei Lipidfraktionen graphisch (Abb. 7) und tabellarisch (Tab.17) dargestellt.

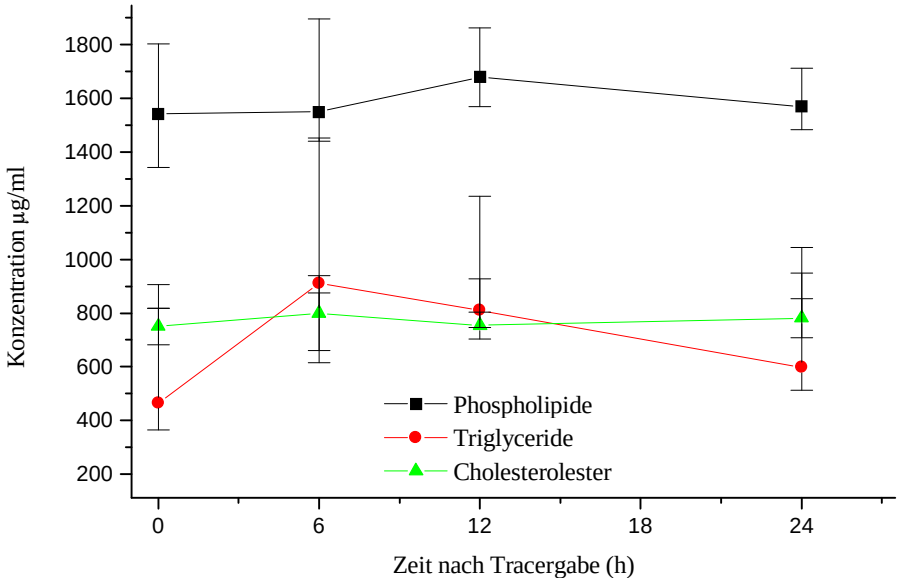

Abbildung 7: Gesamtfettsäurekonzentration der Phospholipide, Triglyceride und Cholesterolester im Plasma (µg/ml); Median, 25. und 75. Perzentile

Tabelle 17: Gesamtfettsäurekonzentration der Phospholipide, Triglyceride und Cholesterolester im Plasma (µg/ml); Median, 25. und 75. Perzentile

Zeit nach Tracergabe (h)	**Lipid-fraktion**	**Median**	**25. Perzentile**	**75. Perzentile**
0	PL	1542	1343	1803
	TG	465	366	818
	CE	751	683	907
6	PL	1549	1441	1896
	TG	912	614	1452
	CE	800	661	874
12	PL	1679	1569	1752
	TG	811	748	1234
	CE	755	705	928
24	PL	1569	1483	1712
	TG	580	514	1043
	CE	781	708	950

3.6.1.4 DHA-Konzentration in Phospholipiden, Triglyceriden und Cholesterolestern

In Tabelle 18 ist der Anteil der DHA an den einzelnen Lipidfraktionen und, falls gegeben, der statistisch signifikante Unterschied zwischen den Gruppen dargestellt.

Tabelle 18: DHA-Konzentration (µg/ml) der Phospholipide (PL), Triglyceride (TG) und Cholesterolester (CE) im Plasma; Median, 25. und 75. Perzentile

Lipid-fraktion	**Zeit nach Tracergabe (h)**	**Gruppe**		**p**
		A (DHASCO™)	B (Placebo)	
PL	0	58,9 (38,8; 70,6)	35,3 (30,8; 39,8)	0,008
	6	59,5 (41,5; 68,3)	39,9 (31,6; 45,6)	n.s.
	12	55,6 (41,5; 67,2)	39,9 (33,5; 42,8)	0,048
	24	55,6 (41,1; 65,9)	36,0 (35,5; 42,1)	n.s.
TG	0	3,7 (2,7; 5,7)	1,4 (1,1; 3,1)	n.s.
	6	3,1 (2,6; 4,8)	3,6 (1,2; 3,9)	n.s.
	12	3,1 (2,6; 4,8)	3,6 (1,2; 3,9)	n.s.
	24	2,9 (2,3; 4,9)	2,8 (1,8; 4,2)	n.s.
CE	0	5,3 (2,7; 6,0)	3,5 (3,1; 4,1)	n.s.
	6	5,2 (3,0; 6,3)	3,3 (3,0; 4,7)	n.s.
	12	4,7 (2,9; 6,3)	3,8 (3,3; 4,2)	n.s.
	24	4,8 (2,8; 6,0)	3,6 (3,2; 4,3)	n.s.

p: Signifikanznieveau; n.s.: nicht signifikant

3.6.2 Prozentuale Fettsäurezusammensetzung im Plasma

Die im Anhang enthaltenen Tabellen (Tabelle II, III, IV) zeigen den prozentualen Anteil der einzelnen Fettsäuren (Gew. %) innerhalb der verschiedenen Lipidfraktionen zu den jeweiligen Meßzeitpunkten. Zur besseren Übersichtlichkeit wurde auf die Angabe der 25. und 75. Perzentile verzichtet und nur der Median dargestellt.

3.6.2.1 Phospholipide

Für die DHA bestand zu jedem Zeitpunkt ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Abb. 8).

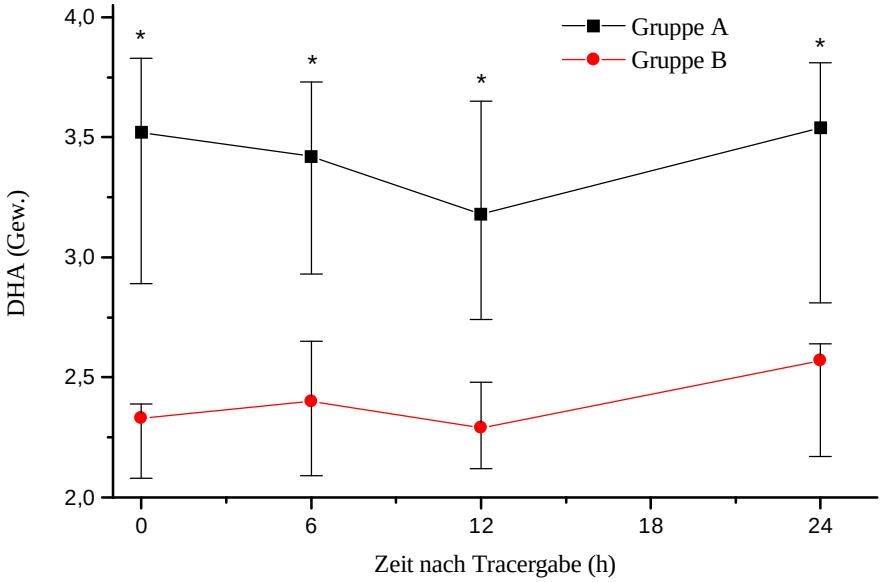

Abbildung 8: DHA-Gehalt der Plasma-Phospholipide (Gew.%); Median, 25. und 75. Perzentile (*: $p < 0,05$)

In der Folge ergaben sich auch für die Summe der n-3 LCP-Fettsäuren, die Summe der n-3-Fettsäuren sowie für den jeweiligen Quotienten mit n-6 Fettsäuren signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die statistisch signifikanten Unterschiede sind in Tabelle 19 aufgeführt.

Tabelle 19: Statistisch signifikante Unterschiede in den Plasma-Phospholipiden (Gew.%); Median, 25. und 75. Perzentile

Fettsäuren (Gew.%)	**Zeit nach Tracergabe (h)**	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**	**p**
C22:6n-3	0	3,52 (2,89; 3,83)	2,33 (2,08; 2,39)	0,004
	6	3,42 (2,93; 3,73)	2,40 (2,09; 2,65)	0,008
	12	3,18 (2,74; 3,65)	2,29 (2,03; 2,39)	0,004
	24	3,54 (2,81; 3,81)	2,57 (2,17; 2,64)	0,004

Fettsäuren (Gew.%)	Zeit nach Tracergabe (h)	Gruppe A (DHASCO™)	Gruppe B (Placebo)	p
∑ n-3 LCP	0	4,94 (4,37; 5,29)	3,74 (3,62; 4,04)	0,008
	6	4,93 (4,40; 5,15)	4,09 (3,74; 4,20)	0,031
∑ n-3	0	5,09 (4,55; 5,49)	3,95 (3,84; 4,23)	0,007
n-6/n-3	0	7,38 (6,65; 7,62)	8,96 (7,91;9,90)	0,031
n-6 LCP/n-3 LCP	0	3,28 (2,77; 3,37)	3,85 (3,52;4,11)	0,007

p: Signifikanzniveau

3.6.2.2 Triglyceride

Auch in dieser Lipidfraktion fanden sich für die DHA (Abb. 9), aber auch für verschiedene andere Fettsäuren signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Tab. 20). In der mit DHASCO™ supplementierten Gruppe war der DHA-Gehalt etwa 1,5 - 3fach höher als in der Placebo-Gruppe.

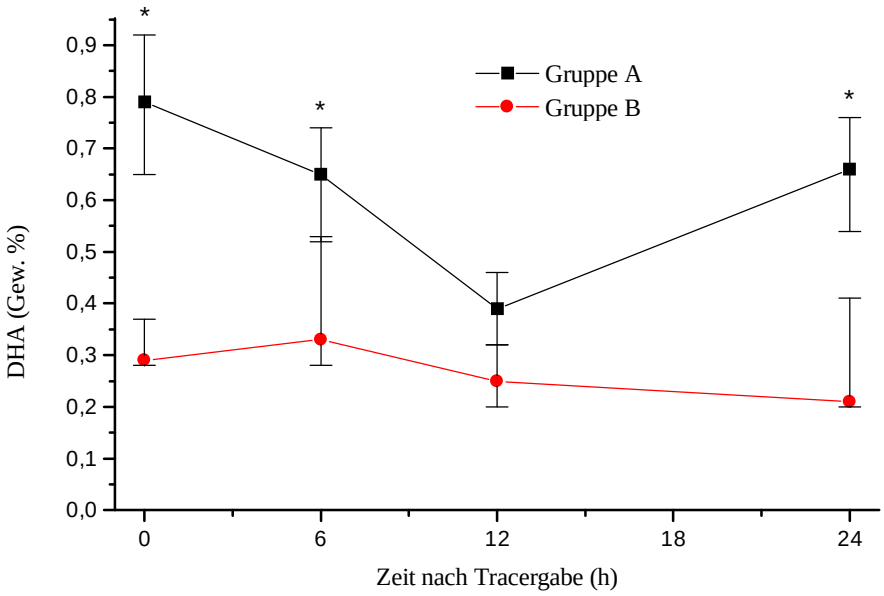

Abbildung 9: DHA-Gehalt der Plasma-Triglyceride (Gew.%); Median, 25. und 75. Perzentile (*: $p < 0,05$)

Tabelle 20: Statistisch signifikante Unterschiede in den Plasma-Triglyceriden (Gew.%); Median, 25. und 75. Perzentile

Fettsäure (Gew.%)	Zeit nach Tracergabe (h)	Gruppe A (DHASCO™)	Gruppe B (Placebo)	p
C14:1n-5	0	0,21 (0,00; 0,26)	0,39 (0,34; 0,50)	0,047
	12	0,15 (0,13; 0,38)	0,51 (0,40; 0,76)	0,033
C18:0	0	3,78 (3,61; 4,04)	4,63 (4,34; 5,45)	0,033
	24	4,62 (3,37; 5,25)	5,71 (5,38; 7,61)	0,033
C18:1n-7	12	2,08 (1,90; 2,21)	1,63 (1,52; 1,76)	0,033
C20:3n-6	0	0,36 (0,34; 0,39)	0,25 (0,24; 0,28)	0,008
C22:5n-3	0	0,48 (0,47; 0,59)	0,28 (0,24; 0,35)	0,008
	24	0,39 (0,33; 0,84)	0,24 (0,20; 0,29)	0,023
C22:6n-3	0	0,79 (0,65; 0,92)	0,29 (0,27; 0,37)	0,003
	6	0,65 (0,52; 0,74)	0,33 (0,28; 0,53)	0,029
	24	0,66 (0,54; 0,76)	0,21 (0,20; 0,41)	0,003
∑ n-6 LCP	0	2,80 (2,60; 3,09)	2,22 (1,88; 2,44)	0,033
	12	2,16 (2,00; 2,40)	1,73 (1,53; 1,81)	0,007
∑ n-6	24	20,02 (18,34; 20,45)	15,51 (13,24; 15,72)	0,016
∑ n-3 LCP	0	1,55 (1,46; 1,78)	0,82 (0,78; 0,91)	0,007
	6	1,16 (0,98; 1,33)	0,84 (0,60; 0,89)	0,042
∑ n-3	0	2,62 (2,29; 2,72)	1,69 (1,51; 1,97)	0,033
∑ PUFA	24	22,09 (20,83; 22,82)	17,00 (14,84; 17,52)	0,016
Gesättigte FS	24	34,66 (31,63; 36,42)	43,43 (38,86; 43,92)	0,007

p: Signifikanzniveau

3.6.2.3 Cholesterolester

Insgesamt zeigten die beiden Gruppen in der Fettsäurezusammensetzung der Plasma-Cholesterolester keine großen Unterschiede. In der Gruppe A wurde ein höherer Anteil an DHA gemessen als in Gruppe B, was aber nur zu einem Zeitpunkt (6 Stunden nach Tracergabe) statistisch signifikant war [0,62 (0,47; 0,66) Gew.% Gruppe A vs. 0,41 (0,38; 0,48) Gew. % Gruppe B; p = 0,029]. Der DHA-Gehalt in den Plasmacholesterolestern ist in Abbildung 10 dargestellt.

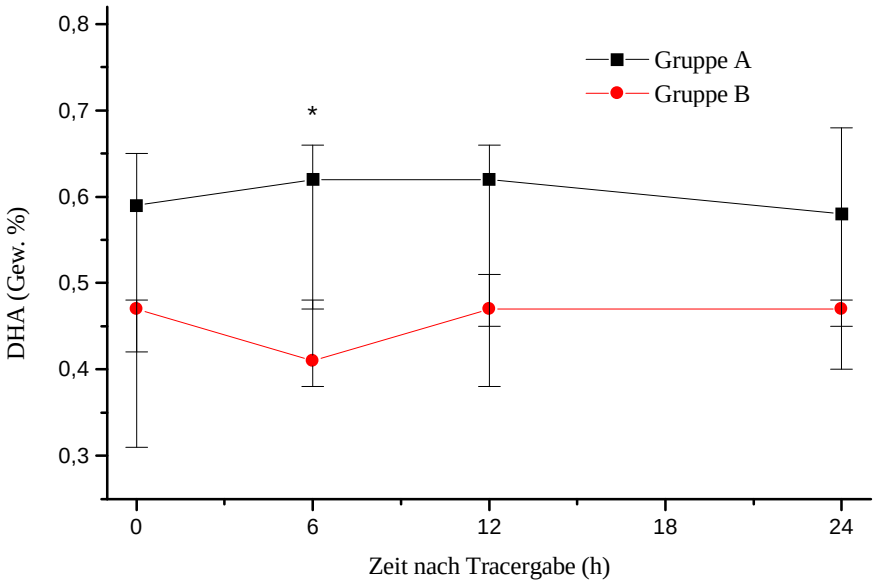

Abbildung 10: DHA-Gehalt der Plasma-Cholesterolester Gew. %; Median, 25. und 75. Perzentile (*: p = 0,029)

3.6.3 ^{13}C-Anreicherung der markierten Fettsäuren im Plasma

Im Folgenden sind die Ergebnisse der GC-C-IRMS-Messung tabellarisch, getrennt nach einzelnen Lipidfraktionen, dargestellt (Tab. 21-23). Angegeben ist der „Tracer-^{13}C-Wert“ (µmol/l), der zusätzlich zur Anreicherung die Konzentration der einzelnen Fettäuren im Plasma berücksichtigt (siehe 2.9.3).
Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden. Im Vergleich zu C16:0, C18:1n-9 und C22:5n-3 lagen für C22:6n-3 (DHA) v.a. in den Plasma-Phospholipiden deutlich höhere Tracerkonzentrationen vor.

3.6.3.1 Phospholipide

Die gemessenen Fettsäuren (C16:0, C18:1n-9, C22:5n-3 und C22:6n-3) zeigten einen ähnlichen Verlauf in ihrer ^{13}C-Anreicherung (Tab. 21). Ihre maximale Anreicherung lag durchschnittlich 12 Stunden nach Tracergabe vor. Im Folgenden nahm die

Tracerkonzentration in den Fettsäuren ab, lag aber 24 Stunden nach Tracergabe immer noch deutlich über den Basalwerten.

Tabelle 21: Tracerkonzentrationen (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) von C16:0, C18:1n-9, C22:5n-3 und C22:6n-3 in den Plasma-Phospholipiden; Median, 25. und 75. Perzentile

Fettsäure	**Zeit nach Tracergabe (h)**	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
C16:0	6	2,42 (1,95; 2,85)	1,51 (1,38; 3,77)
	12	2,70 (2,14; 2,84)	2,49 (2,10; 4,78)
	24	1,85 (1,33; 4,50)	1,93 (1,56; 3,28)
C18:1n-9	6	0,72 (0,70; 1,07)	0,53 (0,23; 0,76)
	12	0,79 (0,72; 1,06)	0,58 (0,43; 0,90)
	24	0,44 (0,40; 0,72)	0,54 (0,31; 0,57)
C22:5n-3	6	0,11 (0,08; 0,13)	0,05 (0,03; 0,13)
	12	0,10 (0,06; 0,45)	0,12 (0,08; 0,16)
	24	0,09 (0,06; 0,26)	0,19 (0,14; 0,21)
C22:6n-3	6	21,21 (12,22; 32,28)	22,02 (16,29; 24,07)
	12	24,20 (19,83; 34,40)	28,01 (24,21; 36,58)
	24	20,42 (16,47; 31,92)	23,73 (10,59; 31,27)

3.6.3.2 Triglyceride

Hier lagen die maximalen ^{13}C-Anreicherungen der gemessenen Fettsäuren (C14:0, C16:0, C22:5n-3 und C22:6n-3) bereits 6 Stunden nach Tracergabe. Danach fielen die Tracerkonzentrationen ab und näherten sich 24 Stunden nach Tracergabe ihrem Basalwert (Tab. 22).

Tabelle 22: Tracerkonzentrationen (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) von C14:0, C16:0, C22:5n-3 und C22:6n-3 in den Plasma-Triglyceriden; Median, 25. und 75. Perzentile

Fettsäure	**Zeit nach Tracergabe (h)**	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
C14:0	6	2,38 (0,51; 4,60)	5,15 (2,46; 8,75)
	12	0,31 (0,14; 1,70)	1,33 (0,46; 1,69)
	24	0,06 (0,23; 0,27)	0,18 (0,01; 0,96)
C16:0	6	2,46 (0,78; 4,09)	6,00 (3,83; 7,14)
	12	0,65 (0,26; 1,92)	1,40 (1,28; 1,46)
	24	0,22 (0,14; 0,59)	0,47 (0,34; 1,24)
C22:5n-3	6	0,13 (0,04; 0,26)	0,15 (0,10; 0,33)
	12	0,05 (0,01; 0,13)	0,05 (0,03; 0,14)
	24	0,03 (0,01; 0,11)	0,04 (0,23; 0,12)
C22:6n-3	6	3,83 (2,60; 21,83)	19,22 (12,58; 40,08)
	12	2,54 (1,69; 8,04)	6,25 (2,44; 8,90)
	24	0,82 (0,62; 3,33)	2,52 (1,27; 7,39)

3.6.3.3 Cholesterolester

Die in den Plasma-Cholesterolester gemessenen Fettsäuren (C16:0, C18:1n-9 und C22:6n-3) zeigten einen langsamen Anstieg in ihrer ^{13}C-Anreicherung. Der höchste Wert wurde für alle drei Fettsäuren nach 24 Stunden gemessen (Tab. 23).

Tabelle 23: Tracerkonzentrationen (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) von C16:0, C18:1n-9 und C22:6n-3 in den Plasma-Cholesterolestern; Median, 25. und 75. Perzentile

Fettsäure	**Zeit nach Tracergabe (h)**	**Gruppe A (DHASCO™)**	**Gruppe B (Placebo)**
C16:0	6	0,20 (0,16; 0,30)	0,20 (0,19; 0,21)
	12	0,23 (0,20; 0,36)	0,18 (0,12; 0,21)
	24	0,24 (0,21; 0,45)	0,16 (0,14; 0,20)
C18:1n-9	6	0,26 (0,19; 0,38)	0,18 (0,16; 0,28)
	12	0,30 (0,17; 0,53)	0,25 (0,07; 0,35)
	24	0,56 (0,36; 1,37)	0,29 (0,15; 0,43)
C22:6n-3	6	0,24 (0,15; 0,37)	0,22 (0,11; 0,32)
	12	0,46 (0,31; 0,63)	0,54 (0,34; 0,64)
	24	0,58 (0,50; 1,11)	1,03 (0,71; 1,08)

3.6.4 ^{13}C-Anreicherung der DHA

Im Folgenden ist der zeitliche Verlauf der Tracerkonzentration für die DHA in den jeweiligen Lipidfraktionen beschrieben. Wie bereits erwähnt zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bezüglich der Anreicherung von DHA in den Plasmalipiden.

3.6.4.1 Phospholipide

In dieser Lipidfraktion erreichte die DHA in beiden Gruppen ihre maximale Anreicherung durchschnittlich 12 Stunden nach Tracergabe. Nach 24 Stunden war eine Abnahme der Anreicherung eingetreten, die Basalwerte waren jedoch noch nicht wieder erreicht (Abb.11).

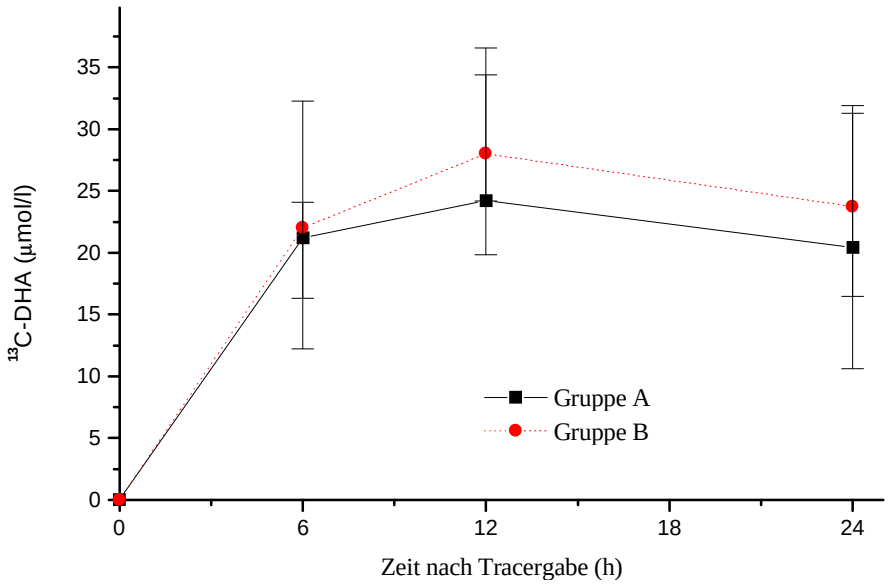

Abbildung 11: Tracerkonzentration (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) der DHA in den Plasma-Phospholipiden; Median, 25. und 75. Perzentile

3.6.4.2 Triglyceride

In dieser Fraktion wurden 6 Stunden nach Tracergabe die höchsten Werte für die Anreicherung der DHA gemessen (Abb.12). Der Median lag in Gruppe B zu allen Zeitpunkten, vor allem aber 6 Stunden nach Tracergabe etwas höher als in Gruppe A.
Es bestand jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

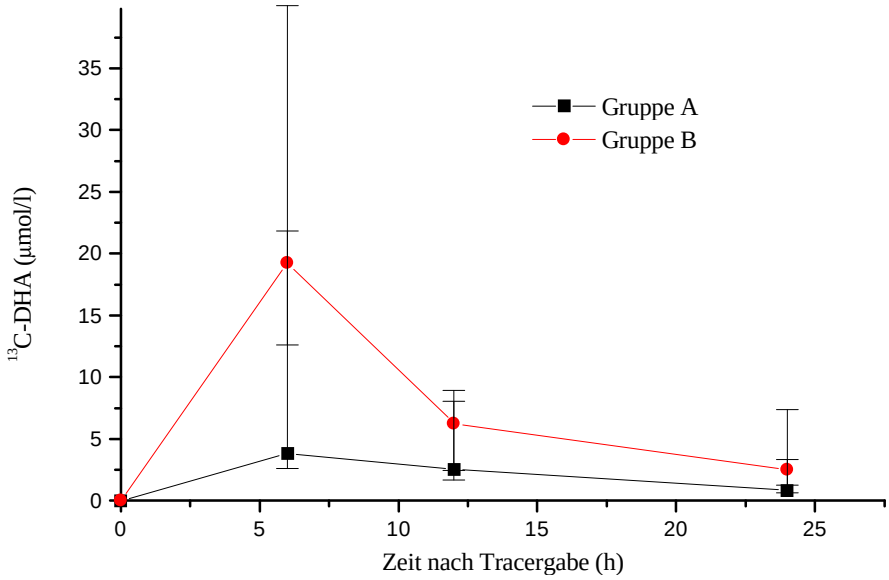

Abbildung 12: Tracerkonzentration (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) der DHA in den Plasma-Triglyceriden (Median, 25. und 75. Perzentile)

3.6.4.3 Cholesterolester

In der Lipidfraktion der Cholesterolester zeigten beide Gruppen einen langsamen, kontinuierlichen Anstieg in der Anreicherung der DHA. Der maximale Wert wurde 24 Stunden nach Tracergabe gemessen (Abb.13).

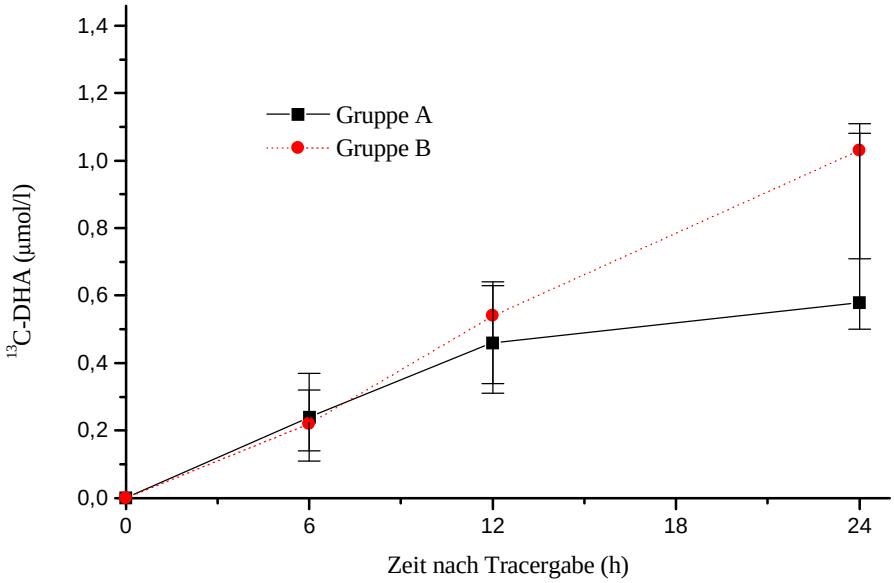

Abbildung 13: Tracerkonzentration (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) der DHA in den Plasma-Cholesterolestern (Median, 25. und 75. Perzentile)

3.6.5 Einzellfallbetrachtung bei einer Studienteilnehmerin mit zusätzlichen Meßzeitpunkten

Bei einer Studienteilnehmerin (Nr.VII, Gruppe A) wurde nach vorherigem Einverständnis zu zwei zusätzlichen Zeitpunkten (3 und 9 Stunden nach Tracergabe) Blut abgenommen, um weitere Erkenntnisse über den zeitlichen Verlauf der Fettsäurekonzentrationen und die ^{13}C-Anreicherung im Plasma zu gewinnen.

3.6.5.1 Fettsäurekonzentration

Der zeitliche Verlauf der Fettsäurekonzentrationen der einzelnen Lipidfraktionen im Plasma dieser Mutter war vergleichbar mit dem der anderen Studienteilnehmer (Tab. 24 und Abb.14). In der Fraktion der Triglyceride fiel ein sehr hoher Anstieg der Konzentration 6 Stunden nach Tracergabe auf (1766 µg/ml), der jenseits der 75. Perzentile (1452 µg/ml) lag.

Tabelle 24: Gesamtfettsäurekonzentrationen in den verschiedenen Lipidfraktionen im Plasma von Teilnehmerin Nr.VII (µg/ml)

Zeit nach Tracergabe (h)	Phospholipide	Triglyceride	Cholesterolester
0	1803	540	891
3	1770	540	841
6	1896	1766	829
9	1862	1194	797
12	1752	825	753
24	1712	532	824

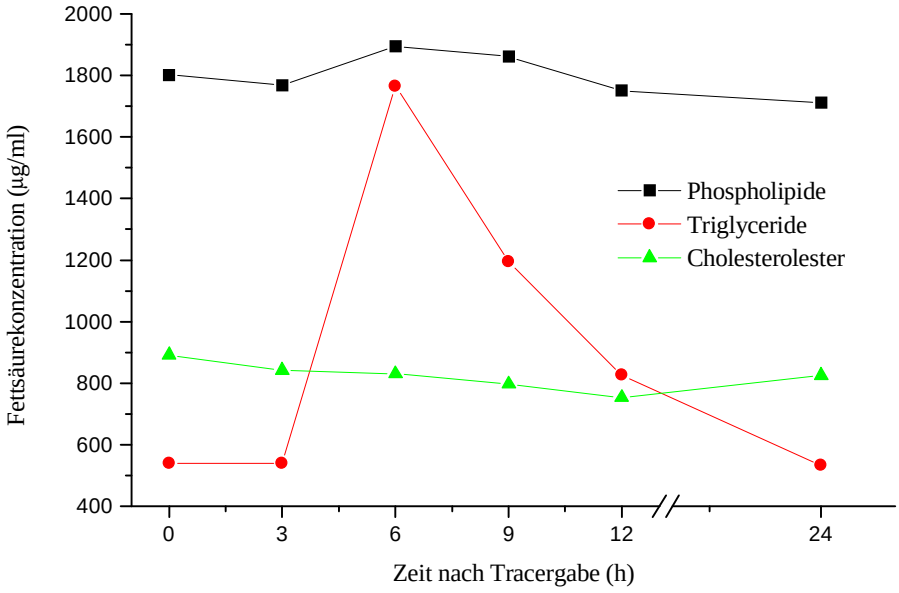

Abbildung 14: Gesamtfettsäurekonzentrationen im Plasma von Teilnehmerin Nr.VII (µg/ml)

3.6.5.2 DHA-Gehalt und DHA-Konzentration

Der Verlauf des prozentualen DHA-Gehalts und der absoluten DHA-Konzentrationen in den einzelnen Lipidfraktionen war vergleichbar mit dem der anderen Teilnehmer aus der

supplementierten Gruppe (Tab. 25, Abb.15 und 16). Durch die zusätzlichen Meßwerte zu den Zeitpunkten 3 und 6 Stunden nach Tracergabe ließ sich die Dynamik des DHA-Stoffwechsels (Einlagerung von DHA in die Plasma-Phospholipide, -Cholesterolester und -Triglyceride) noch genauer charakterisieren. Die allgemein im Rahmen der Studie gewählten Meßzeitpunkte (0, 6, 12 und 24 Stunden nach Tracergabe) reichten jedoch insgesamt für die Beschreibung der Dynamik aus.

DHA-Gehalt:

Der prozentuale DHA-Gehalt zeigte einen ähnlichen Verlauf in den Plasma-Phospholipiden und -Triglyceriden: Bis 3 Stunden nach Tracergabe lagen die Werte im Bereich der vor Tracergabe gemessenen Werte und zeigten danach einen Abfall mit einem Minimum
9 Stunden nach Tracergabe. Danach kam es zu einem Ansteigen der Werte für den prozentualen DHA-Gehalt. Nach 24 Stunden lagen sie wieder im Bereich der vor Tracergabe gemessenen Werte. Die in der Lipidfraktion der Cholesterolester gemessenen DHA-Gehalte (Gew.%) lagen durchschnittlich bei 0,64 Gew. % und zeigten nur leichte Schwankungen.

DHA-Konzentrationen:

In den Plasma-Phospholipiden und -Cholesterolestern zeigten die absoluten DHA-Konzentrationen einen ähnlichen wie für die prozentualen DHA-Gehalte beschrieben Verlauf.
In der Fraktion der Triglyceride lagen die Meßwerte, abgesehen von einem Anstieg 6 Stunden nach Tracergabe (8,28 µg/ml) durchschnittlich bei 4,4 µg/ml.

Tabelle 25: Prozentualer DHA-Gehalt (Gew.%) und DHA-Konzentration (µg/ml) der Plasma-Lipidfraktionen von Teilnehmerin Nr. VII

Zeit nach Tracergabe (h)	**Phospholipide**		**Triglyceride**		**Cholesterolester**	
	Gew.%	µg/ml	Gew.%	µg/ml	Gew.%	µg/ml
0	3,83	68,99	0,79	4,24	0,62	5,51
3	3,83	67,68	0,83	4,47	0,67	5,66
6	3,42	64,87	0,47	8,28	0,62	5,17
9	3,18	59,10	0,45	5,37	0,70	5,57
12	3,18	55,65	0,48	3,92	0,63	4,74
24	3,54	60,65	0,80	4,23	0,58	4,77

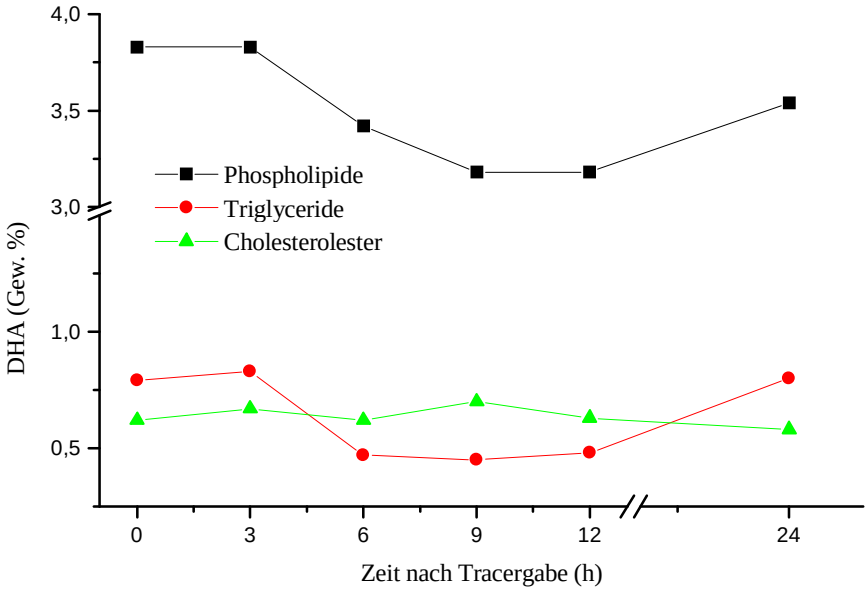

Abbildung 15: Prozentualer DHA-Gehalt (Gew.%) der Plasmalipidfraktionen von Teilnehmerin Nr.VII

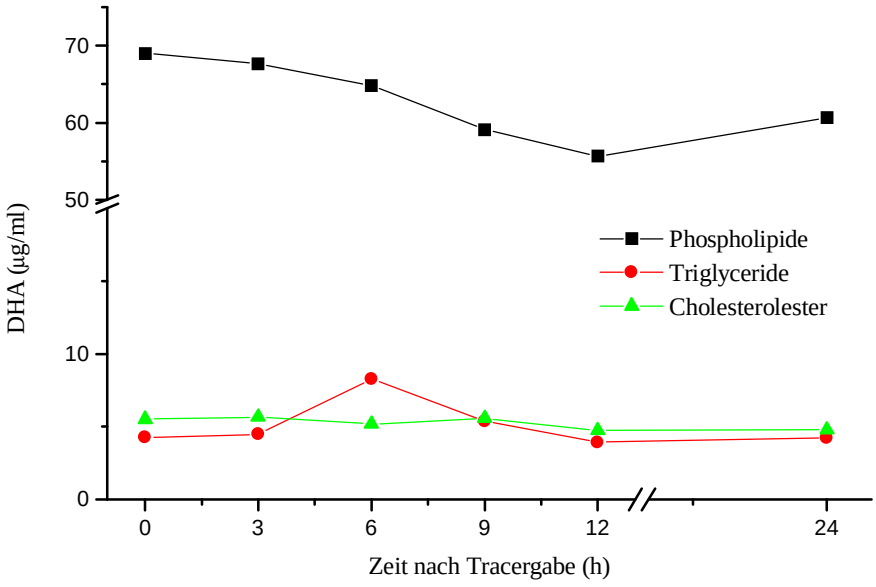

Abbildung 16: DHA-Konzentration (µg/ml) der Plasmalipidfraktionen von Teilnehmerin Nr.VII

3.6.5.3 ^{13}C-Anreicherung der DHA

In der Fraktion der Plasma-Phospholipide trat bereits 6 Stunden nach Tracergabe die maximale Anreicherung der DHA bei Teilnehmerin Nr. VII auf. Im Vergleich dazu lag im Mittel bei den anderen Teilnehmern das Maximum 12 Stunden nach Tracergabe. Die höchste Anreicherung der DHA bei den Triglyceriden wurde 3 Stunden nach Tracergabe gemessen. Da bei den anderen Teilnehmern keine Messung nach 3 Stunden erfolgte, wäre es möglich, daß auch diese ihre maximale DHA-Anreicherung in den Plasma-Triglyceriden bereits zu diesem Zeitpunkt hatten.

Bei den Plasma-Cholesterolestern zeigte sich, wie bei allen anderen Teilnehmern, ein langsamer, kontinuierlicher Anstieg der Anreicherung, der deutlich unter den erreichten Anreicherungen in den Plasma-Phospholipiden und -Triglyceriden lag.

Zur Veranschaulichung sind die Tracerkonzentrationen (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) der einzelnen Lipidfraktionen im zeitlichen Verlauf nach Tracergabe in Abbildung 17 dargestellt.

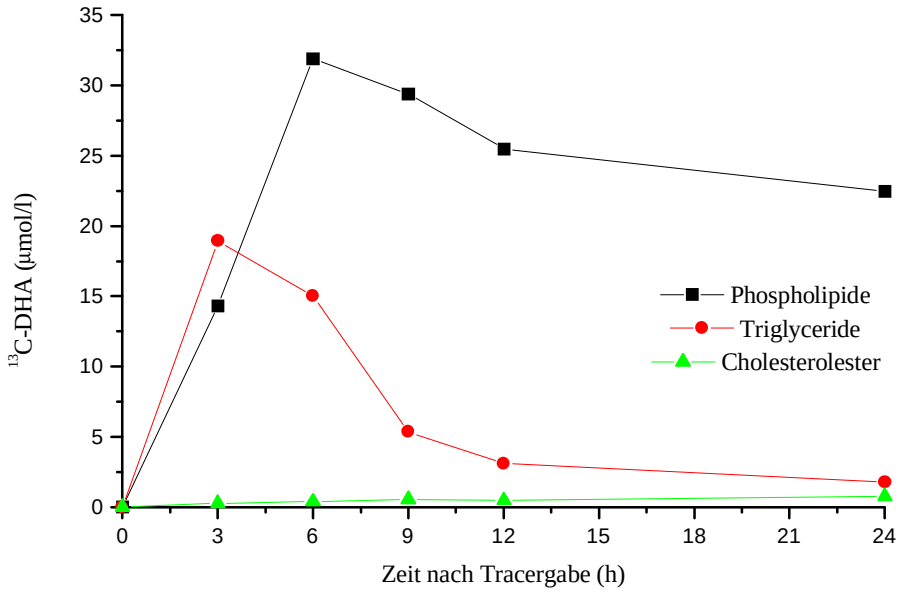

Abbildung 17: Tracerkonzentration (µmol Tracer-^{13}C/ l Plasma) der DHA von Teilnehmerin Nr. VII

4 Diskussion

4.1 Einsatz und Dosierung von ^{13}C-markierter DHA

Der Stoffwechsel der Docosahexaensäure wurde mit Hilfe eines stabilen Isotopes (^{13}C-markierte DHA) bereits an Ratten und gesunden, erwachsenen Probanden beschrieben. Brossard *et al.*[7,5] untersuchten beispielsweise ihre Anreicherung in Lipoproteinen, Thrombozyten, Erythrozyten und Phospholipiden der Gehirnzellen von Ratten nach oraler Gabe von ^{13}C-markierter Docosahexaensäure. Sie folgerten, daß diese Technik eine hoch sensitive Methode darstellt, den Stoffwechsel von n-3-Fettsäuren an Menschen zu untersuchen. Zudem sind nur kleine Probenmengen nötig und die Kosten relativ gering[7].
Die Abwesenheit einer Strahlenbelastung rechtfertigt den Einsatz von stabilen Isotopen auch bei schwangeren und stillenden Frauen. Studien, die den Stoffwechsel der DHA bei stillenden Frauen mi Hilfe von stabilen Isotopen untersuchen liegen bisher noch nicht vor.
Wir gaben den Tracer (^{13}C-markierte DHA) in einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht, was vergleichbar ist mit der Dosis, die Demmelmair *et al.* für ^{13}C-Linolsäure bei stillenden Müttern und ^{13}C-Linol- und α- Linolensäure bei Säuglingen im Alter von zwei Wochen und 11 Monaten eingesetzt hatten[14,15]. Klein und Klein[29] und Jones und Leatherdale[27] beschrieben Dosierungen von ^{13}C-markierten Tracern zwischen 1 und 25 mg/kg Körpergewicht. Somit lagen wir mit unserer Dosierung in einem eher niedrigen Bereich der bisher beschriebenen Dosierungen. Dieses war durch eine hochsensitive Analysetechnik möglich.

4.2 Oxidation

In vivo Studien zur Bestimmung der Fettsäureoxidation unter Verwendung von $^{13}CO_2$-Atemtests wurden bereits seit mehr als 20 Jahren durchgeführt[42].
Nach Gabe eines ^{13}C-markierten Tracers, in unserer Studie ^{13}C-DHASCO™, kann die Oxidation der im Tracer enthaltenen Fettsäuren zu CO_2, dem metabolischen Endprodukt, berechnet werden. Hierzu wird das Verhältnis von $^{13}C/^{12}C$ in der ausgeatmeten Luft bestimmt. Durch die indirekte Kalorimetrie kann die Gesamtmenge an CO_2 ermittelt werden, die vom

Probanden in einer bestimmten Zeit ausgeatmet wird. Somit läßt sich berechnen, wieviel Tracer in dieser Zeit oxidiert wurde[14]. Voraussetzung für die Präzision dieser Berechnungen ist eine weitgehend vollständige Resorption des oral aufgenommenen Tracers aus dem Darm[28], die bei gesunden Probanden angenommen werden kann.

Von den Studienteilnehmern, die in unserer Studie in die Auswertung eingingen, lag bei 9 eine indirekte Kalorimetrie vor, so daß wir die Gesamtmenge an CO_2 individuell bestimmen konnten. Für die Mutter, die an dieser Messung nicht teilnehmen konnte, wurde ein Durchschnittswert aus den vorhandenen Messungen herangezogen.

Die vor Tracer- Applikation gemessenen Atemtest-Werte für die ^{13}C-Anreicherung spiegeln etwa das natürliche Vorkommen von ^{13}C im Atem CO_2 der 9 Probandinnen wider [1,0838 (1,0837- 1,0839) Atom%; Median (IQR)]. Verglichen mit dem für Europäer ermittelten Durchschnittswert, der mit 1,088 Atom % angegeben wird[33], lag das natürliche Vorkommen bei unseren Probandinnen etwas niedriger. Eine Erklärung hierfür könnte die Ernährung der Mütter sein, die reich an Kartoffeln, Reis, Zuckerrüben und Kohl (C_3-Pflanzen), aber arm an Mais und Rohrzucker (C_4-Pflanzen) war. Das natürliche Vorkommen von ^{13}C liegt bei sogenannten C_4-Pflanzen, die den Hatch-Slack-Cyclus (C_4-Cyclus) zur Assimilation von CO_2 verwenden, höher als bei C_3-Pflanzen, die den Calvin-Benson-Cyclus (C_3-Cyclus) verwenden[33]. Ausserdem muß berücksichtigt werden, daß die Mütter an den Studientagen 14 und 15 von uns angeleitet wurden, auf Maisprodukte zu verzichten und die Atemtest-Leerwerte morgens nach einer nächtlichen Fastenzeit abgenommen wurden.

In unserer Studie wurde ein Tracer verwandt, der eine Mischung von unterschiedlichen Fettsäuren enthielt, da ein Studienziel der Vergleich des Transfers verschiedener Fettsäuren war. Somit konnten wir die Oxidation der DHA nicht alleine betrachten.

Da die zwei Gruppen (supplementierte Mütter vs. nicht supplementierte Mütter) aber keine Unterschiede in der Kinetik und der kumulativen Oxidation zeigten, ergab sich die Möglichkeit, die Daten zusammengefaßt mit den Ergebnissen der oben genannten Studie von Demmelmair *et al.*[14] zu vergleichen. Demmelmair *et al.* verwandten als Tracer ^{13}C-markierte Linolsäure (~98 % ^{13}C Markierung). Sie wurde in einer Einzeldosis (1mg/kg Körpergewicht) den stillenden Müttern sechs Wochen nach Entbindung mit dem Frühstück gegeben. Die Probensammlung und Messung erfolgte in gleicher Weise wie in unserer Studie. Im Vergleich zum Linolsäure-Tracer wird ^{13}C-DHASCO™ schneller oxidiert. Die maximale ^{13}C-Anreicherung war in unserer Studiengruppe etwa 3 Stunden früher als in der Linolsäure-Gruppe [1 (1,0- 2,0) vs. 3,5 (3,0-4,0) Stunden nach Tracergabe; p = 0,003]. Auch die prozentuale Wiederfindung lag in den ersten vier Stunden nach Tracergabe in unserer

Studiengruppe um ein Vielfaches höher als in der Linolsäure-Gruppe (eine Stunde nach Tracergabe: 18 mal höher, zwei Stunde nach Tracergabe: 7 mal höher; drei Stunden nach Tracergabe: 3,4 mal höher und vier Stunden nach Tracergabe: 1,6 mal höher). Die kumulative Wiederfindung war eine Stunde nach Tracergabe in der DHASCO™- Gruppe 10,7 mal höher als in der Linolsäure- Gruppe (1,28 vs. 0,12). Vergleicht man jedoch die kumulative Wiederfindung 24 Stunden und später nach Tracergabe, so finden sich in beiden Gruppen ähnliche Werte.

Möglicherweise führen die in ^{13}C-DHASCO™ enthaltenen kurzkettigen, gesättigten Fettsäuren (C8:0; C10:0; C12:0 und C14:0) zu einer schnelleren Absorption und Oxidation des Tracers.

4.3 Muttermilch

4.3.1 Volumen und Fettgehalt

Zur Berechnung der Gesamtmenge an Muttermilch ermittelten wir die vom Säugling getrunkene Milchmenge, in dem wir ihn vor und nach dem Stillen wogen. Hierzu addierten wir die durch Abpumpen gewonnenen Probemengen. Die auf diese Weise gesammelten Daten zum täglichen Milchvolumen sind vergleichbar mit Daten anderer Studien[17].

Zur Bestimmung des Milchfettgehalts sammelten wir vor dem Anlegen des Säuglings Vormilch und zu Ende der Stillmahlzeit Nachmilch. Die so gewonnenen Proben wurden im Verhältnis 1:1 gemischt und dann weiter untersucht. Um noch genauere Daten über den Milchfettgehalt der Muttermilch gewinnen zu können, müßte Muttermilch über einen Zeitraum von 24 Stunden gesammelt werden. Dies hätte zur Folge, daß die Mutter in dieser Zeit auf das Stillen verzichten, die gesamte Muttermilch abgepumpt werden und der Säugling mit Formelnahrung gefüttert werden müßte. Koletzko *et al.*[32] beschrieben, daß dies für die meisten Mütter kein akzeptables Vorgehen sei. Ein weniger aufwendiges, wie das hier gewählte Sammelverfahren scheint daher gerechtfertigt, zumal sich der relative Anteil der Fettsäuren während einer Stillmahlzeit nicht ändert[22]. Zu beachten ist jedoch, daß der absolute Fettgehalt mit dem Zeitpunkt während der Stillmahlzeit variiert.

Die in unserer Studie gemessenen Werte für den Milchfettgehalt, die zwischen 2,0 und 5,7 g /dl (25. – 75. Perzentile) lagen, waren vergleichbar mit denen in anderen Studien[14,26].

4.3.2 Fettsäurezusammensetzung

In der Muttermilch finden sich sehr viele unterschiedliche, vor allem mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Es gibt drei verschiedene Quellen, aus denen die Fettsäuren der Muttermilch stammen können: aus der Mobilisierung körpereigener Fettdepots, aus der endogenen Synthese aus Vorläuferfettsäuren und direkt aus der Nahrung[41]. In unserer Studie untersuchten wir die Stoffwechselwege der aus der Nahrung aufgenommenen Fettsäuren, vor allem der DHA, und deren Übertritt in die Muttermilch. Die von uns gemessenen Werte für die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch waren vergleichbar mit anderen Studien[14,18].

Die erste Studie, die den Einfluß einer DHA-Supplementierung auf die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch untersuchte, wurde 1996 von Makrides *et al.* publiziert[34]. An dieser Studie nahmen insgesamt 52 stillende Mütter teil, die 5 Tage nach Entbindung randomisiert wurden und dann entweder 0 g, 0,3 g, 0,4 g, 0,9 g, oder 1,3 g DHA täglich erhielten. Die Supplementierung mit DHA erfolgte - vergleichbar mit unserer Studie - in Form von DHASCO™-Kapseln (Firma Martek). Die Untersuchung von Muttermilch, mütterlichem Plasma und Phopholipiden der Erythrozyten erfolgte bei Makrides *et al.* 12 Wochen post partum. Wir supplementierten die Probandinnen zwei Wochen nach Entbindung mit 0 g oder 0,2 g DHA für einen Zeitraum von insgesamt zwei Wochen und bestimmten dann die Fettsäurezusammensetzung von mütterlichem Plasma und Muttermilch. Im Unterschied zu Makrides bestimmten wir die Fettsäurezusammensetzung der beiden Studiengruppen auch vor der Supplementierung. Wir beobachteten eine Zunahme des DHA-Gehalts der Muttermilch um 28% in der supplementierten Gruppe und einen Abfall um 25% in der Placebo-Gruppe. Eine DHA-Supplementierung kann somit nicht nur den DHA- Gehalt der Muttermilch erhöhen, sondern auch eine Abnahme verhindern. Eine Steigerung des DHA-Gehalts der Muttermilch mittels oraler Supplementierung der Mütter wurde auch in anderen Studien beschrieben[21,23,34]. Makrides *et al.* stellten fest, daß der DHA-Gehalt der Muttermilch direkt proportional zum DHA-Gehalt in der Nahrung sei. Außerdem schätzten sie, daß etwa 20 % der supplementierten DHA in die Muttermilch sezerniert werden. In dieser Schätzung ging sie von einer durchschnittlichen Menge von 800 ml Muttermilch pro Tag und einem Fettgehalt von 4 g pro 100 ml Muttermilch aus. In unserer Studie betrug das Milchvolumen der supplementierten Gruppe durchschnittlich 656 ml/Tag mit einem durchschnittlichen Fettgehalt von 3,72 g/Tag. Bei einem Überschuß von 0,16 Gew. % an DHA nach Supplementierung kamen wir auf ein vergleichbares Ergebnis, obwohl unser Supplementierungszeitraum nur 14 vs. 79 Tage bei Makrides *et al.* betrug. Die Erklärung

hierfür liegt darin, daß stabile Werte für die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch bereits nach einer Woche Supplementierung erreicht sind[23]. Am Tag der Tracergabe konnten wir in beiden Gruppen eine Zunahme des DHA-Gehalts der Muttermilch messen. Dieser erreichte sein Maximum 6 Stunden nach Tracergabe in der supplementierten Gruppe und 12 Stunden nach Tracergabe in der Placebogruppe. An den folgenden beiden Tagen kam es zu keinen Schwankungen während des Tages, so daß sich der DHA-Anstieg am Tag der Tracergabe auf die Supplementierung zurückführen läßt. Auch für die anderen gemessenen Fettsäuren konnten wir keine Schwankungen im Tagesverlauf messen. Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Harzer *et al.*[22], der die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch von 17 Müttern während der ersten 5 Wochen der Stillzeit untersuchte.

4.3.3 ^{13}C-Anreicherung von DHA, Myristin-, Palmitin- und Ölsäure

Die Verwendung eines stabilen Isotopes eröffnete uns die Möglichkeit, die Sekretion der markierten Fettsäuren in die Muttermilch sowohl quantitativ, als auch im zeitlichen Verlauf zu beurteilen. Die maximale ^{13}C-Anreicherung von DHA, Myristin-, Palmitin- und Ölsäure in der Muttermilch konnten wir 12 Stunden nach Tracergabe messen. Während bei Demmelmair *et al.* eine maximale Anreicherung ^{13}C-markierter Linolsäure in der Muttermilch ebenfalls 12 Stunden nach Tracergabe gemessen wurde[14], beschrieben Hachey *et al.* ein Maximum der ^{13}C-Anreicherung 8-10 Stunden nach Gabe von ^{2}H-markierten Triglyceriden der Palmitin-, Öl- und Linolsäure[20]. Auch in unserer Studie könnte das Maximum zwischen 6 und 12 Stunden nach Tracergabe liegen, auf eine häufigere Probennahme wurde jedoch verzichtet. DHA, Palmitin- und Ölsäure zeigten eine ähnliche Ausscheidungskinetik über 24 Stunden und waren auch in ihrer kumulativen Wiederfindung vergleichbar. Es gab keine Unterschiede zwischen supplementierter und Placebo-Gruppe. Die kumulative Wiederfindung über 48 Stunden von Palmitin- und Ölsäure lag im Durchschnitt für beide Gruppen zusammengefaßt bei 7,8 % und 9,6 %. Dies läßt sich mit den bei Hachey *et al*. beschriebenen Werten (Palmitinsäure: 8,4 %, Ölsäure 9,9 % nach 72 Stunden) vergleichen [20]. Es war kein Unterschied bezüglich des Transfers der DHA und der anderen langkettigen Fettsäuren zu beobachten, so daß sich die von Makrides aufgestellte Hypothese, es gäbe keinen selektiven Transfer der DHA aus der Nahrung in die Muttermilch, unterstützen läßt[34].

Auffällig war ein deutlich geringerer Transfer der Myristinsäure in die Muttermilch, was von statistischer Signifikanz war ($p < 0{,}001$, für beide Gruppen zusammengefaßt). Als Ursache

könnte eine höhere Oxidation dieser mittelkettigen Fettsäure angeführt werden (vergl. 4.2. Oxidation).

4.4 Plasma

4.4.1 Fettsäurezusammensetzung

Der Einfluß einer Nahrungsanreicherung mit DHA auf die Zusammensetzung der Plasmalipide wurde bereits in einigen Studien untersucht[10,16,25,34,43].

Innis et al. berichteten in einer Studie, in der 32 gesunde Männer über einen Zeitraum von 14 Tagen mit verschiedenen Mengen eines mit DHA und AA angereicherten Oels supplementiert wurden, über Veränderungen der Plasmafettsäurezusammensetzung. Sie beobachteten nach einer 14-tägigen Supplementierung gesunder Erwachsener mit 0,8 g AA und 0,6 g DHA pro Tag, die ohne jegliche Nebenwirkungen war, einen Anstieg der AA bzw. DHA in den Plasma-Phospholipiden um 18 % bzw. 50 %[25]. Eine Studie an schwangeren Frauen, die zwischen der 26. und 35. Schwangerschaftswoche mit Sardinen und Fischöl (entsprechend 2,6 g n-3-Fettsäuren/Tag und davon 1,01 g DHA/Tag) supplementiert wurden, führten Connor et al. durch[10]. Gemessen wurden die Fettsäurezusammensetzung in mütterlichem Plasma und mütterlichen Erythrozyten zu Beginn der Supplementierung, in der 35. SSW und nach Entbindung, sowie die Fettsäurezusammensetzung in Plasma und Erythrozyten des Neugeborenen. Es konnte ein signifikanter Anstieg der DHA in Plasma und Erythrozyten der supplementierten Mütter im Vergleich zur Placebogruppe nachgewiesen werden. Auch an stillenden Müttern wurde bereits der Einfluß einer DHA-Supplementierung auf die Fettsäurezusammensetzung von Plasma, Erythrozyten und Muttermilch untersucht[21].

Harris *et al*. supplementierten acht stillende Frauen etwa 3,5 Monate postpartal mit einem Fischöl, das entweder in einer Dosierung von 5 g/Tag über 4 Wochen oder 10 g/Tag über 2 Wochen (entsprechend 0,5 g oder 1,0 g DHA/ Tag) gegeben wurde. Er konnte in beiden Gruppen einen Anstieg des absoluten und relativen Anteils der DHA in den Plasmalipiden messen (siehe Tab. 26). In unserer Studie erfolgte die Supplementierung mit DHASCO™ - Kapseln, die eine Triglyceridmischung mit einem Anteil der DHA von 40±2 Gew. % enthalten. Dies entspricht einer DHA-Zufuhr von 200 mg/Tag. Nach 13 Tagen Supplementierung konnten wir einen höheren absoluten und relativen Anteil der DHA in den Plasmalipiden der supplementierten Gruppe im Vergleich zur Placebo-Gruppe messen. Dabei

war dieser Anstieg in den Fraktionen der Phospholipide und Triglyceride nachzuweisen. Die Cholesterolester blieben unbeeinflußt. Diese Beobachtung stimmt überein mit den Ergebnissen von Harris *et al.*[21]. Im Gegensatz hierzu beobachteten Innis *et al.*[25] einen dosisabhängigen Anstieg von DHA in der Fraktion der Cholesterolester. Dieser war allerdings erst ab einer hohen Dosis von 1,7 g DHA/Tag signifikant.

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse von Harris *et al*. vor und nach 4 bzw. 2 Wochen Supplementierung mit den Werten verglichen, die wir im Plasma der beiden Gruppen nach 13 Tagen Supplementierung (vor Tracergabe) gemessen haben (Tab. 26).

Tabelle 26: Prozentualer DHA-Gehalt im Plasma (Gew. %); Vergleich unserer Daten (Median, 25. Und 75. Perzentile) mit den Ergebnissen von Harris *et al*.[21] (Mittelwert, Standardabweichung)

	Harris, 1984[21]			**Unsere Studie**	
	Vor Suppl.	5 g/Tag	10 g/Tag	0 g/Tag	0,2 g/Tag
n	0	14	28	13	13
TG	0,24 ± 0,17	1,9 ± 1,0	4,5 ± 2,3	0,29 (0,27; 0,37)	0,79 (0,65; 0,92)
PL	2,5 ± 0,62	5,3 ± 1,1	4,4 ± 0,5	2,33 (2,08; 2,39)	3,52 (2,89; 3,83)
CE	0,6 ± 0,3	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,25	0,47 (0,35; 0,48)	0,59 (0,42; 0,65)

n = Anzahl der Tage mit Supplementierung

Es fällt auf, daß der größte Anteil der DHA bevorzugt in der Fraktion der Phospholipide nachzuweisen ist. In unserer Studie konnte eine Verteilung der DHA in die Fraktion der Phospholipide mit durchschnittlich 74 % (für beide Gruppen zusammengenommen) beobachtet werden. Dabei zeigt sich in den Phospholipiden der DHASCO™-supplementierten Gruppe ein signifikant höherer Gehalt an DHA als in der Placebogruppe (3,52 vs. 2,33 Gew. % DHA, p= 0,004). In der bereits erwähnten Studie von Makrides *et al.*[34] wurde ein ähnliches Ergebnis beschrieben: hier wurde bei stillenden Frauen in der supplementierten Gruppe (0,2 g DHA/Tag über etwa 11 Wochen) ein DHA- Gehalt von 4,1 Gew. % gemessen, während er in der Placebogruppe bei 2,8 Gew. % lag.

Die hohe Konzentration von DHA in den Plasma-Phospholipiden könnte deren Aufnahme in die Gewebe fördern[6].

4.4.2 ^{13}C- Anreicherung

Am 14. Tag nach Beginn der Supplementierung erhielten die Teilnehmer unserer Studie ^{13}C-markiertes DHASCO™ in einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht. Dabei betrug der durchschnittliche Gehalt an DHA 51,5 Gew.% und die ^{13}C-Anreicherung des Tracers 61,4 %. Die Blutentnahmen erfolgten vor Tracergabe und 6, 12 und 24 Stunden danach. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen supplementierter und Placebo-Gruppe bezüglich der Anreicherung ^{13}C- markierter Fettsäuren im Plasma zu den verschiedenen Zeitpunkten festgestellt werden.

4.4.2.1 ^{13}C-Anreicherung der DHA

In der Fraktion der Triglyceride erreichte die DHA erwartungsgemäß zuerst ihre maximale Anreicherung. Nahrungsfette, d.h.Triglyceride, werden nach Spaltung im Darm zunächst in Mono- und Diglyceriden, freien Fettsäuren und zum Teil auch Glycerin absorbiert. Im Enterozyten erfolgt eine Resynthese zu Triglyceriden, die dann als Chylomikronen in die intestinale Lymphe übertreten[13]. Nur für kurz- und mittelkettige Triglyceride ist die direkte Aufnahme und der Transport über die Pfortader möglich. Die höchste DHA-Anreicherung in den Triglyceriden konnte in unserer Studie 6 Stunden nach Tracergabe in beiden Gruppen gemessen werden. Danach kam es zu einer leichten Abnahme. In anderen Studien wurde das Auftreten von ^{13}C-markierter DHA bereits eine Stunde nach Tracergabe in den Triglyceriden beobachtet[5,6]. Brossard *et al.* [6] berichteten von einer maximalen Anreicherung 2 Stunden nach Tracergabe, gefolgt von einer starken Abnahme bis 12 Stunden nach Tracergabe. Die letzte Messung erfolgte 3 Tage nach Tracergabe. Bis dahin pendelten sich die Werte in einem Plateau- Bereich ein. In dieser Studie waren drei gesunden Probanden 280 mg eines Triglyceridtracers gegeben worden (DHA-Gehalt: 44 Gew.%; ^{13}C-Anreicherung: 7,72 Atom%). Croset *et al.*[12] studierten die ^{13}C-Anreicherung der DHA nach Gabe von 280 mg eines markierten Triglyceridöls (DHA- Gehalt: 46 Gew. %, ^{13}C-Anreicherung: 7,72 Atom %) an einer gesunden Testperson. Eine maximale Anreicherung trat 2 Stunden nach Tracergabe in der Triglyceridfraktion der VLDLs und der Chylomikronen auf. Nach 3 Stunden hatte die Anreicherung ihr Maximum bei den LDL-Triglyceriden und nach 6 Stunden bei den HDL-Triglyceriden erreicht. Anschließend zeigte sich eine kontinuierliche Abnahme bis 24 Stunden nach Tracergabe und schließlich ein Plateau-Bereich bis 72 Stunden nach Tracergabe.

In unserer Studie hatten wir bei einer Teilnehmerin zwei zusätzliche Meßzeitpunkte (3 und 9 Stunden nach Tracergabe). Bei ihr lag die maximale Anreicherung in der Lipidfraktion der Triglyceride 3 Stunden nach Tracergabe. Es ist wahrscheinlich, daß der Zeitpunkt der höchsten Anreicherung auch bei den anderen Studienteilnehmern früher lag, was wir allerdings nicht messen konnten.

Bei den Phospholipiden zeigte die ^{13}C-markierte DHA in beiden Gruppen ein Maximum 12 Stunden nach Tracergabe und danach ein leichte Abnahme. Brossard *et al*. beobachteten die maximale Anreicherung in dieser Lipidfraktion erst nach 24 Stunden[6]. In ihrer Studie waren 89 % der im Plasma zu diesem Zeitpunkt vorhandenen ^{13}C-markierten DHA 2 bis 3 Stunden nach Tracergabe in den Triglyceriden nachweisbar, verteilten sich aber dann überwiegend in die Fraktion der Phospholipide (74 % nach 12 Stunden, 82 % nach 3 Tagen). In unserer Studie waren 6 Stunden nach Tracergabe etwa 54 % der ^{13}C-markierten DHA in den Phospholipiden nachweisbar. In den Triglyceriden waren zu diesem Zeitpunkt noch 45 %, nach 12 Stunden

15 % und nach 24 Stunden 3 % meßbar. In den Phospholipiden hingegen kam es zu einer Zunahme der Anreicherung. Zum Zeitpunkt der letzten Messung (24 Stunden nach Tracergabe) hatte sich die ^{13}C-markierte DHA zu etwa 86 % auf die Phospholipide verteilt (Tab. 27). Wie auch bei Brossard[6] beschrieben, konnte nur eine kleine Menge in den Cholesterolestern nachgewiesen werden (Brossard: 9,6 % nach 72 Stunden; unsere Studie:

3,2 % nach 24 Stunden). Außerdem kam es nur sehr langsam zu einem leichten Anstieg der markierten DHA in der Fraktion der Cholesterolester.

Tabelle 27: Prozentuale Verteilung der ^{13}C-DHA auf die Plasmalipidfraktionen (für Gruppe A und B zusammengenommen; Mittelwert, Standardabweichung)

Zeit nachTracergabe (h)	**TG**	**PL**	**CE**
6	45,2 ± 34,9%	54,3 ± 18,7%	0,6 ± 0,3%
12	15,1 ± 12,4%	83,6 ± 24,6%	1,5 ± 0,6%
24	10,89 ± 12,6%	85,8 ± 28,3%	3,25 ± 0,8%

4.4.2.2 ^{13}C-Anreicherung der anderen, markierten Fettsäuren

Abgesehen von der DHA konnten wir eine Anreicherung von C14:0, C16:0, C18:1n-9 und C22: 5n-3 messen. Die Palmitinsäure (C16:0), die mit durchschittlich 11 Gew. % im Tracer vertreten war, zeigte einen ähnlichen Verlauf wie die DHA in der Anreicherung und der Verteilung auf die einzelnen Plasmalipidfraktionen. Die maximale Anreicherung wurde zuerst bei den Triglyceriden gemessen, danach kam es in dieser Fraktion zu einem starken Abfall. Bei den Phospholipiden war die maximale Anreicherung 12 Stunden nach Tracergabe und die Cholesterolester zeigten kaum eine Anreicherung. Die anderen oben genannten Fettsäuren konnten nicht zu jedem Zeitpunkt in den einzelnen Lipidfraktionen nachgewiesen werden. Die gemessenen Werte sprechen aber dafür, daß sie in ihrer Anreicherung dem für DHA und Palmitinsäure beschriebenen Anreicherungsmuster gleichen. Die Hypothese, daß nur kleine Mengen von DHA in andere n-3-Fettsäuren umgewandelt werden, läßt sich in unserer Studie zwar nicht mit Sicherheit bestätigen, ist aber sehr wahrscheinlich. Durch Retrokonversion, einer peroxisomale Reaktion, die vor allem in der Leber stattfindet, kann DHA zu EPA und DPA umgewandelt werden[6]. Wir konnten eine geringe Anreicherung an DPA messen. Die Beurteilung, ob ein Teil davon durch Retrokonversion aus der DHA stammt, ist aber insofern schwierig, als DPA auch zu einem geringen Anteil (durchschnittlich 0,31 Gew.%) im Tracer vertreten war. Eine Anreicherung der EPA war nicht nachweisbar. Somit wäre unser Ergebnis in Einklang mit der Beobachtung von Brossard *et al.*[6]: Die Retrokonversion der DHA zu anderen n-3-Fettsäuren ist beim Menschen nur von geringer Bedeutung.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden Stoffwechsel und Transfer der DHA aus der Nahrung bei stillenden Müttern untersucht. Insgesamt nahmen 10 Mütter, die wir nach Entbindung in der I. Universitäts-Frauenklinik München rekrutierten, an der Auswertung der Studie teil. Die Teilnehmer erhielten 4 Wochen post partum entweder ein DHA- Nahrungssupplement (DHASCO™; DHA: 40±2 Gew.%; 200 mg DHA/Tag) oder ein Placebo. Die Zuteilung in die Gruppen geschah randomisiert und doppelblind. Die Supplementierung erfolgte über einen Zeitraum von zwei Wochen. In dieser Zeit wurden die Mütter angehalten, keinen Fisch oder Fischprodukte zu sich zu nehmen und für 7 Tage ein Nahrungsprotokoll zu führen. Im Anschluß daran wurde den Müttern beider Gruppen ein stabiles Isotop (^{13}C- DHASCO™) in einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht oral gegeben. Diese Dosierung liegt in einem relativ niedrigen Bereich und konnte den Müttern in der Stillzeit ohne Bedenken gegeben werden. Der Tracer bestand zu einem hohen Anteil aus ^{13}C-markierter DHA. Die Oxidation der im Tracer enthaltenen Fettsäuren wurde nach vorheriger indirekter Kalorimetrie mit Hilfe des ^{13}C-Atemtestes gemessen. Anreicherung und Konzentration von DHA und anderen Fettsäuren wurden in Muttermilch und Plasma bestimmt. Die Proben wurden bis 48 Stunden nach Tracergabe gesammelt.
In der vorliegenden Studie wurde erstmalig der Stoffwechsel von ^{13}C- markierter DHA bei stillenden Müttern untersucht.

Bezüglich der Oxidation von ^{13}C-DHASCO™ konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Die maximale Anreicherung war in der DHA-supplementierten Gruppe etwas früher als in der Kontrollgruppe. Im Vergleich zu ^{13}C-markierter Linolsäure wurde ^{13}C- DHASCO™ schneller oxidiert, was möglicherweise an den kurzkettigen, gesättigten Fettsäuren liegen könnte, die in unserem Tracer enthalten waren. In der kumulativen Wiederfindung lagen die Werte für die Oxidation von Linolsäure und DHASCO™ in einem vergleichbaren Bereich und erreichten etwa 15 % des verabreichten Tracers nach 48 Stunden.

Die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch zeigte zu Studienbeginn keine signifikanten Unterschiede zwischen supplementierter und Placebo-Gruppe. Die gemessenen Werte lagen in einem Bereich, der mit dem in anderen Studien vergleichbar ist. Nach der zweiwöchigen

Supplementierung beobachteten wir einen statistisch signifikant höheren DHA-Gehalt in der supplementierten Gruppe. Während der DHA-Gehalt der Muttermilch in dieser Gruppe um 28 % zugenommen hatte, wurde in der Placebogruppe ein Abfall von 25 % beobachtet. Etwa 20 % der supplementierten DHA wurden in die Muttermilch sezerniert.
Eine maximale Anreicherung von ^{13}C-markierter DHA, Myristin-, Palmitin- und Ölsäure zeigte sich 12 Stunden nach Tracergabe in beiden Gruppen. DHA, Palmitin- und Ölsäure zeigten eine ähnliche Kinetik über 24 Stunden und waren auch in ihrer kumulativen Wiederfindung vergleichbar. Dieses weist darauf hin, daß es keinen selektiven Transfer der DHA in die Muttermilch gibt. Auffällig war ein deutlich geringerer Transfer der Myristinsäure in die Muttermilch, was an einer höheren Oxidation dieser mittelkettigen Fettsäure liegen könnte.

In den Plasma-Phospholipiden und -Triglyceriden konnte nach zweiwöchiger Supplementierung ein deutlich höherer DHA-Gehalt in der supplementierten Gruppe gemessen werden. Die Cholesterolester blieben unbeeinflußt. Die DHA zeigte eine bevorzugte Verteilung in die Fraktion der Phospholipide mit durchschnittlich 87,5 %.
^{13}C-markierte DHA reicherte sich zunächst in den Plasma-Triglyceriden an. Die maximale Anreicherung lag 6 bzw. 3 Stunden (bei einer Probandin mit zusätzlichen Messungen) nach Tracergabe. In den Plasmaphospholipiden waren 24 Stunden nach Tracergabe ca. 86 % der ^{13}C-markierten DHA nachweisbar. Die Cholesterolester zeigten nur eine leichte Anreicherung.
Wir konnten keine Anreicherung von ^{13}C-EPA, und nur eine geringe Anreicherung von ^{13}C-DPA messen. Die Beurteilung, ob ein Teil davon durch Retrokonversion aus DHA entstanden ist, war leider nicht möglich, da DPA auch zu einem kleinen Anteil im Tracer enthalten war. Dennoch scheint die Hypothese, daß die Retrokonversion von DHA in andere n-3-Fettsäuren von nur geringer Bedeutung ist, bestätigt.

Schlußfolgernd läßt sich sagen, daß die mütterliche DHA-Aufnahme mit der Nahrung einen wesentlichen Faktor für ihren Gehalt in den mütterlichen Plasmalipiden und der Muttermilch darstellt. Der größte Teil der DHA scheint jedoch aus mütterlichen Fettdepots zu stammen, welche natürlich ihrerseits über entsprechende Langzeitfolgen der Ernährung zu beeinflussen sind. Empfehlungen zur Ernährung von schwangeren und stillenden Frauen sollten auf jeden Fall eine adäquate DHA-Zufuhr berücksichtigen.

6 Literaturverzeichnis

1. Agresti A, Wacherly D, Boyett JM. Exact conditional tests for cross-classification: approximations of attained significance levels. Psychometrika 1979; 44:75-83.

2. Birch E, Birch D, Hoffmann D, Hale L, Everett M, Uauy R. Breast-feeding and optimal visual development. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 1993; 30:33-38.

3. Birch EE, Garfield S, Hoffman DR, Uauy R. A randomized contolled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. Developmental Medicine & Child Neurology 2000; 42:174-181.

4. Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. Pediatric Research 1998; 44:201-209.

5. Brossard N, Croset M, Lecerf J, Normand S, Chirouze V, Macovschi O, et al. Metabolic fate of an oral tracer dose of [^{13}C] docosahexaenoic acid triglycerides in the rat. Am j Phys 1996; 846-854.

6. Brossard N, Croset M, Pachiandi C, Riou JP, Tayot JL, Lagarde M. Retroconversion and metabolism of [^{13}C]22:6n-3 in humans and rats after intake of a single dose of [^{13}C]22:6n-3- triacylglycerols. Am J Clin Nutr 1996; 64:577-586.

7. Brossard N, Pachiaudi C, Croset M, Normand S, Lecerf J, Chirouze V, et al. Stable isotope tracer and gas-chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry to study the in vivo compartmental metabolism of docosahexaenoic acid. Analytical Biochemistry 1994; 220:192-199.

8. Brühl L. Fettextraktion. In: Charakterisierung maßgeblicher Triglyceride in Muttermilch und Rohstoffen für Säuglingsnahrung. Dissertation.Universität Münster 1994; 104-104.

9. Carlson SE, Rhodes PG, Rao VS, Goldgar DE. Effect of Fish oil supplementation on the n-3 fatty acid content of red blood cell membranes in preterm infants. Pediatric Research 1987; 21:507-510.

10. Connor WE, Lowensohn R, Hatcher L. Increased docosahexaenoic acid levels in human newborn infants by administration of sardines and fish oil during pregnancy. Lipids 1996; 31:183-187.

11. Craig H. The geochemistry of the stable carbon isotopes. Geochim.Kosmochim.Acta, 3, 1953; 53-53.

12. Croset M, Brossard N, Pachiaudi C, Normand S, Lecerf J, Chirouce V, et al. In vivo compartmental metabolism of ^{13}C docosahexaenoic acid, studied by gas chromatography-combustion isotope ratio mass spectrometry. Lipids 1996; 31:109-115.

13. Deetjen P, Speckmann E-J. Physiologie des Magen-Darm-Traktes. In: Physiologie. Urban & Schwarzenberg 1992; 379-437.

14. Demmelmair H, Baumheuer M, Koletzko B, Dokoupil K, Kratel G. Metabolism of U^{13}C-labeled linoleic acid in lactating women. Journal of Lipid Research 1998; 39:1389-1396.

15. Demmelmair H, v.Schenk U, Behrendt E, Sauerwald T, Koletzko B. Estimation of arachidonic acid synthesis in full term neonates using natural variation of 13C content. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 1998; 21:31-36.

16. Emken EA, Adlof RO, Duval SM, Nelson GJ. Effect of dietary docosahexaenoic acid on desaturation and uptake *in vivo* of isotope-labeled oleic, linoleic, and linolenoic acids by male subjects. Lipids 1999; 34:785-791.

17. Ferris AM, Jensen RG. Lipids in human milk: a review. I. Sampling, determination and content. J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr. 1984; 3:108-122.

18. Genzel-Boroviczeny O, Wahle J, Koletzko B. Fatty acid composition of human milk during the first month after term and preterm delivery. Eur J Pediatr 1997; 156:142-147.

19. Gibson RA, Neumann MA, Makrides M. Effect of dietary docosahexaenoic acid on brain composition and neural function in term infants. Lipids 1996; 31:177-181.

20. Hachey DL, Thomas MR, Emken EA, Garza C, Brown-Booth L, Adlof RO, et al. Human lactation: maternal transfer of dietary triglycerides labeled with stable isotopes. Journal of Lipid Research 1987; 28:1185-1192.

21. Harris WS, Connor WE, Lindsey S. Will dietary ω-3 fatty acids change the composition of human milk? The Amerikan Journal of Clinical Nutrition 1984; 40:780-785.

22. Harzer G, Haug M, Dieterich I, Gentner P. Changing patterns of human milk lipids in the course of the lactation and during the day. The American Journal of Clinical Nutrition 1983; 37:612-621.

23. Henderson RA, Jensen RG, Lammi-Keefe CJ, Ferris AM, Dardick KR. Effect of fish oil on the fatty acid composition of human milk and maternal and infant erythrocytes. Lipids 1992; 27:863-869.

24. Hoffmann DR, Birch DG, Uauy RD. Effects of supplementation with ω–3 long-chain polyunsaturated fatty acids on retinal and cortical development in premature infants. Am J Clin Nutr 1993; 57:807-812.

25. Innis SM, Hansen JW. Plasma fatty acid responses, metabolic effects, and safety of microalgal and fungal oils rich in arachidonic and docosahexaenoic acids in healthy adults. Am J Clinical Nutr 1996; 64:159-167.

26. Jensen GJ. The lipids of human milk. CRC Press, Inc. 1989; 43-63

27. Jones P.J.H., Leatherdale ST. Stable isotopes in clinical research: safety reaffirmed. Clinical Science 1991; 80:277-280.

28. Jones P.J.H., Pencharz PB, Clandinin MT. Absorption of ^{13}C-labeled stearic, oleic and linoleic acids in humans: application to breath tests. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1985; 105:647-652.

29. Klein PD, Klein ER. Stable isotopes: origins and safety. J Clin Pharmacol 1986; 26:378-382.

30. Koletzko B. Wachstum, Entwicklung, Reife. In: von Harnack, Kinderheilkunde. Springer Verlag 2000; 11. Auflage:2-14.

31. Koletzko B, Rodriguez- Palmero M. Polyunsaturated fatty acids in human milk and their role in early infant development. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 1999; 4:269-284.

32. Koletzko B, Braun M. Arachidonic acid and early human growth: is there a relation? Ann Nutr Metab 1991; 35:128-131.

33. Krumbiegel P. Naturally labeled ^{13}C substrates. In: Stable isotope pharmaceuticals for clinical research and diagnosis. Jena, Gustav Fischer Verlag 1991; 70-72.

34. Makrides M, Neumann MA, Gibson RA. Effect of maternal docosahexaenoic acid (DHA) supplementation on breast milk composition. European Journal of Clinical Nutrition 1996; 50:352-357.

35. Martinez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. The Journal of Pediatrics 1992; 120:129-138.

36. Matissek R, Schnepel, F.M., Steiner G. Extraktion nach Ammoniakaufschlußmethode- Methode nach Röse- Gottlieb. In: Lebensmittelanalytik. Berlin, Springer-Verlag 1989; 38-40.

37. Mehta CR, Patel NR, Senchandhuri P. Importance sampling for estimating exact probabilities in permutational interference. Journal of American Statistical Association 1988; 83:999-1005.

38. Pacy PJ, Cheng KN, Thompson GN, Halliday D. Stable Isotopes as Tracers in Clinical Research. Ann Nutr Metab 1989; 33:65-78.

39. Parefield WM. An efficient method of generating rxc tables with given row and column totals. Applied Statistics 1981; 30:91-97.

40. Sauerwald T, Demmelmair H, Koletzko B. Zur Unbedenklichkeit von stabilen Isotopen in der pädiatrischen Forschung und Diagnostik. Monatsschr Kinderheilkunde 1996; 144:636-642.

41. Sauerwald TU, Hachey DL, Jensen CL, Chen H, Anderson RE, Heird WC. Effect of dietary α-linolenic acid intake on incorporation of docosahexaenoic and arachidonic acids into plasma phospholipids of term infants. Lipids 1996; 31:131-135.

42. Schoeller DA, Schneider JF, Solomons NW, Watkins JB, Klein PD. Clinical diagnosis with the stable isotope ^{13}C in CO_2 breath test: methodology and fundamental considerations. J.Lab.Clin.Med. 1977; 90:412-421.

43. Simopoulos AP, Koletzko B, Anderson RE, Hornstra G, Mensink RP, Weksler BB, et al. The 1st congress of the international society for the study of fatty acids and lipids (ISSFAL): fatty acids and lipids from cell biology to human disease. Journal of Lipid Research 1994; 35:169-173.

44. Svennerholm L. Distribution and fatty acid composition of phosphoglycerides in normal human brain. Journal of Lipid Research 1968; 9:570-579.

7 Anhang

Tabelle I: Fettsäurezusammensetzung (Gew.%) der Muttermilch vor und nach Supplementierung mit DHASCO™ (n = 5) oder Placebo (n = 5);
(Median, 25. und 75. Perzentile)

Tabelle II: Fettsäurezusammensetzung (Gew.%) der Plasma-Phospholipide bei stillenden Müttern 14 Tage nach Supplementierung mit DHASCO™ (Gruppe A, n = 5) oder Placebo (Gruppe B, n = 5) im Verlauf über 24 Stunden nach Gabe von Tracer (Median)

Tabelle III: Fettsäurezusammensetzung (Gew.%) der Plasma-Triglyceride bei stillenden Müttern 14 Tage nach Supplementierung mit DHASCO™ (Gruppe A, n = 5) oder Placebo (Gruppe B, n = 5) im Verlauf über 24 Stunden nach Gabe von Tracer (Median)

Tabelle IV: Fettsäurezusammensetzung (Gew.%) der Plasma-Cholesterolester bei stillenden Müttern 14 Tage nach Supplementierung mit DHASCO™ (Gruppe A, n = 5) oder Placebo (Gruppe B, n = 5) im Verlauf über 24 Stunden nach Gabe von Tracer (Median)

Tabelle I:

Zeit	Vor Supplementierung		14 Tage nach Supplementierung	
Gruppe	A (DHASCO)	B (Placebo)	A (DHASCO)	B (Placebo)
Gesättigte FS				
C8:0	0,24 (0,22; 0,26)	0,27 (0,25; 0,33)	0,22 (0,20; 0,27)	0,29 (0,23; 0,36)
C10:0	1,50 (1,32; 1,70)	1,83 (1,37; 1,97)	1,41 (1,30; 1,61)	1,73 (1,36; 1,86)
C12:0	5,37 (4,65; 6,81)	5,67 (5,19; 6,27)	5,36 (4,57; 6,68)	5,75 (5,15; 6,14)
C14:0	5,85 (5,46; 6,81)	6,64 (6,53; 7,17)	6,35 (6,09; 6,84)	6,49 (6,07; 7,23)
C15:0	0,38 (0,36; 0,43)	0,50 (0,41; 0,59)	0,36 (0,33; 0,44)	0,49 (0,36; 0,56)
C16:0	23,78 (22,48; 24,28)	22,40 (21,38; 24,43)	22,07 (21,15; 24,00)	22,29 (21,54; 24,12)
C17:0	0,35 (0,33; 0,36)	0,37 (0,33; 0,43)	0,33 (0,32; 0,38)	0,39 (0,31; 0,40)
C18:0	7,05 (6,48; 7,67)	7,32 (6,87; 8,04)	7,76 (6,60; 7,99)	7,52 (7,48; 7,57)
C20:0	0,17 (0,15; 0,20)	0,19 (0,17; 0,21)	0,19 (0,16; 0,20)	0,20 (0,14; 0,21)
C22:0	0,08 (0,08; 0,08)	0,09 (0,08; 0,11)	0,08 (0,06; 0,09)	0,08 (0,05; 0,07)
C24:0	0,09 (0,05; 0,07)	0,09 (0,05; 0,12)	0,08 (0,06; 0,09)	0,07 (0,05; 0,07)
∑ ges.FS	44,27 (43,22; 46,08)	45,66 (44,32; 47,70)	44,14 (43,66; 45,70)	45,12 (43,73; 47,52)
n-9 FS				
C18:1n-9	33,75 (32,71; 34,27)	33,6 (30,26; 36,50)	32,7 (31,67; 32,85)	35,4 (33,59; 36,91)
C20:1n-9	0,51 (0,45; 0,54)*	0,40 (0,39; 0,42)*	0,46 (0,41; 0,50)	0,41 (0,37; 0,47)
C22:1n-9	0,08 (0,08; 0,10)	0,07 (0,07; 0,09)	0,07 (0,07; 0,08)	0,07 (0,06; 0,10)
C24:1n-9	0,07 (0,06; 0,08)	0,05 (0,05; 0,09)	0,06 (0,05; 0,07)	0,06 (0,05; 0,07)
C20:3n-9	0,04 (0,03; 0,04)	0,03 (0,02; 0,05)	0,02 (0,00; 0,04)	0,03 (0,02; 0,04)
n-7 FS				
C16:1n-7	2,83 (2,54; 3,81)	2,67 (2,47; 2,82)	2,15 (2,08; 3,08)	2,60 (2,07; 2,77)
.C17:1n-7	0,26 (0,24; 0,31)	0,26 (0,24; 0,31)	0,22 (0,22; 0,27)	0,25 (0,19; 0,26)
C18:1n-7	2,43 (2,32; 2,55)*	1,97 (1,92; 2,20)*	2,19 (2,11; 2,43)	2,03 (1,57; 2,18)
n-5 PUFA				
C14:1n-5	0,32 (0,28; 0,37)*	0,42 (0,39; 0,53)*	0,31 (0,30; 0,39)	0,41 (0,34; 0,50)
C15:1n-5	0,10 (0,10; 0,15)	0,14 (0,11; 0,15)	0,10 (0,09; 0,17)	0,13 (0,09; 0,14)
∑ einf.unges.FS	41,55 (41,29; 42,24)	41,02 (3818; 43,69)	40,59 (38,99; 42,50)	41,55 (40,74; 43,11)
n-6 FS				
C18:2n-6	10,37 (9,49; 11,90)	8,69 (7,94; 11,70)	11,62 (10,09; 13,13)	10,16 (8,31; 11,66)
C18:3n-6	0,14 (0,13; 0,15)	0,18 (0,15; 0,19)	0,14 (0,14; 0,15)	0,15 (0,14; 0,16)
C20:2n-6	0,30 (0,30; 0,34)	0,21 (0,20; 0,32)	0,30 (0,29; 0,35)	0,19 (0,17; 0,27)
C20:3n-6	0,36 (0,35; 0,37)	0,33 (0,31; 0,57)	0,37 (0,31; 0,39)	0,33 (0,28; 0,42)
C20:4n-6	0,54 (0,45; 0,58)	0,47 (0,45; 0,57)	0,41 (0,39; 0,49)	0,43 (0,40; 0,51)
C22:2n-6	0,05 (0,05; 0,05)	0,05 (0,03; 0,08)	0,04 (0,03; 0,05)	0,03 (0,03; 0,05)
C22:4n-6	0,12 (0,11; 0,12)	0,10 (0,09; 0,12)	0,09 (0,09; 0,11)	0,08 (0,08; 0,10)
∑ n-6 LCP	1,38 (1,32; 1,42)	1,15 (1,09; 1,62)	1,15 (1,14; 1,40)	1,06 (1,03; 1,19)
∑ n-6	11,94 (10,90; 13,42)	9,90 (9,31; 13,24)	12,89 (11,6; 14,47)	11,34 (9,50; 12,99)
n-3 PUFA				
C18:3n-3	0,80 (0,69; 0,88)	0,57 (0,52; 0,65)	0,77 (0,66; 1,37)	0,70 (0,58; 1,08)
C18:4n-3	0,04 (0,03; 0,05)	0,04 (0,04; 0,06)	0,05 (0,03; 0,06)	0,05 (0,04; 0,06)
C20:3n-3	0,06 (0,06; 0,07)	0,05 (0,04; 0,05)	0,06 (0,06; 0,08)	0,04 (0,03; 0,06)
C20:5n-3	0,06 (0,05; 0,09)	0,07 (0,06; 0,08)	0,05 (0,05; 0,07)	0,05 (0,05; 0,06)
C22:5n-3	0,21 (0,16; 0,23)	0,17 (0,16; 0,18)	0,15 (0,14; 0,22)	0,15 (0,14; 0,16)
C22:6n-3	0,29 (0,27; 0,42)	0,28 (0,25; 0,28)	0,37 (0,34; 0,40)**	0,21 (0,19; 0,23)**
∑ n-3 LCP	0,62 (0,57; 0,79)	0,52 (0,52; 0,60)	0,64 (0,61; 0,74)*	0,46 (0,44; 0,49)*
∑ n-3	1,61 (1,31; 1,66)	1,20 (1,11; 1,27)	1,67 (1,38; 2,04)	1,22 (1,09; 1,59)
∑ PUFA	13,73 (12,50; 15,30)	11,20 (10,81; 14,61)	14,53 (13,44; 16,67)	12,74 (10,67; 14,76)
Trans-FS				
C16:1t	0,40 (0,37; 0,41)	0,37 (0,33; 0,39)	0,34 (0,33; 0,40)	0,36 (0,33; 0,39)
C18:1t	0,65 (0,54; 0,85)	0,54 (0,45; 1,36)	1,22 (0,58; 1,67)	0,54 (0,47; 1,36)
C22:1t	0,08 (0,07; 0,09)	0,08 (0,07; 0,11)	0,08 (0,08; 0,09)	0,08 (0,07; 0,13)
C18:2tt	0,14 (0,13; 0,15)	0,16 (0,15; 0,18)	0,17 (0,12; 0,21)	0,15 (0,12; 0,17)

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$

Tabelle II:

Zeit	Vor Tracergabe		6 Stunden nach Tracergabe		12 Stunden nach Tracergabe		24 Stunden nach Tracergabe	
Gruppe	A	B	A	B	A	B	A	B
Gesättigte FS								
C14:0	0,43	0,49	0,36	0,46	0,38	0,46	0,34	0,50
C16:0	27,42	26,71	27,63	26,41	27,62	27,14	27,95	26,75
C17:0	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,43	0,44	0,44
C18:0	14,00	14,26	14,44	14,40	14,68	14,72	14,25	14,23
C20:0	0,65	0,67	0,61	0,70	0,63	0,66	0,66	0,68
C22:0	1,74	1,78	1,64	1,83	1,60	1,75	1,65	1,89
C24:0	1,14	1,24	1,04	1,20	1,00	1,17	1,09	1,23
∑ ges.FS	45,85	45,81	46,16	45,80	46,15	46,20	46,12	46,42
n-9 FS								
C18:1n-9	8,18	8,87	8,10	8,51	8,25	8,65	8,08	8,58
C20:1n-9	0,14	0,16	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
C20:3n-9	0,09	0,13	0,09	0,13	0,09	0,13	0,10	0,15
C22:1n-9	0,12	0,11	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,09
C24:1n-9	2,39	2,33	2,33	2,40	2,28	2,24	2,38	2,49
n-7 FS								
C16:1n-7	0,47	0,43	0,42	0,50	0,46	0,55	0,46	0,49
C18:1n-7	1,05	1,08	1,09	1,05	1,07	1,03	1,14	1,09
n-5 FS								
C15:1n-5	0,09	0,10	0,10	0,10	0,08	0,09	0,09	0,10
∑ einf.unges.FS	13,49	13,54	13,00	13,23	13,08	13,10	13,22	13,44
n-6 PUFA								
C18:2n-6	20,95	21,98	21,84	21,70	21,71	22,16	20,63	20,61
C18:3n-6	0,09	0,10	0,09	0,12	0,08	0,13	0,08	0,12
C20:2n-6	0,34	0,32	0,33	0,33	0,30	0,29	0,33	0,33
C20:3n-6	3,11	2,41	3,00	2,49	2,78	2,41	2,91	2,63
C20:4n-6	9,79	10,92	9,64	11,06	9,44	10,11	9,68	11,08
C22:2n-6	0,87	0,88	0,82	0,88-	0,76	0,84	0,84	0,87
C22:4n-6	0,50	0,46	0,44	0,49	0,44	0,44	0,47	0,49
C22:5n-6	0,09	0,14	0,12	0,16	0,08	0,14	0,04	0,20
∑ n-6 LCP	14,82	14,85	14,10	15,14	14,04	14,24	14,59	15,07
∑ n-6	34,91	37,42	36,05	37,15	36,09	36,99	35,56	36,26
n-3 PUFA								
C18:3n-3	0,15	0,20	0,15	0,18	0,16	0,22	0,12	0,16
C20:5n-3	0,67	0,81	0,66	0,86	0,63	0,84	0,58	0,84
C22:5n-3	0,83	0,82	0,81	0,87	0,77	0,78	0,82	0,87
C22:6n-3	3,52**	2,33**	3,42**	2,40**	3,18**	2,29**	3,54**	2,57**
∑ n-3 LCP	4,94**	3,74**	4,93*	4,09*	4,60	3,83	4,98	4,12
∑ n-3	5,09**	3,95**	5,07	4,27	4,74	4,06	5,07	4,28
∑ PUFA	40,66	41,08	41,36	41,05	41,70	40,94	40,96	40,37
n-6 + n-3 PUFA	40,49	40,98	41,21	40,95	41,55	40,84	40,82	40,25
n-6/n-3	7,38*	8,96*	7,24	8,64	7,76	8,83	7,05	8,01
n-6LCP/n-3LCP	3,28**	3,85**	2,49	3,73	2,99	3,66	2,86	3,58
Trans-FS								
C14:1t	0,07	0,11	0,09	0,11	0,12	0,09	0,14	0,12
C16:1t	0,19	0,24	0,19	0,22	0,23	0,20	0,24	0,24
C18:1t	0,14	0,12	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14
C18:2tt	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,08
C22:1t	0,15	0,13	0,16	0,12	0,15	0,11	0,154	0,14

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; statistisch signifikanter Unterschied zwischen Gruppe A und Gruppe B zu dem jeweils angegebenen Meßzeitpunkt

Tabelle III:

Zeit	Vor Tracergabe		6 Stunden nach Tracergabe		12 Stunden nach Tracergabe		24 Stunden nach Tracergabe	
Gruppe	A	B	A	B	A	B	A	B
Gesättigte FS								
C14:0	2,09	3,59	2,69	4,16	2,77	4,15	1,87**	4,68**
C16:0	25,93	27,36	27,23	28,29	26,17	27,46	27,18	30,89
C17:0	0,35	0,39	0,37	0,44	0,38	0,42	0,40	0,52
C18:0	3,78*	4,63*	5,38	6,19	5,85	7,05	4,62*	5,71*
C20:0	0,00	0,17	0,19	0,24	0,24	0,23	0,06	0,18
∑ ges.FS	32,96	36,87	39,61	39,40	35,63	39,57	34,66**	43,43**
n-9 FS								
C18:1n-9	35,62	38,36	33,85	36,16	36,27	34,97	35,76	34,19
C20:1n-9	0,34	0,56	0,34	0,28	0,41	0,35	0,37	0,35
C20:3n-9	0,30	0,20	0,11	0,13	0,12	0,08	0,31	0,13
n-7 FS								
C16:1n-7	4,16	3,62	3,40	4,07	3,55	3,65	4,08	4,06
.C17:1n-7	0,32	0,28	0,27	0,25	0,26	0,25	0,29	0,32
C18:1n-7	2,82	2,69	2,18	1,58	2,08*	1,63*	2,45	1,81
n-5 FS								
C14:1n-5	0,21*	0,39*	0,14	0,39	0,15*	0,51*	0,14	0,59
∑ einf.unges.FS	45,37	44,86	42,28	43,82	43,03	42,20	45,42	42,22
n-6 PUFA								
C18:2n-6	15,48	13,79	15,22	13,28	16,19	11,27	17,51	13,24
C18:3n-6	0,45	0,43	0,31	0,33	0,26	0,22	0,41	0,25
C20:2n-6	0,22	0,15	0,20	0,13	0,18	0,13	0,21	0,16
C20:3n-6	0,36**	0,25**	0,33	0,23	0,25	0,18	0,33	0,22
C20:4n-6	1,84	1,54	1,36	1,08	0,94	0,86	1,59	0,99
C22:4n-6	0,33	0,24	0,22	0,18	0,16	0,15	0,32	0,19
C22:5n-6	0,20	0,13	0,11	0,10	0,09	0,10	0,17	0,09
∑ n-6 LCP	2,80**	2,22**	2,16**	1,73**	1,57	1,51	2,19*	1,62*
∑ n-6	19,63	16,43	18,37	15,26	18,20	13,17	20,02	15,51
n-3 PUFA								
C18:3n-3	0,89	0,79	0,87	0,89	0,87	0,76	0,82	0,73
C20:5n-3	0,23	0,24	0,22	0,10	0,14	0,14	0,22	0,20
C22:5n-3	0,48**	0,28**	0,29	0,24	0,23	0,23	0,39*	0,24*
C22:6n-3	0,79**	0,29**	0,65*	0,33*	0,39	0,25	0,66**	0,21**
∑ n-3 LCP	1,55**	0,82**	1,16*	0,84*	0,76	0,51	1,22	0,60
∑ n-3	2,62*	1,69*	2,18	1,74	1,61	1,43	2,05	1,59
∑ PUFA	22,52	18,48	21,04	17,13	20,23	14,97	22,09*	17,00*
n-6 + n-3 PUFA	22,22	18,33	20,75	17,00	20,13	14,84	21,97	16,87
n-6/n-3	8,70	8,62	8,81	8,77	9,95	8,55	9,86	9,73
n-6LCP/n-3LCP	1,81	2,47	1,87	1,23	2,12	2,17	1,85	2,16
Trans-FS								
C18:1t	0,50	0,63	0,27	0,24	0,34	0,32	0,48	0,28

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; statistisch signifikanter Unterschied zwischen Gruppe A und Gruppe B zu dem jeweils angegebenen Meßzeitpunkt

Tabelle IV:

Zeit	Vor Tracergabe		6 Stunden nach Tracergabe		12 Stunden nach Tracergabe		24 Stunden nach Tracergabe	
Gruppe	A	B	A	B	A	B	A	B
Gesättigte FS								
C10:0	0,11	0,07	0,11	0,11	0,09	0,11	0,15	0,13
C12:0	0,40	0,42	0,49	0,51	0,42	0,52	0,53	0,65
C14:0	0,92	0,97	0,89	0,96	0,90	0,98	0,92	1,03
C16:0	11,66	11,44	11,42	11,43	11,73	11,80	11,59	11,54
C17:0	0,12	0,12	0,13	0,14	0,12	0,16	0,13	0,14
C18:0	0,91	0,97	1,05	1,07	1,09	1,06	1,06	1,10
∑ ges.FS	14,56	13,86	14,57	14,54	14,82	15,11	14,82	14,92
n-9 FS								
C18:1n-9	16,06	17,56	16,51	17,89	16,38	17,98	16,35	18,01
C20:3n-9	0,05	0,07	0,06	0,08	0,07	0,07	0,05	0,09
n-7 FS								
C16:1n-7	3,17	3,30	3,26	3,26	3,18	3,23	3,06	3,23
.C17:1n-7	0,22	0,25	0,22	0,24	0,21	0,24	0,22	0,24
C18:1n-7	1,37	1,38	1,40	1,41	1,38	1,39	1,39	1,39
n-5 FS								
C15:1n-5	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,14	0,11	0,13
∑einf.unges.FS	21,25	22,73	21,48	23,12	21,54	23,14	21,38	23,38
n-6 PUFA								
C18:2n-6	54,07	52,15	53,88	51,92	53,46	51,89	53,08	51,09
C18:3n-6	0,90	1,03	0,88	0,99	0,83	0,97	0,80	0,99
C20:3n-6	0,79	0,65	0,76	0,65	0,83	0,65	0,74	0,63
C20:4n-6	5,96	7,54	6,13	7,52	6,08	7,49	6,09	7,30
∑ n-6 LCP	6,75	8,22	6,89	8,05	6,91	7,97	6,84	7,95
∑ n-6	62,03	61,52	61,29	61,27	61,52	61,22	61,86	60,39
n-3 PUFA								
C18:3n-3	0,45	0,48	0,44	0,49	0,46	0,50	0,46	0,50
C20:5n-3	0,61	0,73	0,62	0,78	0,61	0,78	0,61	0,74
C22:5n-3	0,35	0,37	0,40	0,37	0,36	0,41	0,29	0,40
C22:6n-3	0,59	0,47	0,62	0,41	0,62	0,47	0,58	0,47
∑ n-3 LCP	1,43	1,50	1,56	1,52	1,51	1,57	1,47	1,54
∑ n-3	1,95	2,05	2,00	2,08	2,03	2,09	1,90	2,07
∑ PUFA	64,17	63,65	63,45	63,42	63,64	63,39	63,80	62,54
n-6 + n-3 PUFA	64,09	63,57	63,37	63,35	63,57	63,31	63,73	62,47
n-6/n-3	31,78	30,01	31,11	29,41	30,08	29,29	31,98	29,13
n-6LCP/n-3LCP	4,72	5,16	4,49	5,14	4,56	5,07	4,84	5,12
Trans-FS								
C18:1t	0,08	0,00	0,00	0,00	0,10	0,07	0,00	0,12

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Anja Isabel Uta Pohl
Geburtsdatum	22.12.1973
Geburtsort	München

Schulausbildung

1981 - 1985	Grundschule in München
1985 - 1993	Karlsgymnasium München-Pasing
1993	Abitur

Studium

11 / 1993	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
08 / 1995	Ärztliche Vorprüfung
08 / 1996	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03 / 1999	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04 / 1999	Praktisches Jahr - Pädiatrie, Kinderklinik Lachnerstraße - Innere Medizin, University of New Mexico, Albuquerque, USA - Kinderchirurgie, Dr. von Haunersches Kinderspital
05 / 2000	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Berufliche Tätigkeit

07/ 2000 – 11/ 2001	ÄiP, Pädiatrie, Kinderklinik an der Lachnerstraße, München
11/ 2001 – 12/ 2001	ÄiP, Pädiatrie, Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin
seit 01/2002	Wiss. Mitarbeiterin, Pädiatrie, Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin

München, den 20.06.2002 Anja Pohl