

Aus der Neonatologie des Dr. von Haunerschen Kinderspitals  
am Perinatalzentrum Großhadern  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

**Die Zusammensetzung von Frauenmilch nach Frühgeburt  
-eine prospektive Beobachtungsstudie-**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der medizinischen Fakultät der  
Ludwig- Maximilians- Universität zu München



Vorgelegt von  
Nadine Venus  
aus Traunstein

2022

Mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. med. Susanne Jonat

Mitberichterstatter: apl. Prof. Dr. Uwe Hasbargen

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 20.10.2022

**Meinem Mann Michael, der meine Promotion vor seinen  
Nachnamen stellte.**

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>I</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>V</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>VII</b>
<b>ANHANGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1 Frühgeburt- Definition und Epidemiologie .....	1
1.2 Komplikationen von Frühgeborenen .....	2
1.2.1 Nekrotisierende Enterokolitis (NEC) .....	3
1.2.2 Retinopathia praematurorum (ROP).....	8
1.2.3 Late onset Sepsis (LOS).....	8
1.3 Goldstandard in der Ernährung von Frühgeborenen .....	9
1.3.1 Anreicherung von Frauenmilch mit Frauenmilchverstärker.....	10
1.4 Bettseitige Analyse des Nährstoffgehalts von Frauenmilch.....	12
<b>2 ZIELSETZUNG UND FRAGESTELLUNG</b> .....	<b>14</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>15</b>
3.1 Studiendesign .....	15
3.2 Probandenkollektiv .....	15
3.3 Material.....	15
3.3.1 Milchproben .....	15
3.3.2 Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien.....	16
3.3.3 Übriges Verbrauchsmaterial .....	16
3.4 Methodik.....	16
3.4.1 Auftauen der Milchproben.....	16
3.4.2 Homogenisierung der Milchproben .....	17
3.4.3 Funktionsweise Sonicator (Miris Ultrasonic Processor®).....	17
3.4.4 MIRIS Human Milk Analyzer .....	18
3.4.5 Standardarbeitsanweisung (SOP).....	21
3.4.6 Statistik.....	22

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>23</b>
4.1	True Protein .....	25
4.1.1	Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts über die Tage 1-108 post partum .....	25
4.1.2	Ausreißer.....	26
4.1.3	Abhängigkeit des TP- Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern .....	27
4.1.4	Abhängigkeit des TP- Verlaufs von der Entbindungswoche .....	27
4.1.5	Abhängigkeit des TP- Verlaufs vom Geburtsgewicht.....	29
4.2	Carbohydrate .....	30
4.2.1	Zeitlicher Verlauf des Carbohydrates Gehalts.....	30
4.2.2	Ausreißer.....	31
4.2.3	Abhängigkeit des CH- Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern.....	32
4.2.4	Abhängigkeit des CH- Verlaufs von der Entbindungswoche .....	33
4.2.5	Abhängigkeit des CH- Verlaufs vom Geburtsgewicht.....	34
4.3	Fett.....	35
4.3.1	Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts.....	35
4.3.2	Ausreißer.....	36
4.3.3	Abhängigkeit des Fett-Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern.....	37
4.3.4	Abhängigkeit des Fett-Verlaufs von der Entbindungswoche.....	38
4.3.5	Abhängigkeit des Fett-Verlaufs vom Geburtsgewicht .....	39
4.4	Energie .....	40
4.4.1	Zeitlicher Verlauf des Energie Gehalts.....	40
4.4.2	Ausreißer.....	41
4.4.3	Abhängigkeit des Energie-Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern..	42
4.4.4	Abhängigkeit des Energie-Gehalts von der Entbindungswoche .....	43
4.4.5	Abhängigkeit des Energie-Verlaufs vom Geburtsgewicht.....	44
4.5	Zeitlicher Verlauf der Makronährstoffe in den postpartalen Wochen 1-4 .....	45
4.5.1	Zeitlicher Verlauf des True Protein Gehalts in den Wochen 1-4 .....	45
4.5.2	Zeitlicher Verlauf des Carbohydrate- Gehalts in den Wochen 1-4.....	46

4.5.3	Zeitlicher Verlauf des Fett-Gehalts in den Wochen 1-4.....	47
4.5.4	Streudiagramme True Protein und Fett.....	48
4.5.5	Streudiagramme True Protein und Fett.....	48
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>50</b>
5.1	Zusammenfassung.....	50
5.2	Diskussion von Material und Methoden .....	50
5.2.1	Aufbau der Studie und Probandenkollektiv .....	50
5.2.2	Lagerung und Handhabung der Frauenmilch .....	51
5.2.3	Homogenisierung mit dem Sonicator®.....	53
5.2.4	Auswertung mit MIRIS HMA.....	54
5.2.5	Ausblick Methoden .....	56
5.3	Diskussion der Ergebnisse .....	57
5.3.1	Zeitraum der untersuchten Proben und Entbindungszeitpunkt.....	57
5.3.2	Zusammensetzung der Makronährstoffe und des Energiegehalts- Interpretation des zeitlichen Verlaufs .....	58
5.3.3	Ausreißer.....	59
5.3.4	Einfluss der Faktoren Einling/Mehrling .....	62
5.3.5	Einfluss des Faktors „Entbindungswoche“ .....	63
5.3.6	Einfluss des Faktors „Geburtsgewicht“ .....	63
5.3.7	Ausblick Ergebnisse .....	64
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>66</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>74</b>
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>75</b>
<b>10</b>	<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....</b>	<b>76</b>

## Abkürzungsverzeichnis

BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CH	Carbohydrate
DHA	Docosahexaensäure
EGF	Epidermal growth factor
ELBW	Extremely low birth weight
HMA	Human milk analyzer
IR- MA	Infrared- milk analyzer (mit Infrarot-Technologie arbeitende Milchanalyse Geräte)
KG	Körpergewicht
LBW	Low birth weight
LOS	Late onset sepsis
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
PC	Polycarbonat
PE	Polyethylen
PES	Polyethersulfon
PP	Polypropylen
pp	postpartal
ROP	Retinopathy of prematurity
SSW	Schwangerschaftswoche
TLR4	Toll- like- receptor 4
TP	True Protein
VLBW	Very low birth weight
WHO	World Health Organisation

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Grafik zur Verteilung der Frühgeborenen nach Schwangerschaftswoche in Deutschland 2017 .....	2
Abbildung 2: Ätiopathogenese der NEC als multifaktorielles Krankheitsbild.....	4
Abbildung 3 Miris Sonicator.....	17
Abbildung 4 MIRIS Human Milk Analyzer .....	18
Abbildung 5 Schematische Darstellung der Hardwarekomponenten des Miris HMA™ ...	19
Abbildung 6 Displayanzeige nach erfolgreichem Check .....	21
Abbildung 7 Anzahl der Probandinnen mit Einlingen und Mehrlingen.....	23
Abbildung 8 Anzahl der Probandinnen pro Schwangerschaftswoche der Entbindung ...	24
Abbildung 9 Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts.....	25
Abbildung 10 Vergleich True Protein Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen .....	27
Abbildung 11 Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“ und „very preterm“ .....	28
Abbildung 12 Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“ .....	29
Abbildung 13 Zeitlicher Verlauf des Carbohydrate Gehalts .....	30
Abbildung 14 Vergleich Carbohydrate- Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen .....	32
Abbildung 15 Zeitlicher Verlauf des Carbohydrate- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“ und „very preterm“ .....	33
Abbildung 16 Zeitlicher Verlauf des CH- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“ .....	34
Abbildung 17 Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts.....	35
Abbildung 18 Vergleich Fett Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen .....	37
Abbildung 19 Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“ und „very preterm“ .....	38
Abbildung 20 Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“ .....	39
Abbildung 21 Zeitlicher Verlauf des Energiegehalts .....	40
Abbildung 22 Vergleich Energie-Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen .....	42

Abbildung 23 Zeitlicher Verlauf des Energie- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“, „very preterm“ und „moderate preterm“ .....	43
Abbildung 24 Zeitlicher Verlauf des Energie- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“ .....	44
Abbildung 25 Boxplot über den True Protein Verlauf in den Wochen 1-4.....	45
Abbildung 26 Boxplot über den Carbohydrate-Verlauf in den Wochen 1-4 .....	46
Abbildung 27 Boxplot über den Fett Verlauf in den Wochen 1-4.....	47
Abbildung 28 Boxplot über den Energie Verlauf in den Wochen 1-4.....	48
Abbildung 29 Streudiagramme für True Protein und Fett an den Tagen d1-d7, d22-d28 und d50-d56 .....	49

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1 Stadieneinteilung der NEC nach Bell.....	6
Tabelle 2 Nährstoffbedarf am Ende der 1. Lebenswoche.....	10
Tabelle 3 Unterschiede preterm vs term Milch zu unterschiedlichen postnatalen Zeitpunkten.....	11
Tabelle 4 Beschreibung der vom Miris HMA™ gemessenen Muttermilchbestandteile(99) .....	20

## **Anhangsverzeichnis**

Anhang 1: Vorlagebogen zur Datenerhebung .....	74
--	----

# 1 Einleitung

## 1.1 Frühgeurt- Definition und Epidemiologie

Feten die mit einem Gestationsalter von < 259 Tagen (entsprechend < 37+0 SSW) geboren werden, bezeichnet man als Frühgeborene. Hierbei unterscheidet man die Untergruppen „extremely preterm“, welche Frühgeborene bis 27+6 SSW einschließt, „very preterm“, Frühgeborene zwischen 28+0 bis 31+6 SSW, und „moderate preterm“, Kinder zwischen der 32+0 bis 36+6 SSW(1).

Eine weitere Klassifikation teilt Neugeborene anhand ihres Geburtsgewichts in „low birth weight infants“ (LBW) mit einem Geburtsgewicht <2500g, „very low birth weight infants“ (VLBW) mit einem Geburtsgewicht <1500g sowie „extremely low birth weight infants“ (ELBW) mit einem Geburtsgewicht <1000g ein (1).

Laut einem umfassenden Report der Reihe: „Born too soon- the global epidemiology on 15 million preterm births“ wurden im Jahr 2010 weltweit 14,9 Millionen von insgesamt 135 Millionen lebendgeborenen Babys zu früh geboren. Dies entspricht einer Frühgeburtenrate von insgesamt 11,1% (2-4). 2017 wurden in Deutschland laut dem Qualitätsreport des Bundesausschuss 8,6% aller Kinder vor der 37. SSW geboren (Abbildung 1) (5).

Während inzwischen immer mehr Frühgeborene ohne körperliche oder geistige Residuen aufwachsen (6), behalten viele der ehemaligen sehr unreifen Frühgeborenen entwicklungsneurologische Beeinträchtigungen zurück (7). Je geringer das Gestationsalter, desto wahrscheinlicher kommt es zu medizinisch relevanten Langzeitfolgen (7). In Follow-up Studien haben ehemalige Frühgeborene im Vorschul- und Grundschulalter sowie im jungen Erwachsenenalter häufiger als Gleichaltrige Schwierigkeiten mit motorischen und kognitiven Fähigkeiten und Probleme sich in ihrer gesellschaftlichen Rolle zurechtzufinden (8-13).

Somit ist Frühgeurtlichkeit ein aktuelles und wichtiges Thema unseres Gesundheitswesens und unserer Gesellschaft (14).

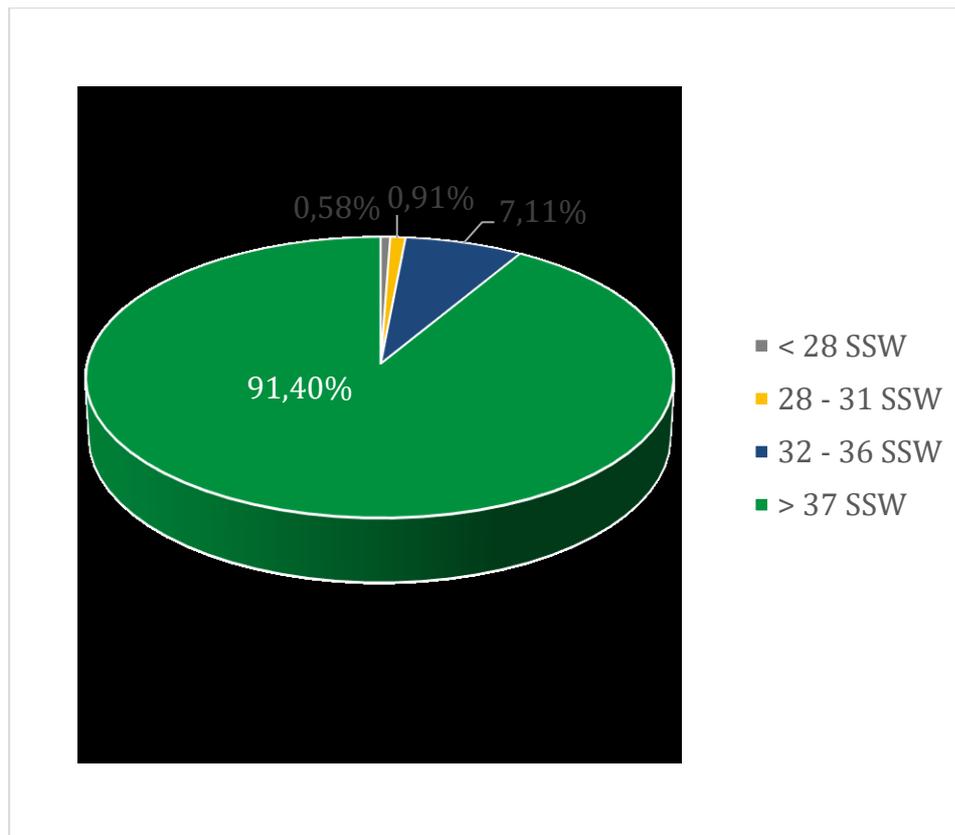


Abbildung 1: Grafik zur Verteilung der Frühgeborenen nach Schwangerschaftswoche in Deutschland 2017

### 1.2 Komplikationen von Frühgeborenen

Als Folge der Unreife der verschiedenen Organsysteme kann das Frühgeborene in Abhängigkeit von seinem Gestationsalter und verschiedenen perinatalen Faktoren eine ganze Reihe von Komplikationen entwickeln. Im Hinblick auf die langfristige Entwicklung des Frühgeborenen stehen dabei intrazerebrale Blutungen (ICH), die bronchopulmonale Dysplasie (BPD) der unreifen Lunge, die nekrotisierende Enterokolitis (NEC), Sekundärinfektionen im Sinne von Late onset Septitiden (LOS) und die Retinopathie des Frühgeborenen (ROP) im Vordergrund. Die NEC stellt dabei eine der gefürchtetsten Komplikationen dar und ist gleichzeitig eine derjenigen Komplikationen, von der vermutet wird, dass sie durch die Form der Ernährung substantiell beeinflusst werden kann (15).

### 1.2.1 Nekrotisierende Enterokolitis (NEC)

Bei der nekrotisierenden Enterokolitis handelt es sich um eine hämorrhagisch nekrotisierende Entzündung der Darmwand, die disseminiert fleckförmig bis kontinuierlich im kompletten Gastrointestinaltrakt auftreten kann (16).

#### 1.2.1.1 Inzidenz und Ätiologie der NEC

Die Inzidenz bei Neugeborenen liegt bei 0,1-0,3% und in einzelnen Studien bei bis zu 15% bei Frühgeborenen <1500g Geburtsgewicht (16, 17). Aufgeteilt nach Geburtsgewicht erhebt das National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) Neonatal Research Network folgende Inzidenzen für NEC  $\geq$  Stadium II: 11% bei 401-750 g, 9% bei 751-1000 g, 6% bei 1001-1250 g und 4% bei 1251-1500 g. Die Letalität liegt bei 15-30%, die Mortalität beträgt 13/100.000 Lebendgeborene (18).

Die NEC stellt den häufigsten gastrointestinalen und kinderchirurgischen Notfall bei Frühgeborenen dar. Häufig ist sie mit einem septischen Schock assoziiert (16).

Der Häufigkeitsgipfel der NEC liegt zwischen dem 14.-21. Lebenstag. Afroamerikanische Frühgeborene haben sowohl für die Erkrankung als auch für die Mortalität ein erhöhtes Risiko. Obwohl das Risiko für eine NEC nicht geschlechtsabhängig ist, haben männliche Frühgeborene eine höhere Mortalität (16, 19). Auch Kinder die intrauterin wachstumsretardiert waren, haben ein erhöhtes Erkrankungsrisiko (20). Weitere Risikofaktoren für die Entstehung sind kardiale Vitien (21).

Ätiologisch handelt es sich vermutlich um eine Störung der Darmmotilität sowie einer meist bakteriellen Überwucherung und durch Unreife bedingte Schwächung der intestinalen Abwehrfunktion. Eine Vasokonstriktion als Reaktion auf einen entzündlichen Stimulus spielt vermutlich ebenso eine Rolle (22-24). Schon 1999 erforschte Gewolb et al. in einer prospektiv klinischen Studie den Einfluss der Bakterienvielfalt im Frühgeborenen-Darm auf die NEC Entstehung. Die Studie kam zu dem Schluss, dass NEC-Patienten eine deutlich reduzierte Bakterienvielfalt haben und die Verfütterung von Muttermilch einen positiven, sowie die Anwendung von Antibiotika einen negativen Einfluss auf die Bakterienvielfalt nimmt (25).

Diese Arbeit gilt als Vorreiter in der Entdeckung der Rolle des „Mikrobioms“ in Bezug auf die Pathophysiologie der NEC (26).

## Einleitung

Hierauf fußt die prospektive Fall- Kontroll-Studie von Warner und Kollegen, die 2016 eine genauere Klassifizierung der Bakterienstämme bei NEC-Patienten und Frühgeborenen ohne NEC erforscht haben. Eine Häufung an gramnegativen Bakterien und der Mangel an Anaerobiern fand sich in den Stuhlproben der NEC- Patienten (27). Zudem wurde bei Kindern die keine NEC entwickelten, ein erhöhtes Vorkommen von Proteobakterien und eine geringere Anzahl an Firmicuten und Bacteroiden- Bakterienstämmen im Stuhl nachgewiesen (28).

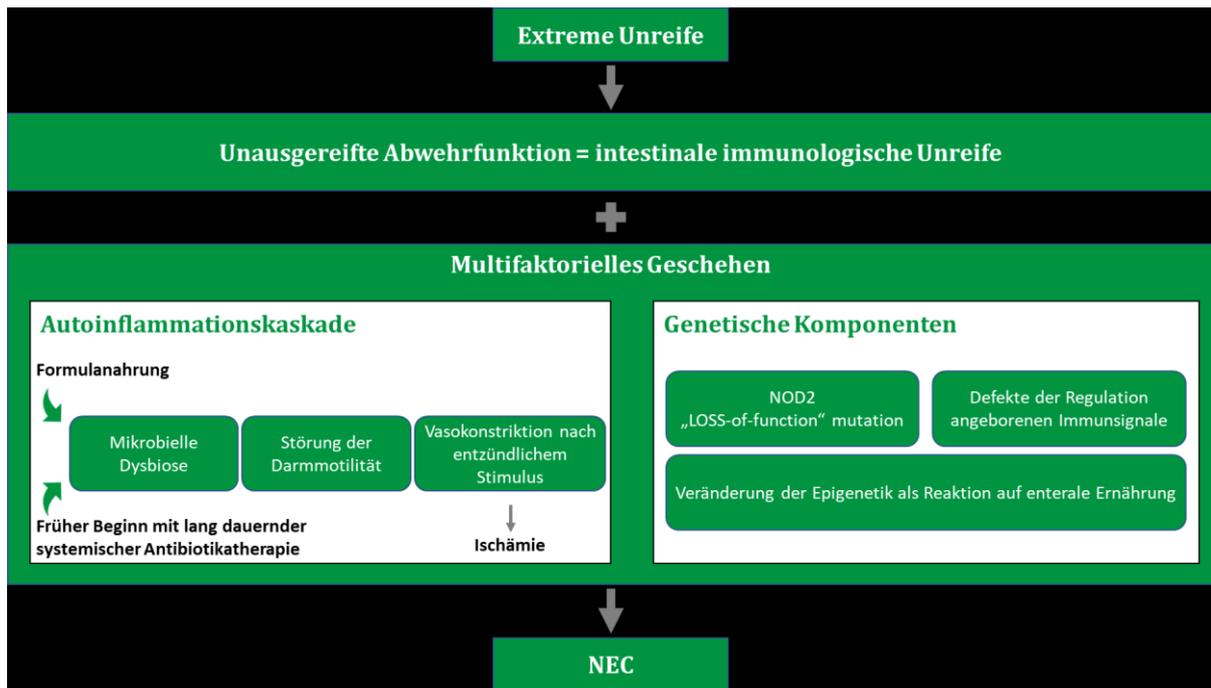


Abbildung 2: Ätiopathogenese der NEC als multifaktorielles Krankheitsbild

Die Faktoren des multifaktoriellen Geschehens können, müssen aber nicht auftreten und werden bei Nachweis als Prädisponierung angesehen, welche das Auftreten des Krankheitsbildes begünstigen können (29).

### 1.2.1.2 Fokale intestinale Perforation (FIP)

Oftmals erst während der chirurgischen Intervention von der NEC zu unterscheiden ist die fokale intestinale Perforation (FIP). Hierbei handelt es sich um eine singuläre, spontane Perforation mit Nekrose der Muscularis externa, jedoch ohne Ischämie und ohne Befall weiterer Darmanteile (30, 31). Obwohl eine gemeinsame Krankheitsidentität diskutiert wurde (30), ist die FIP von der NEC abzugrenzen (29-31).

## Einleitung

---

Die FIP hat ihren Häufigkeitstypus schon in der ersten Lebenswoche und betrifft meist noch unreifere Frühgeborene (29). Jedoch ist die Prognose besser als bei einer perforierten NEC (32). Auch auf molekularer Ebene finden sich Unterschiede für die Ätiologie und Pathophysiologie von FIP und NEC. So finden sich bei der NEC signifikant stärkere Veränderungen der Gen- Expression im Gewebe als bei der FIP (33).

Eine Studie aus Baden-Württemberg fand sowohl häufigere NEC- als auch FIP- Raten bei einem Geburtsgewicht unter 1250g (34).

### 1.2.1.3 Stadien Einteilung der NEC (nach Bell)

Bell klassifiziert die Stadien der NEC in unterschiedliche Schweregrade. Ia und Ib bezeichnen hierbei das Stadium der Verdachtsdiagnose. Bei IIa und IIb steht die Diagnose fest und reicht von „wenig“ bis „mäßig krank“. Stadium IIIa bezeichnet eine fortgeschrittene NEC und IIIb beinhaltet schließlich die Darmperforation. Eine genaue Übersicht der Stadien Einteilung mit systemischen, gastroenterologischen und radiologischen Zeichen bietet Tabelle 1 (16, 35).

Stadium	Systemische Zeichen	Gastrointestinale Zeichen	Radiologische Zeichen
Ia Verdachtsdiagnose NEC	Temperaturinstabilität, Apnoen, Bradykardien, Lethargie	Magenreste, Erbrechen, okkulte rektale Blutungen, geringgradige abdominelle Distension	Normale oder geringe Dilatation, geringgradiger Ileus
Ib Verdachtsdiagnose NEC	Wie oben	Blutige Stühle	Wie oben
IIa definitive NEC, wenig krank	Wie oben	Zusätzlich: fehlende Darmgeräusche, eindeutig abdominelle Schmerzen	Zusätzlich: Pneumatoxis intestinalis, mäßig- bis hochgradiger Ileus, mit dilatierten stehenden Darmschlingen

## Einleitung

IIb mäßig krank	Zusätzlich: milde, metabolische Azidose, mäßige Thrombozytopenie	Zusätzlich: evtl. geringgradiges Erythem an der Bauchwand, evtl. Resistenz im rechten Unterbauch	Zusätzlich: portalvenöses Gas, evtl. Aszites
IIIa fortgeschrittene NEC, schwer krank, Darm intakt	Zusätzlich: metabolische und respiratorische Azidose, Neutropenie, Sepsis mit Hypotension, Schock, Bradykardie und DIC	Zusätzlich: generalisierte Peritonitis, hochgradig abdominelle Distension und Verfärbung, Resistenz im rechten Unterbauch	Zusätzlich: definitiv Aszites
IIIb fortgeschrittene NEC, schwer krank, Darm perforiert	Wie IIIa	Wie IIIa	Zusätzlich: Pneumoperitoneum

*Tabelle 1 Stadieneinteilung der NEC nach Bell*

### 1.2.1.4 Diagnostik

Bei der Diagnosestellung einer NEC können neben der klinischen Symptomatik sowohl eine Röntgenaufnahme des Abdomens sowie Ultraschalluntersuchungen der Darmwände und des Portalkreislaufs und laborchemische Entzündungszeichen sein. In der Abdomen-Röntgenübersicht können ggf. fixierte, dilatierte oder stehende Darmschlingen gesehen werden. Zudem sind verdickte Darmwände, Pneumatosis intestinalis, freie Luft oder Luft im Pfortadersystem hinweisgebend (36). Sonografisch lassen sich ggf. verdickte Darmwände, intramurale Luft, „fließende“ Gasblasen im Pfortadersystem sowie eine verminderte Durchblutung in einzelnen Arealen und eine verminderte Motilität des Darms feststellen (37-39).

## Einleitung

---

Im Labor sollten Leuko- und Thrombozyten, CrP, Lactat und IL-6 kontrolliert werden. Ein steigender CrP Verlauf in Kombination mit pathologischen Röntgenbefunden hat eine Spezifität von 100% in der Diagnostik der NEC (40). Wichtig sind außerdem die Kontrolle von Blutzuckerwerten und Blutgasanalysen in regelmäßigen Abständen (41).

### 1.2.1.5 Prävention der NEC

In großen Beobachtungsstudien zeigte sich ein Zusammenhang zwischen dem frühen Nahrungsaufbau des Frühgeborenen mit Frauenmilch und einer möglicherweise protektiven Wirkung auf die Gesundheit des Darms (42-46).

Lucas et al. berichteten 1990 erstmals über den positiven Effekt der Muttermilchernährung auf die Inzidenz der NEC in ihrem Studienkollektiv. In ihrer prospektiven Beobachtungsstudie von 926 Frühgeborenen entwickelten 5,5% der Kinder eine NEC, 26% von ihnen verstarben an den Folgen. Es wurde beobachtet, dass das Risiko an einer NEC zu erkranken unter den mit Formulanahrung ernährten Frühgeborenen im Gegensatz zu den rein mit Muttermilch ernährten Frühgeborenen 6-10 Mal höher war. Hierbei spielte es keine Rolle, ob die Muttermilch roh verfüttert oder pasteurisiert worden war (43). In einer Cochrane Analyse von Quingley et al. zu diesem Thema flossen 11 randomisierte oder quasi-randomisierte Fallstudien ein. Die 1809 eingeschlossenen LBW Kinder oder Frühgeborene wurden entweder mit Spendermilch oder Formulanahrung ernährt und bezüglich ihres Outcomes an Körperlänge, Kopfumfang und Gewichtszunahme verglichen. Zudem wurde untersucht, wie viele Kinder je nach Ernährungsform eine NEC entwickelten. Das Risiko der Entwicklung einer NEC bei ausschließlicher Ernährung mit Formulanahrung im Vergleich zu reiner Muttermilchnahrung wurde hierbei als etwa doppelt so hoch eingestuft, wobei die NNTB (number needed to treat to benefit) 33 betrug (47).

Der protektive Effekt der Muttermilch auf den unreifen Darm ist wahrscheinlich multifaktoriell. Zum einen beeinflusst das Muttermilchmikrobiom den Aufbau des kindlichen Darmmikrobioms und legt damit einen Grundstein für eine physiologische Keimbesiedlung. Darüber hinaus wird postuliert, dass die verschiedenen immunogenen und antiinflammatorischen Inhaltsstoffe der Muttermilch einen positiven Effekt hinsichtlich der Reifung des kindlichen Immunsystems zu haben (48). Verschiedene Oligosaccharide beeinflussen das kindliche Mikrobiom und können vermutlich über

## **Einleitung**

---

diesen Einfluss die Wahrscheinlichkeit der Entstehung einer NEC vermindern (49). Ein weiterer protektiver Faktor scheint eine Signalinhibition des Lipopolysaccharidrezeptor toll- like- 4, kurz TLR4 zu sein: Good et al. konnten in einer Fall- Kontroll- Studie die Wirkung von EGF, dem epidermal growth factor, als TLR4 Signalinhibitor herausarbeiten. EGF wird besonders in den ersten Lebenswochen von den Brustdrüsen in die Muttermilch sezerniert und stellt damit möglicherweise einen Schlüsselfaktor in der TLR4 Signalinhibition -und damit der NEC- Prävention- dar (50).

### **1.2.2 Retinopathia praematurorum (ROP)**

Bei der ROP kommt es aufgrund schwankender und/oder hoher postnataler O<sub>2</sub> - Partialdrücke zur Gefäßproliferation in der Netzhaut. Dies kann zu Einblutungen und im schlimmsten Fall zur Netzhautablösung führen (42). Miller et al. haben in einer umfassenden Übersichtsarbeit die Auswirkungen der Ernährung mit reiner Muttermilch oder mit exklusiv Formulanahrung verglichen. Hierbei wurden 17 experimentelle- sowie Beobachtungsstudien zum Unterpunkt der Arbeit: „schwere ROP“ eingeschlossen. Der Vergleich kam zu dem Schluss, dass die Ernährung mit reiner Muttermilch oder Spendermilch wahrscheinlich der schweren ROP entgegen wirkt (51). In einer randomisierten Fall- Kontroll- Studie von Blakstad et al. wurde in einer Gruppe die Nährstoffzufuhr optimiert. Die Kinder erhielten eine erhöhte Zufuhr an Kalorien, Proteinen, essentiellen Fettsäuren und Vitamin A, was letztendlich bei den teilnehmenden VLBW- Frühgeborenen die visuelle Wahrnehmung verbesserte (51, 52).

In der Prä- post- Kohortenanalyse einer rein mit Formulanahrung ernährten Gruppe VLBW- Frühchen und einer entsprechenden Gruppe die mit Muttermilch ernährt wurde, konnten auch Ginovart et al. feststellen, dass die Ernährung mit Muttermilch bei ROP protektiv wirkt (53).

### **1.2.3 Late onset Sepsis (LOS)**

Eine weitere schwere Erkrankung von Frühgeborenen, die stark vom Reifegrad abhängt (54) und zudem eine hohe Mortalität besitzt (55), ist die Late onset sepsis (LOS). Im Gegensatz zur Early onset sepsis, die vor allem unmittelbar postnatal auftritt, hat die LOS ihren Höhepunkt zwischen dem 10. und 22. Lebenstag (54, 56).

In ihrer prospektiven Studie konnten Ronnestad et al. feststellen, dass die frühe enterale Versorgung extremer Frühgeborener mit Muttermilch gegenüber Formulanahrung das Risiko einer LOS signifikant senkt (57). Auch Trend et al. kamen in ihrer prospektiven klinischen Studie zu dem Schluss, dass Frauenmilch durch ihren Gehalt an Lactoferrin und Abwehrstoffen zu signifikant niedrigeren Infektionsraten bei Frühgeborenen führt (58).

### 1.3 Goldstandard in der Ernährung von Frühgeborenen

Muttermilch bietet die optimale Versorgung von reifen, gesunden sowie kranken Neugeborenen und stellt somit den Goldstandard in der Ernährung von Neugeborenen dar. Wenn eigene Muttermilch nicht verfügbar ist, sollte frühestmöglich und bevorzugt humane Spendermilch und erst wenn diese ebenfalls nicht zur Verfügung steht, Formulanahrung gefüttert werden (47, 59-62).

Wie bereits ausgeführt hat die Ernährung mit Frauenmilch einen protektiven Einfluss hinsichtlich der Inzidenz von NEC, LOS, BPD, PDA und ROP (63-69). Ob ein Frühgeborenes mit Muttermilch, Frauenmilch oder Formulanahrung ernährt wird und wie diese ggf. angereichert wird kann die neurologische Entwicklung des Kindes beeinflussen (70, 71).

In einer groß angelegten follow-up Studie von Vohr et al. aus dem Jahr 2007 wurde eine Kohorte von 773 ELBW Frühgeborenen hinsichtlich ihrer Ernährung untersucht. Es zeigte sich, dass die mit Muttermilch ernährten Frühgeborenen im Alter von 30 Monaten in repräsentativen Tests höhere Scores für die mentale und emotionale Entwicklung erreicht haben und seit ihrer Entlassung seltener rehospitalisiert wurden (71). Im Vergleich zur Ernährung mit reiner Formulanahrung zeigten Frühgeborene die mit angereicherter Frauenmilch ernährt wurden außerdem eine verkürzte Hospitalisierung (67), geringere Mortalitätsraten (47, 63, 65, 69, 72) und eine geringere Morbidität (46). Zudem konnten keine nachteiligen Effekte der Ernährung mit angereicherter humaner Milch nachgewiesen werden (63-68).

Ein Problem des Nahrungsaufbaus von Frühgeborenen mit reiner Frauenmilch ist der geringere Nährstoffgehalt der Muttermilch im Vergleich zu kommerziell hergestellter Formulanahrung für Frühgeborene: In einer groß angelegten Cochrane Analyse von Quigley et al. wurden 11 randomisierte oder quasi- randomisierte Fall- Kontrollstudien miteinbezogen. Hierbei wurde unter anderem verglichen, wie sich Frühgeborene und LBW- Kinder bezüglich ihres Wachstums entwickeln, wenn sie entweder

## Einleitung

---

Formulanahrung oder humane Spendermilch erhalten. Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass eine Ernährung mit nicht angereicherter Frauenmilch zu einem signifikant geringerem Längen- und Kopfwachstum führte, als bei den Kindern, die mit Formulanahrung ernährt wurden (47).

### 1.3.1 Anreicherung von Frauenmilch mit Frauenmilchverstärker

Im Gegensatz zu reifgeborenen Kindern haben Frühgeborene einen deutlich erhöhten Bedarf an Protein, Kalzium, Phosphat und Energie (73, 74). Einen Überblick über den Nährstoffbedarf am Ende der 1. Lebenswoche findet sich in Tabelle 2 (42, 74, 75).

Pro kg KG und Tag	Reifgeborene	Frühgeborene
<b>Kalorien(kcal)</b>	100-140	110-165
<b>Protein(g)</b>	1,8-3,6	3,5-4
<b>Fett(g)</b>	3,5-9	4-9
<b>Kohlenhydrate(g)</b>	3,6-13	8-20
<b>Volumen(ml)</b>	150-180	130-200

*Tabelle 2 Nährstoffbedarf am Ende der 1. Lebenswoche*

Obwohl die Frauenmilch von Müttern nach Frühgeburt gehaltvoller ist, als Milch von reifgeborenen Kindern, sind die Nährstoffe dennoch nicht ausreichend (76). Eine Übersicht über die Unterschiede von preterm vs term Milch zu unterschiedlichen postnatalen Zeitpunkten bietet Tabelle 3 (76).

Preterm	Energie (kcal)	Protein(g)	Fett(g)
<b>Woche 1</b>	60 (45-75)	2,2 (0,3-4,1)	2,6 (0,5-4,7)
<b>Woche 2</b>	71 (49-94)	1,5 (0,8-2,3)	3,5 (1,2-5,7)
<b>Woche 3/4</b>	77 (61-92)	1,4 (0,6-2,2)	3,5 (1,6-5,5)
<b>Woche 10/12</b>	66 (39-94)	1,0 (0,6-1,4)	3,7 (0,8-6,5)
Term	Energie(kcal)	Protein(g)	Fett(g)
<b>Woche 1</b>	60 (44-77)	1,8 (0,4-3,2)	2,2 (0,7-3,7)

## Einleitung

<b>Woche 2</b>	67 (47-86)	1,3 (0,8-1,8)	3,0 (1,2-4,8)
<b>Woche 3/4</b>	66 (48-85)	1,2 (0,8-1,6)	3,3 (1,6-5,1)
<b>Woche 10/12</b>	68 (50-86)	0,9 (0,6-1,2)	3,4 (1,6-5,2)

*Tabelle 3 Unterschiede preterm vs term Milch zu unterschiedlichen postnatalen Zeitpunkten*

Eine Möglichkeit den Nährwert und den Gehalt an Mineralstoffen in der Muttermilch zu erhöhen ist die Supplementierung der Milch mit kommerziell hergestellten Fortifiern oder die Zuführung einzelner Komponenten, wie z.B. Eiweißpulver, Eisen, Vitamin D oder Calciumphosphatpulver (73, 77). Die kommerziell hergestellten Fortifier enthalten partiell hydrolysiertes Eiweiß, Omega-3- Fettsäuren in Form von Docosahexaensäure, besser bekannt als DHA, mittelkettige Triglyceride, Kohlenhydrate, Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe in einem festen Mischungsverhältnis. Der erhöhte Gehalt an Proteinen, Mineralstoffen und Kohlenhydraten sorgt, zumindest in den ersten Lebensmonaten, für ein gesteigertes Längenwachstum, Kopfwachstum und eine gesteigerte Gewichtsentwicklung (47, 78).

Ziel der Anreicherung der Muttermilch bzw. Spendermilch ist es, postnatal eine dem intrauterinen Wachstum vergleichbare Wachstumsgeschwindigkeit von ca. 17g/d zu erreichen (79, 80). Vor allem die Proteinsupplementierung des Frühgeborenen ist für das Wachstum und Kopfwachstum von entscheidender Bedeutung (81-83). Ist die Protein- und Energiezufuhr zu gering, kann dies bei Frühgeborenen zu einem kleineren Kopfumfang führen (84, 85). Eine Wachstumsretention des Kopfwachstums ist mit niedrigerem IQ und beeinträchtigter neurologischer Entwicklung assoziiert (86).

Eine Möglichkeit das „Nährstoffdefizit“ der Muttermilch im Hinblick auf die Ernährung des Frühgeborenen auszugleichen bietet die Anreicherung der Milch mittels der oben genannten Fortifier nach einem festgelegten Schema. So erhöht zum Beispiel die 4% Zugabe von FM85® (industriell gefertigter Fortifier) den Proteingehalt der Milch von im Mittel 1,2g/100ml auf 3,0g/100ml, den Gehalt an Kohlehydraten von 7,3g/100ml auf 8,6g/100ml, den Fettgehalt von 3,5 auf 4,2g/100ml. Hierdurch erhöht sich der Kaloriengehalt von im Mittel 68 kcal/100ml auf 85kcal/100ml (87).

Eine weitere Option ist die Anreicherung nach Bedarf (Target fortification), die zwar einen höheren Arbeitsaufwand für das Klinikpersonal bedeutet, aber mit besserem Wachstum zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus einhergeht (88, 89).

## Einleitung

---

Hierbei werden die Makronährstoffe der Frauenmilch vor ihrer Anreicherung gemessen, und die Milch dann anschließend je nach angestrebtem Zielwert angereichert. Damit kann eine individualisierte Anreicherung der Milch im Hinblick auf ein optimales Wachstum des Frühgeborenen erreicht werden. Im Gegensatz dazu birgt die Standardanreicherung von humaner Milch nach einem starren Schema das Risiko einer Unterversorgung des Frühgeborenen mit Makronährstoffen (90).

Eine dritte Option zur Steuerung der Anreicherung von Frauenmilch zur Bedarfsdeckung des Frühgeborenen ist die regelmäßige Kontrolle der kindlichen Harnstoffausscheidung im Urin. Über die Harnstoffwerte können relativ einfach und exakt Rückschlüsse auf die Eiweißresorption aus der Nahrung gezogen werden. Jedoch neigen zum Beispiel intrauterin wachstumsretardierte Kinder zu erniedrigten Harnstoffwerten, die auch mit steigendem Gestationsalter nicht ansteigen. Zudem gibt es diverse z.B. medikamentöse Einflussfaktoren, wie die Gabe von Glukokortikoiden, die zu einer erhöhten Harnstoffausscheidung führen (91).

Da der Gehalt an Proteinen und Fett in der Frauenmilch von Müttern mit VLBW Kindern interindividuell sowie von Frau zu Frau stark variiert und in den ersten Lebenswochen abnimmt (92, 93), ist eine individuelle Supplementierung im Hinblick auf die Zusammensetzung der Milch und den Bedarf des Kindes möglicherweise von Vorteil (94-97).

### 1.4 Bettseitige Analyse des Nährstoffgehalts von Frauenmilch

Im Hinblick auf eine bedarfsorientierte Supplementierung von Frauenmilch wird ein Gerät im Sinne einer „Bedside- Testung“ benötigt, welches eine schnellere und einfachere Messung ermöglicht als langwierige chemische Referenzverfahren.

Hierfür wurden vor einigen Jahren Milchanalysegeräte für den klinischen Gebrauch entwickelt, die ihren Ursprung in der Lebensmittelindustrie haben. Diese arbeiten z.B. mit Nah- oder Mittel- Infrarot Technik (98).

Eine Analyse des Makronährstoffgehalts der Frauenmilch ist z.B. mit dem MIRIS Human Milk Analyzer (HMA), der mit Mittel- Infrarot- Technik misst, schon mit wenigen Millilitern in knapp einer Minute möglich. Somit kann die Muttermilch von Frauen nach

## **Einleitung**

---

Frühgeburt bettseitig analysiert und für jedes Kind zeitnah bedarfsorientiert angereichert werden.

## 2 Zielsetzung und Fragestellung

Die Ernährung hat einen signifikanten Einfluss auf die Morbidität und die Entwicklung von extrem unreifen Frühgeborenen. Durch die Verwendung von Spendermilch bzw. Muttermilch kann die Inzidenz der nekrotisierenden Enterokolitis sowie der Late onset Sepsis verringert werden. Allerdings führt die Ernährung mit reiner, nicht supplementierter Frauenmilch zu einer Verringerung der Wachstumsrate. Eine bedarfsorientierte Anreicherung der Frauenmilch kann diesen Nachteil ausgleichen. Die Zusammensetzung an Kohlenhydraten, Proteinen, Fetten und Kalorien schwankt von Frau zu Frau und interindividuell (92), zudem haben die Frühgeborenen spezifische Ernährungsansprüche.

Ziel der Arbeit ist die Untersuchung der Zusammensetzung von gespendeter Frauenmilch mit dem Miris Human Milk Analyzer in Abhängigkeit des Laktationsstadiums, der Schwangerschaftswoche zum Zeitpunkt der Entbindung der Spenderin und der zeitliche Verlauf. Anhand der Ergebnisse erfolgt eine kritische Beurteilung der aktuell durchgeführten schematischen Supplementierung der Muttermilch.

Folgende Fragestellungen werden untersucht:

- a. Wie verhält sich der zeitliche Verlauf der Zusammensetzung von Makronährstoffen in Frauenmilch von Müttern nach Frühgeburt?
- b. Lässt sich aus den Ergebnissen eine Handlungsempfehlung für die Praxis der Anreicherung der Frauenmilch auf der neonatologischen Intensivstation ableiten?

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studiendesign**

In dieser prospektiven klinischen Beobachtungsstudie wurden Milchproben von Müttern nach Frühgeburt <34. SSW in der Zeit von April 2013 bis März 2015 im Rahmen des Aufbaus der Frauenmilchbank am Perinatalzentrum des Dr. von Haunerschen Kinderspitals am Campus Großhadern systematisch hinsichtlich ihrer Zusammensetzung analysiert. Für die Analyse wurde ausschließlich der Miris HMA verwendet.

Jede Milchprobe (Volumen ca. 5ml) wurde in 2 Aliquote unterteilt und jeweils gemessen. Aus den beiden Ergebnissen wurde der Mittelwert für die weitere Auswertung berechnet. Bei einer Probenmenge < 5ml erfolgte lediglich eine Einfachmessung.

### **3.2 Probandenkollektiv**

In die vorliegende Datenanalyse wurden die Milchanalysedaten von allen stillenden Müttern, die ihr Frühgeborenes auf der Station hatten, eingeschlossen. Ausschlaggebend für die Auswertung des entsprechenden Datensatzes war ein Entbindungszeitpunkt zwischen der 24+0. bis 32+6. SSW. Die Daten wurden vollständig anonymisiert in einer Datenbank erfasst (Datenerfassung im Rahmen des durch die Ethikkommission genehmigten Projekts mit der Projekt-Nr.: 17-231).

### **3.3 Material**

#### **3.3.1 Milchproben**

Die Muttermilch für die Messungen im Miris Gerät wurde in einem dafür vorgesehenen Abpumpgefäß mittels elektrischer Milchpumpe gesammelt. Ein Aliquot der abgepumpten Milch wurde anschließend in ein Probenröhrchen aus Polypropylen umgefüllt. Die Probenröhrchen wurden von den Müttern fest verschlossen und zeitnah in der Milchküche abgegeben. Dort wurden sie schockgefrostet und bei -20°C aufbewahrt.

Alle Proben entstammen einem kompletten Abpumpvorgang mit vollständiger Brustentleerung. Die Milchproben einer Mutter wurden nicht gepoolt.

Die Sammlung der Milchproben wurde beendet, wenn es Probleme mit der Laktation der Mutter oder der Versorgung des Frühgeborenen/ der Frühgeborenen gab. Außerdem

schieden die Mütter bei Beendigung des stationären Aufenthalts ihres Kindes auf der neonatologischen Station aus der Erhebung aus.

### 3.3.2 Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien

Zur Inbetriebnahme des Miris HMA werden generell eine Miris Check™ Lösung, eine Miris Cleaner™ Lösung sowie destilliertes Wasser benötigt. Die Lösungen wurden vor Inbetriebnahme laut Standardanweisung vorbereitet, im Kühlschrank bei 4-6°C gelagert und vor Inbetriebnahme der Messungen im Wasserbad auf 37°C erwärmt.

### 3.3.3 Übriges Verbrauchsmaterial

- Konische Zentrifugenröhrchen (Falcon®) aus Polypropylen
- Handelsübliche Abpumpgefäße aus Polypropylen
- Handelsübliche 2ml und 5ml Spritzen (BRAUN Injekt®) aus Polypropylen und Polyethylen
- Silikonschlauch für In- und Outlet
- Gefäß zum Ableiten der gemessenen Flüssigkeiten
- Aqua destillata in 100ml und 1000ml Flaschen aus Glas

## 3.4 Methodik

### 3.4.1 Auftauen der Milchproben

Die bei -20°C aufbewahrten Milchproben wurden über 24 Stunden im Kühlschrank bei 4°C bis 6°C aufgetaut. Anschließend wurden sie für zehn Minuten auf 37°C in einem handelsüblichen Wasserbad erwärmt. Während des Aufwärmprozesses wurde sichergestellt, dass das Probengefäß (Zentrifugenröhrchen oder Pumpbehältnis) fest verschlossen blieb, um ein Verdunsten der Milchprobe zu vermeiden. Das Erwärmen fand maximal 15-20 Minuten statt, um die Proteine nicht zu denaturieren.

Das schnelle Einfrieren (Schockfrost) und langsame Auftauen der Milch verhindert die Ausbildung von größeren Eiskristallen, die die Messung verfälschen können.

### 3.4.2 Homogenisierung der Milchproben

Vor der Messung wurde jede Milchprobe homogenisiert, da es in über längerer Zeit gelagerter Milch zu Fettabscheidung und Proteinaggregation kommen kann (99). Zur Homogenisierung wurde der Miris Sonicator verwendet (Abbildung 3). In Abhängigkeit des eingesetzten Probenvolumens erfolgte automatisiert die Homogenisierung.

### 3.4.3 Funktionsweise Sonicator (Miris Ultrasonic Processor®)

Der Sonicator (Abbildung 3 ) führt durch mechanische Vibration seiner Messsonde zur Kavitation der Milchprobe. Dadurch werden größere MilCHFettkügelchen in kleinere Kügelchen zerstoßen. Die Probe wird somit homogener und Messungenauigkeiten werden reduziert.



*Abbildung 3 Miris Sonicator*

### 3.4.4 MIRIS Human Milk Analyzer

Der Miris HMA™ besteht neben verschiedenen Hardwarekomponenten aus einer empfindlichen Messküvette (Abbildung 4).

Die Küvette ist eine Messzelle im mittleren Infrarotbereich, mit einem Einlass und Auslass. Ein Distanzstück von 50µm trennt zwei Calciumfluorid-Fenster, durch die die Flüssigkeit fließt, die in das Inlet injiziert wurde.

Während sich auf der einen Seite der Fenster ein Infrarotstrahler (Emitter) befindet, ist auf der anderen Seite ein Detektor mit vier Kanälen lokalisiert, der die durch die Flüssigkeit transmittierte Strahlung empfängt.

Die Filter des Detektors sind so gewählt, dass sie nur mittel-infrarote Strahlung absorbieren, die mit Fett, Protein bzw. Kohlenhydraten korreliert. Der vierte Filter stellt einen Referenzfilter dar (Abbildung 5).



Abbildung 4 MIRIS Human Milk Analyzer

### 3.4.4.1 Mittelinfrarot Messung

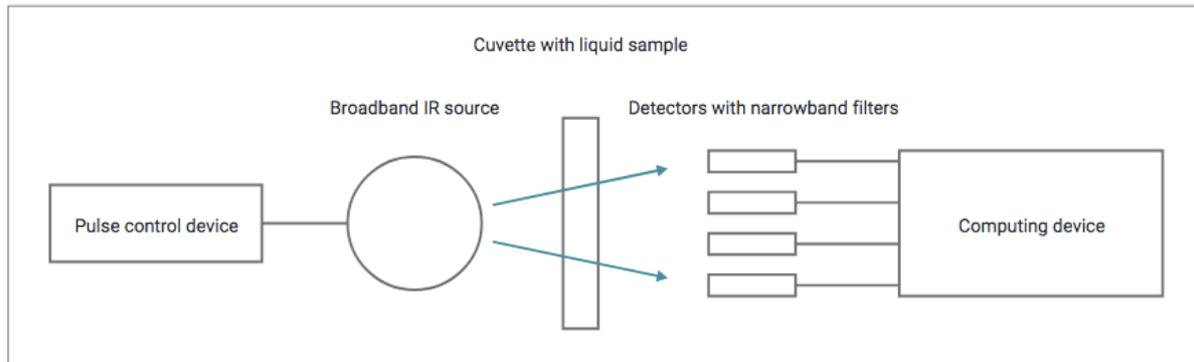


Abbildung 5 Schematische Darstellung der Hardwarekomponenten des Miris HMA™

### 3.4.4.2 Funktionsprinzip des Messgerätes

Die Infrarotquelle durchdringt die transparente Küvette mit der Flüssigkeitsprobe. Nach dem Durchlaufen der Küvettenkammer wird ausgewertet, wie viel Strahlung von spezifischen Funktionsgruppen von Fett, Protein bzw. Kohlenhydraten absorbiert wurde. Die quantitative Bestimmung von Fett, Protein und Kohlenhydraten erfolgt nach dem Beerschen Gesetz (Absorption der Konzentration verhält sich proportional).

Anhand der internen Kalibrierung des Miris HMA™ Software werden die Messdaten verarbeitet und die Ergebnisse dem Anwender präsentiert.

Im Produktionslabor von Miris erfolgt die interne Kalibrierung mithilfe einer Matrix von Muttermilchproben, die den Messbereich des Miris HMA™ für die einzelnen Bestandteile abdecken. Die Kalibrierproben werden mit dem Miris HMA™ und den Referenzverfahren analysiert. Die Ergebnisse hieraus werden zusammengefasst, um Kalibrierkurven für Fett, Protein bzw. Kohlenhydrate zu erstellen. Diese ergeben dann die interne Kalibrierung.

Die interne Kalibrierung beruht auf chemischen Referenzverfahren, die für die Analyse von Muttermilch gebräuchlich sind. Es werden Röse-Gottlieb für Fett und Kjeldahl für Rohprotein und Reinprotein verwendet. Die Messwerte für Reinprotein entsprechen dem Rohprotein abzüglich dem Nicht-Protein-Stickstoff (NPN). Die Referenzanalyse des Gesamtgehalts an Kohlenhydraten (Laktose und Oligosaccharide) ist eine Berechnung der Trockenmasse minus Fett, Protein und einem Mineral. Die Bestimmung der Trockenmasse erfolgt im Trockenschrank (99).

## Material und Methoden

Bestandteil	Angegebene Einheit	Definition	Mittel-IR-Absorptionsgrad Chemische Bindung	$\lambda$	Referenzverfahren
Fett (F)	g/100ml	Triacylglyceride (ca 98-99%) Di- und Monoglyceride, FFA, Phospholipide, Sterine	Carbonylgruppe mit Esterbindungen von Glyceriden	5,7 $\mu$ m	Röse- Gottlieb
Rohprotein (CP)	g/100ml	Gesamtgehalt Stickstoff*6,38 enthält Protein N und Nicht- Protein- N	Sekundäre Amid- Gruppen mit Peptidbindungen	6,5 $\mu$ m	Kjeldahl
Reinprotein (TP)	g/100ml	Rohprotein*0,8 Nicht- Protein-N (ca 20% des Gesamt-N ausgeschlossen)	Sekundäre Amid- Gruppen mit Peptidbindungen	6,5 $\mu$ m	Kjeldahl
Kohlenhydrate (CHO)	g/100ml	Gesamtgehalt an Kohlenhydraten, Lactose (70-85%), Mono- und Oligosaccharide (15-30%)	Hydroxylgruppen von Laktose und Mono-/Oligosacchariden	9,6 $\mu$ m	Trockenschrank für TS  CHO=TS-F-CP-ash
Trockenmasse (TS)	g/100ml	Trockenmasse	Berechnet aus den Messergebnissen des Miris HMA	-	TS=F+CP+CHO+0,2 (Mineralien)
Energie (E)	kcal/100ml	Energiegehalt	Berechnet aus den Messergebnissen des Miris HMA	-	E=9,25*F+4,40*CP+4,00*CHO

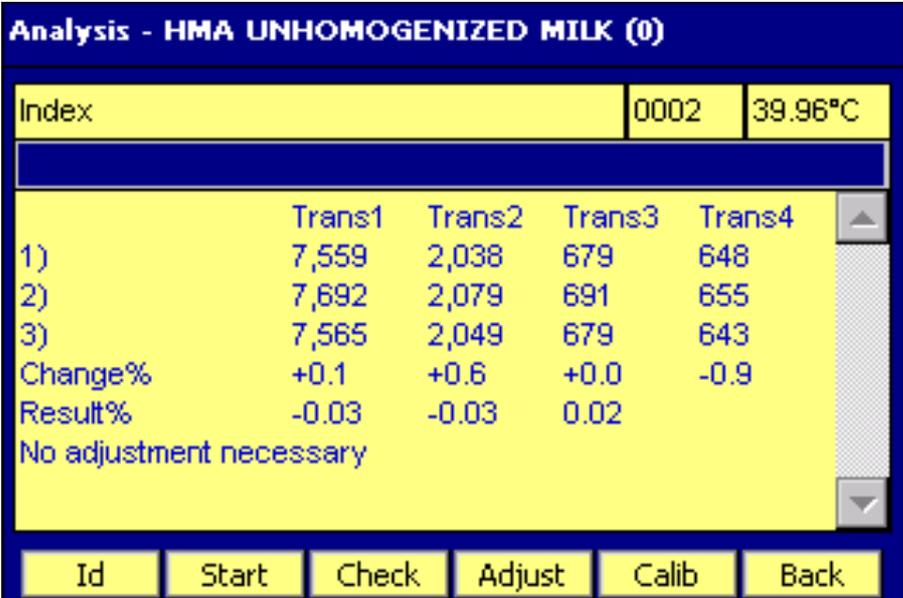
Tabelle 4 Beschreibung der vom Miris HMA™ gemessenen Muttermilchbestandteile(99)

### 3.4.5 Standardarbeitsanweisung (SOP)

#### 3.4.5.1 Vorbereitung

Nach Einschalten des Miris HMA ist dieser nach ca. 30 Minuten Aufwärmzeit bereit zur Analyse. Beim Aufbau wird ein Verbindungsschlauch am Outlet angebracht, welcher in ein Abfallgefäß abgeleitet wird (Abbildung 4).

Anschließend wird im Hauptmenü „Analyse“ und „homogenisierte Milch“ ausgewählt. Es folgt der Check der Nullpunkteinstellung. Dafür wird erwärmte Checklösung in das Inlet injiziert und „Check“ aktiviert. Dieser Arbeitsschritt wird so lange wiederholt bis „no adjustment necessary“ angezeigt wird (Abbildung 6).



Analysis - HMA UNHOMOGENIZED MILK (0)					
Index		0002	39.96°C		
	Trans1	Trans2	Trans3	Trans4	
1)	7,559	2,038	679	648	
2)	7,692	2,079	691	655	
3)	7,565	2,049	679	643	
Change%	+0.1	+0.6	+0.0	-0.9	
Result%	-0.03	-0.03	0.02		
No adjustment necessary					

Abbildung 6 Displayanzeige nach erfolgreichem Check

#### 3.4.5.2 Analyse

Im Hauptmenü wird „Analyse“ ausgewählt.

Anschließend erfolgt die manuelle Eingabe der Probandin, Probennummer und Anzahl der Probe unter dem Punkt „ID“.

2-3ml der auf 37°C erwärmten und bereits homogenisierten Probe werden dann in das Inlet des Miris HMA injiziert. Zur Vermeidung von Luft im System sollten ca. 0,5ml Milch in der Spritze verbleiben.

Nach zehn Analysen ist eine Reinigung des Gerätes mit anschließendem erneuten

Analyse-Check notwendig.

Im Rahmen der Studie erfolgte nach 100 Analysen oder einmal pro Woche eine Reinigung von Inlet und Outlet. Jede Messung erfolgte in Douplets. Zum Export der Ergebnisse wurden die Daten auf einen USB Stick transferiert und zusätzlich anonymisiert in schriftlicher Form dokumentiert (Anhang 1).

### 3.4.6 Statistik

Für die Auswertung der Daten wurden die Ergebnisse der Einzelmessungen in Excel eingegeben und anschließend die Mittelwerte in Bezug auf die einzelnen Makronährstoffe gebildet. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte nach Makronährstoff und Probandin über den jeweiligen Spenderzeitraum. Um den zeitlichen Verlauf beurteilen zu können, wurden die Ergebnisse aller Probandinnen konsolidiert und als Boxplots aufbereitet. Es erfolgte eine zeitliche Unterscheidung in die postpartalen Tage d1-d28 und d29-d108. Mit Hilfe des T- Tests wurden beide Zeiträume miteinander verglichen (einseitiger T-Test nach Testung hinsichtlich einer Normalverteilung,  $p < 0,05$  als Signifikanzniveau).

Um den gesamten Verlauf d1-d108 hinsichtlich Mittel- und Medianwerte vergleichen zu können, wurden die Daten zusätzlich in einem Streudiagramm dargestellt. Der zeitliche Verlauf wurde anschließend mit den Faktoren Entbindungswoche, Geburtsgewicht und Einling/Mehrling korreliert (statistische Aufarbeitung nach Beratung durch das Institute for Medical Information Processing, Biometry and Epidemiology (IBE) der LMU München).

### 4 Ergebnisse

Im Zeitraum von April 2013 bis März 2015 wurden 557 Milchproben von 31 Müttern nach Frühgeburt in der 24+3 SSW bis 32+5 SSW auf ihre Zusammensetzung untersucht. Bei den 31 Probandinnen handelte es sich um Mütter, deren Kinder als Patienten auf der neonatologischen Intensivstation in Großhadern behandelt wurden.

27 von 31 Frauen wurden in Großhadern entbunden. 4 Frauen wurden postpartal mit ihren Kindern auf die neonatologische Intensivstation im Perinatalzentrum Campus Großhadern verlegt.

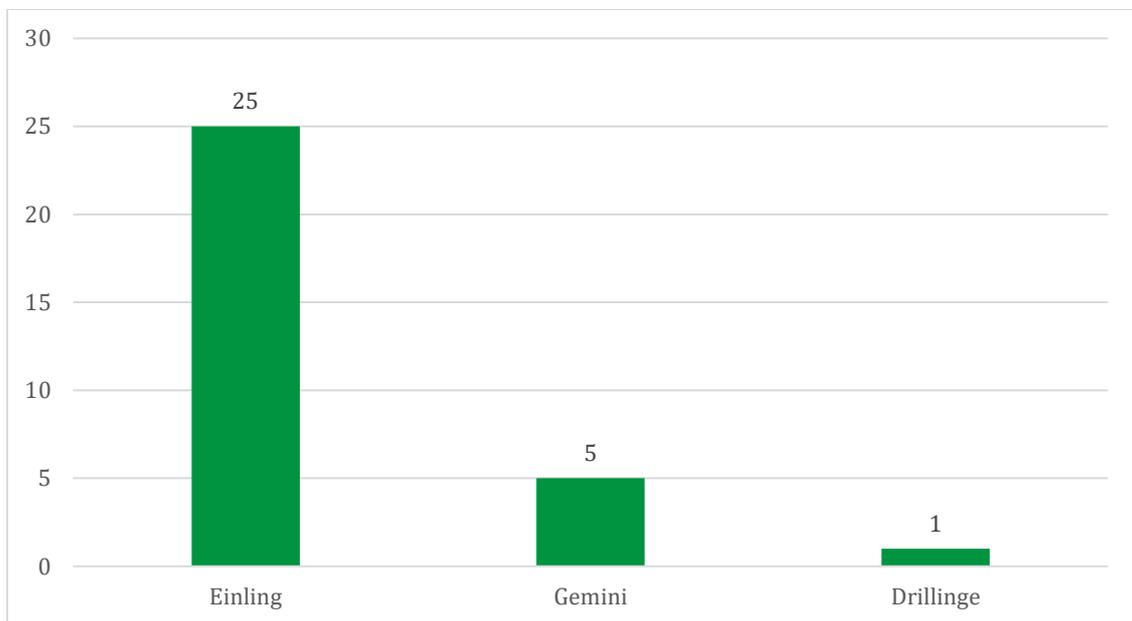


Abbildung 7 Anzahl der Probandinnen mit Einlingen und Mehrlingen

Unter den Studienteilnehmerinnen waren 25 Mütter von Einlingen und sechs Mütter von Mehrlingen. Hierunter waren fünf Gemini- und eine Drillingsmutter (Abbildung 7).

Von den 31 Studienteilnehmerinnen wurden drei spontan entbunden, zwei Mütter erhielten einen primären Kaiserschnitt, 21 Mütter wurden sekundär, d.h. nach bereits einsetzender Wehentätigkeit sectioniert. Eine Patientin wurde per Notsectio entbunden. Von den vier Probandinnen die außerhalb von Großhadern entbunden wurden, ist der Entbindungsmodus nicht mehr zu eruieren gewesen.

## Ergebnisse

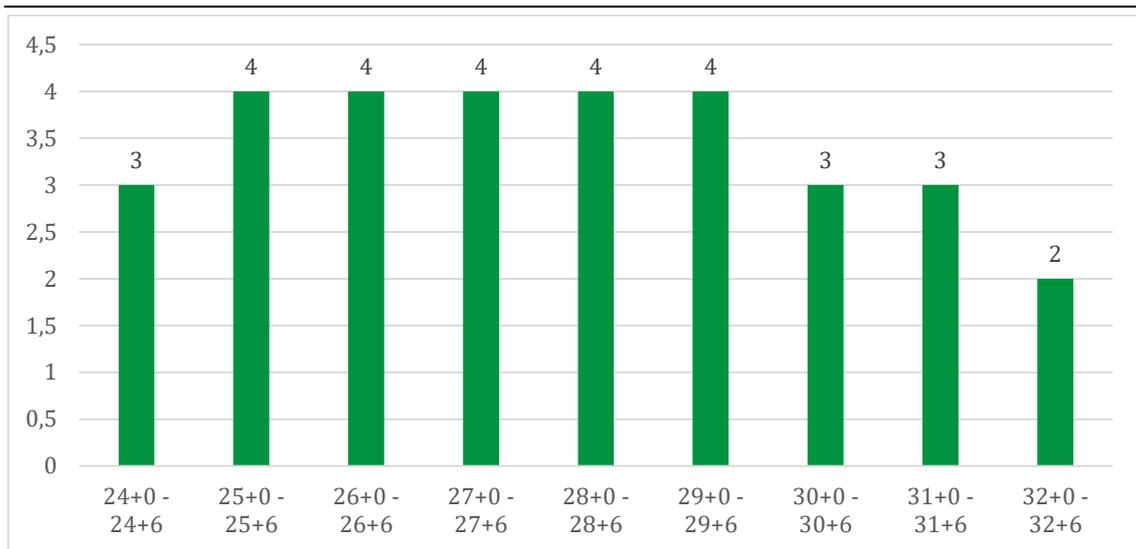


Abbildung 8 Anzahl der Probandinnen pro Schwangerschaftswoche der Entbindung

Fünfzehn Probandinnen wurden von „extremely preterm infants“, vierzehn Mütter von „very preterm infants“ und zwei Mütter von „moderate preterm infants“ entbunden (Abbildung 8).

Die Probandinnen konnten zwischen einer und 64 Proben abgeben.

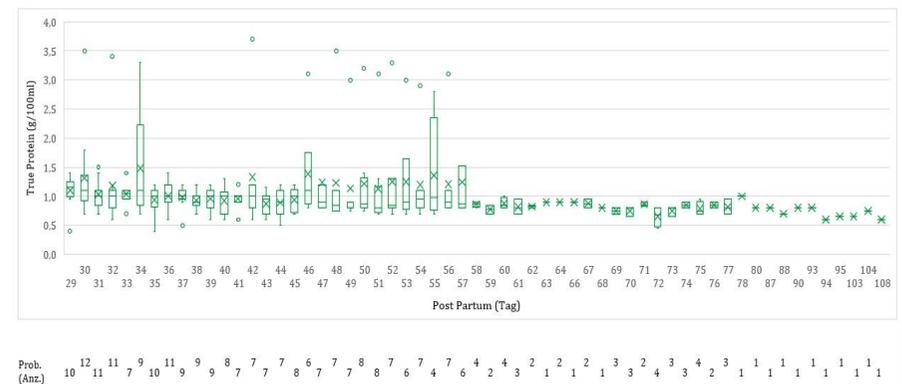
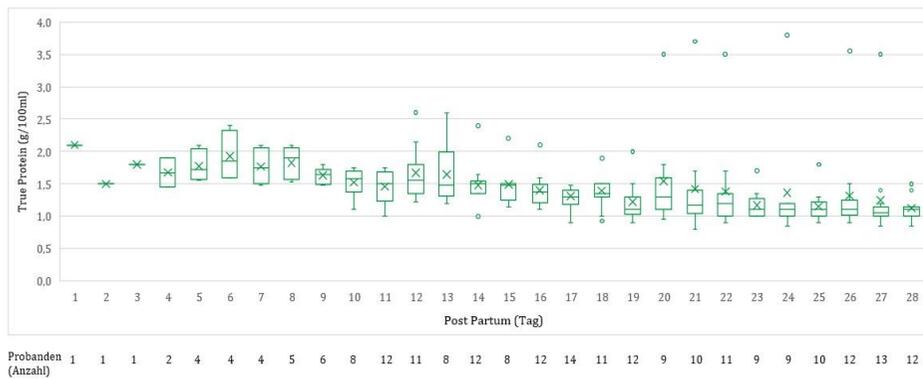
Es gab Milchproben vom ersten postpartalen Tag bis zum Tag 108 nach Entbindung. Die meisten Probandinnen spendeten Milchproben zwischen den Tagen 5 bis 75 nach Entbindung (4 bis 14 Probandinnen pro Tag).

Die Ergebnisse der Zusammensetzung in die Makronährstoffe True Protein (TP), Carbohydrates, Fett und Energiegehalt der ausgewerteten Proben sind nachfolgend dargestellt.

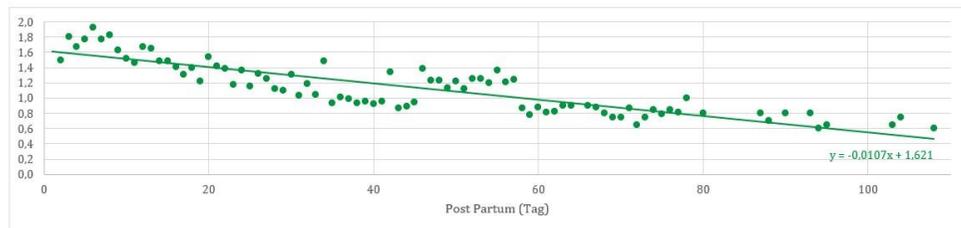
# Ergebnisse

## 4.1 True Protein

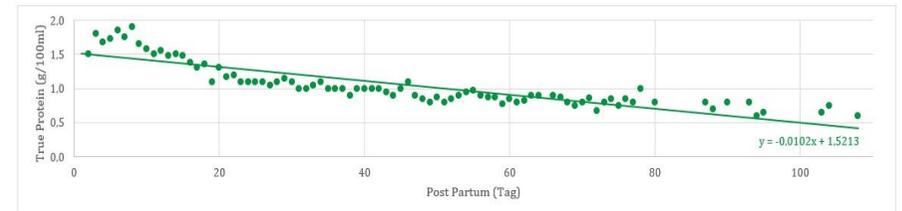
### 4.1.1 Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts über die Tage 1-108 post partum



a. Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts pp d1-d28 (Boxplot)



b. Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts pp d29- d108 (Boxplot)



c. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108 Mittelwerte

d. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108: Medianwerte

Abbildung 9 Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts

## Ergebnisse

---

In Abbildung 10 a und b ist der zeitliche Verlauf der postpartalen Tage 1-28 und 29-108 als Boxplots dargestellt.

Während nach 7 Tagen ein bei 4 Proben durchschnittlicher True Protein Gehalt von 1,8g/100ml gemessen werden konnte, lag der Gehalt an Tag 28 bei 12 Proben nur noch bei durchschnittlich 1,1g/100ml. In Abbildung 10 b wird ersichtlich, dass die Probenanzahl über den langen Beobachtungszeitraum stark abnimmt und trotz der vielen hohen Ausreißerwerte schließlich ein durchschnittlicher True Protein Gehalt von 0,6g/100ml erreicht wird.

17 von 31 Probandinnen gaben in beiden Zeiträumen (d1-d28 und d29-d108) Proben ab. Der durchschnittliche True Protein Gehalt in den Tagen 1-28 lag bei 1,4 g/100ml. Der durchschnittliche True Protein Gehalt in den Tagen 29-108 lag bei 1,2g/100ml. Der Abfall des mittleren True Protein Gehalts war mit  $p=0,04$  statistisch signifikant.

Eine Übersicht des Trends der Durchschnitts- und Medianwerte über den gesamten untersuchten Zeitraum der postpartalen Tage 1-108 findet sich in Abbildung 10 c und 10 d.

Der mittlere Gehalt an True Protein in der Muttermilch zwischen Tag 1 und Tag 108 fiel um 71,4% (von 2,1 g/100ml an Tag 1 auf 0,6 g/100ml an Tag 108).

Im Vergleich sieht man, dass die Werte vor allem in den Tagen 20- 75 einheitlicher verliefen und keine große Streuung aufwiesen. Die Ausreißerwerte die für den Unterschied verantwortlich sind, wurden nachfolgend genauer betrachtet.

### 4.1.2 Ausreißer

Drei der Mütter zeigten an verschiedenen Zeitpunkten einen dauerhaften Wiederanstieg der True Protein-Werte, die als Ausreißer sichtbar sind.

Probandin 28 ist Mutter von VLBW Mehrlingen, die „very preterm“ geboren wurden. Der TP- Gehalt ihrer Milch lag in den Tagen 10-19 zwischen 1,4 und 0,9g/100ml, und hatte einen typischen sinkenden Verlauf. Sie gab in den Tagen 20 bis 34 neun Proben ab, deren Werte zwischen 3,3 und 3,8g/100ml lagen.

Probandin 27 ist Mutter eines „extremely preterm“ und ELBW Einlings. Der TP- Gehalt ihrer Muttermilch fiel in den pp Tagen 6-45 von 2,4 auf 0,7g/100ml. In den

## Ergebnisse

Tagen 46 bis 57 wurden zwölf Proben von ihr untersucht, deren Werte zwischen 2,8 und 3,5g/100ml lagen.

Probandin 8 hatte an Tag 34 einmalig einen sehr hohen Wert von 3,2g/100ml.

Probandin 8 ist Mutter von ELBW und „extremely preterm“ Mehrlingen.

### 4.1.3 Abhängigkeit des TP- Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern

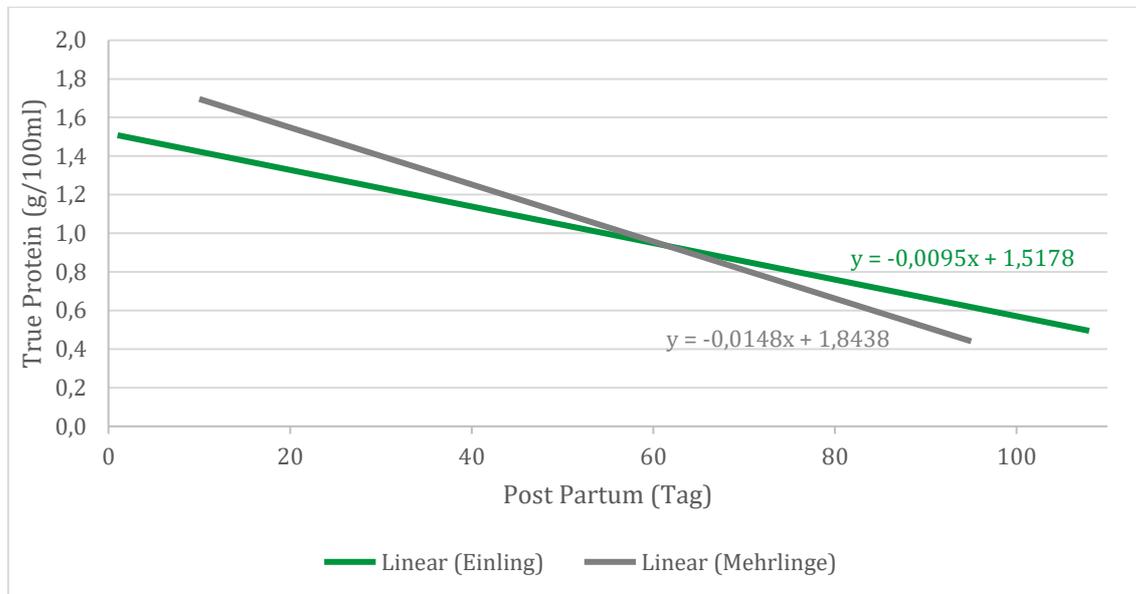


Abbildung 10 Vergleich True Protein Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen

Es waren unter den Probandinnen 25 Einlingsmütter die 408 Proben abgeben konnten und 6 Mehrlingsmütter, darunter 5 Mütter von Gemini und eine Mutter von Drillingen die zusammen 115 Proben abgeben konnten.

Im Vergleich True Protein Gehalt bei Müttern von Einlingen vs Müttern von Mehrlingen wurde deutlich, dass der Proteingehalt bei Mehrlingsmüttern zwar initial höher ansetzte, aber auch steiler abfiel. (Abbildung 10 )

### 4.1.4 Abhängigkeit des TP- Verlaufs von der Entbindungswoche

In Bezug auf den Abfall des TP Gehalt über den zeitlichen Verlauf nach Geburt wurde eine weitere Analyse hinsichtlich des Ausprägungsgrades der Frühgeburtlichkeit und des Geburtsgewichts durchgeführt. In der nachfolgenden Graphik ist der True Protein Gehalt in Abhängigkeit von der Stilldauer (Tage post partum) und der Frühgeburtlichkeit (very und extremely preterm) dargestellt:

## Ergebnisse

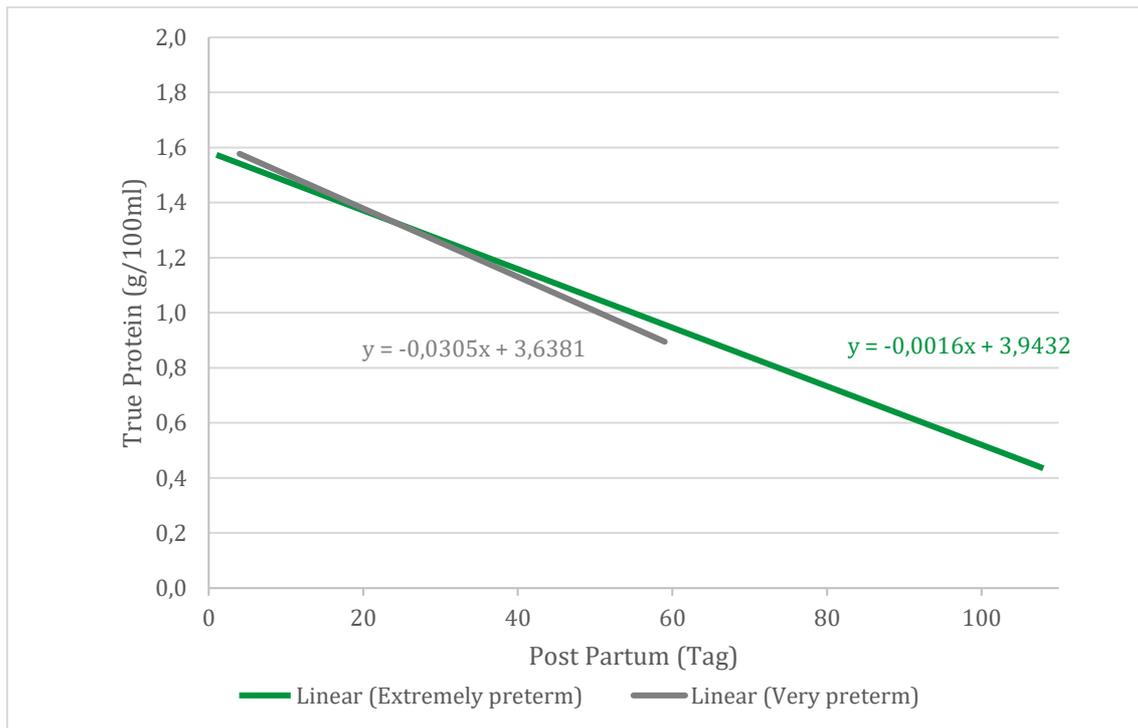


Abbildung 11 Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“ und „very preterm“

Sowohl von „extremely“ also auch von „very preterm“ Müttern fällt der True Protein Gehalt in der Frauenmilch stark ab.

## Ergebnisse

### 4.1.5 Abhängigkeit des TP- Verlaufs vom Geburtsgewicht

Auch in Bezug auf das Geburtsgewicht des Kindes (low, very low und extremely low birth weight) zeigte sich ein ähnlicher Verlauf des True Protein Gehalts im Verlauf der Stilldauer:

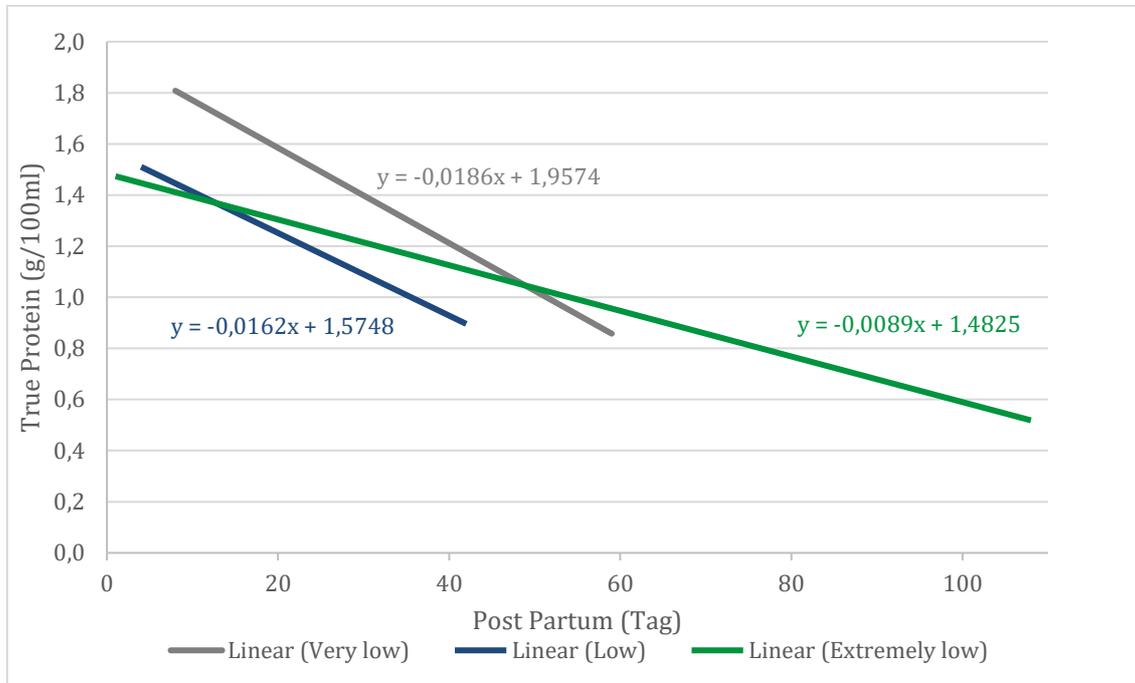


Abbildung 12 Zeitlicher Verlauf des TP- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“

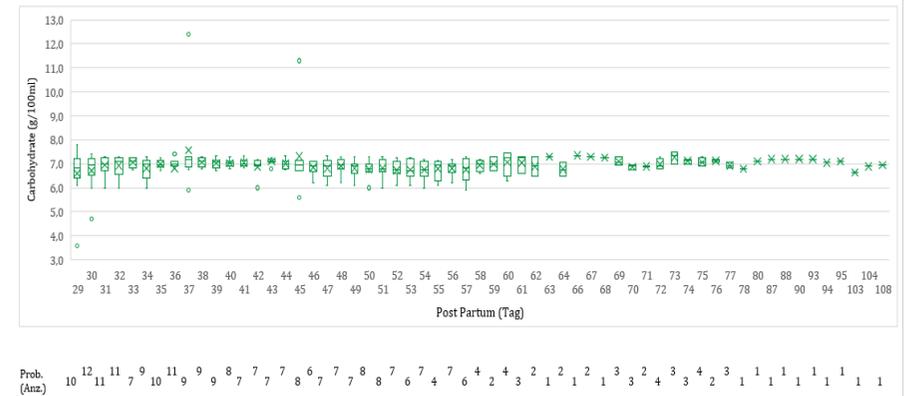
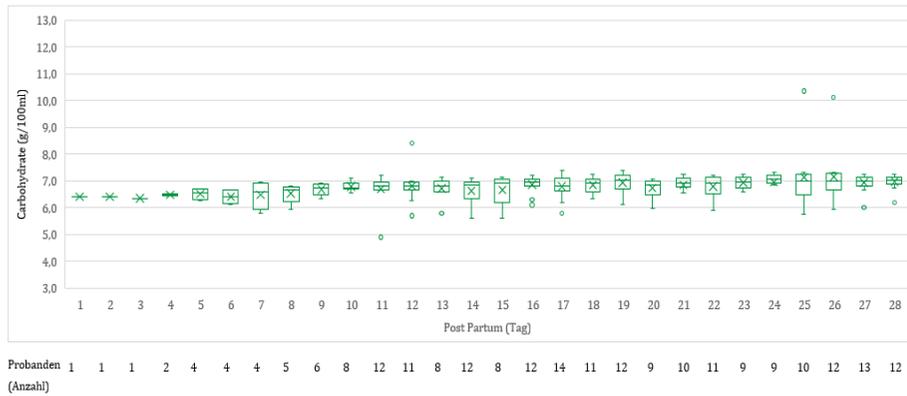
Unter den Probandinnen hatten 15 ein ELBW Frühchen und konnten insgesamt 349 Proben abgeben, 11 ein VLBW Frühchen mit insgesamt 120 Proben und 5 Kinder kamen mit LBW zur Welt. Von ihren Müttern gab es insgesamt 54 Proben.

Der TP- Gehalt der Frauenmilch von Müttern von LBW Frühchen startete ähnlich wie der von ELBW Frühchen, fiel aber deutlich schneller ab.

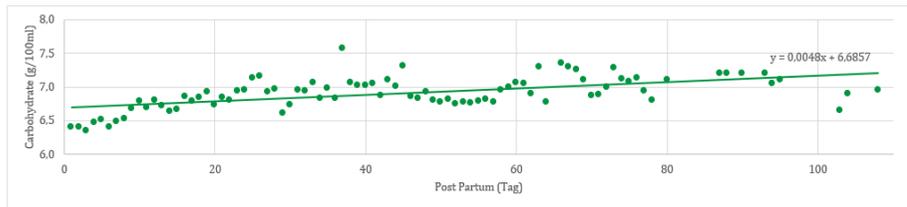
Der Graph zum Streudiagramm von VLBW Frühchen startete mit dem höchsten True Protein Gehalt, und fiel am steilsten ab (Abbildung 12 ).

## 4.2 Carbohyrate

### 4.2.1 Zeitlicher Verlauf des Carbohyrates Gehalts

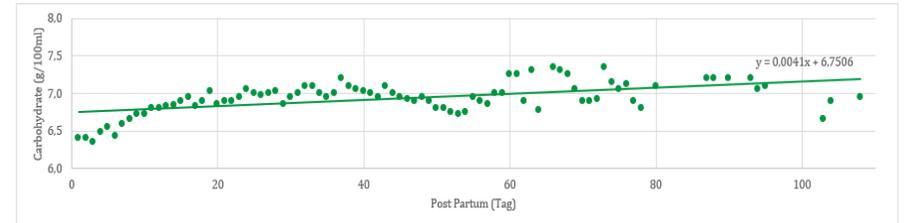


a. Zeitlicher Verlauf des CH- Gehalts über die Tage d1-d28 pp



c. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108: Mittelwerte

b. Zeitlicher Verlauf des CH- Gehalts über die Tage d29-d108 pp



d. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108: Medianwerte

Abbildung 13 Zeitlicher Verlauf des Carbohyrate Gehalts

## Ergebnisse

---

Der Median lag an Tag 7 bei 6,6 g/100ml. Der durchschnittliche Kohlenhydratgehalt (CH) lag bei 6,5g/100ml. An Tag 28 betrug der Kohlenhydratgehalt der Muttermilch von 12 untersuchten Proben durchschnittlich und im Median 7,0 g/100ml. Auch in den folgenden postpartalen Tagen d29-108 hält sich der Gehalt an CH in der Frauenmilch stabil. Der mittlere CH- Gehalt in den Tagen 1-28 lag bei 6,78. Der mittlere CH- Gehalt in den Tagen 29-108 lag bei 6,81. Der Unterschied zwischen den beiden Zeiträumen ist nicht signifikant. Tendenziell kam es zu einem leichten Anstieg der Durchschnitts- und Medianwerte über den Untersuchungszeitraum (Abbildung 14, c und d).

### 4.2.2 Ausreißer

Als Ausreißer wurde ein Carbohydrate Gehalt von  $<5$  und  $>8$ g/100ml gewertet.

An Tag 11 hatte Probandin 17 einen CH- Gehalt von 4,9g/100ml. Bei Probandin 23 lag CH bei 8,4g/100ml. Probandin 6 hatte an Tag 30 einen CH- Gehalt von 4,7g/100ml. Bei den drei Müttern handelte es sich jeweils um einzelne Ausreißer in sonst normalen CH- Verläufen.

Probandin 29 gab an den Tagen 25 und 26 je eine Probe mit einem CH- Gehalt von 10,4 und 10,1g/100ml ab. Es handelte sich um ihre einzigen beiden untersuchten Milchproben.

Probandin 24 hatte in einem langen Verlauf je an Tag 37 und an Tag 45 erhöhte Werte mit 12,4 und 11,3g/100ml. Sonst verlief ihr CH- Gehalt normal.

Probandin 27 verzeichnet mit 3,6g/100ml an Tag 29 den niedrigsten gemessenen CH- Gehalt.

## Ergebnisse

### 4.2.3 Abhängigkeit des CH- Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern

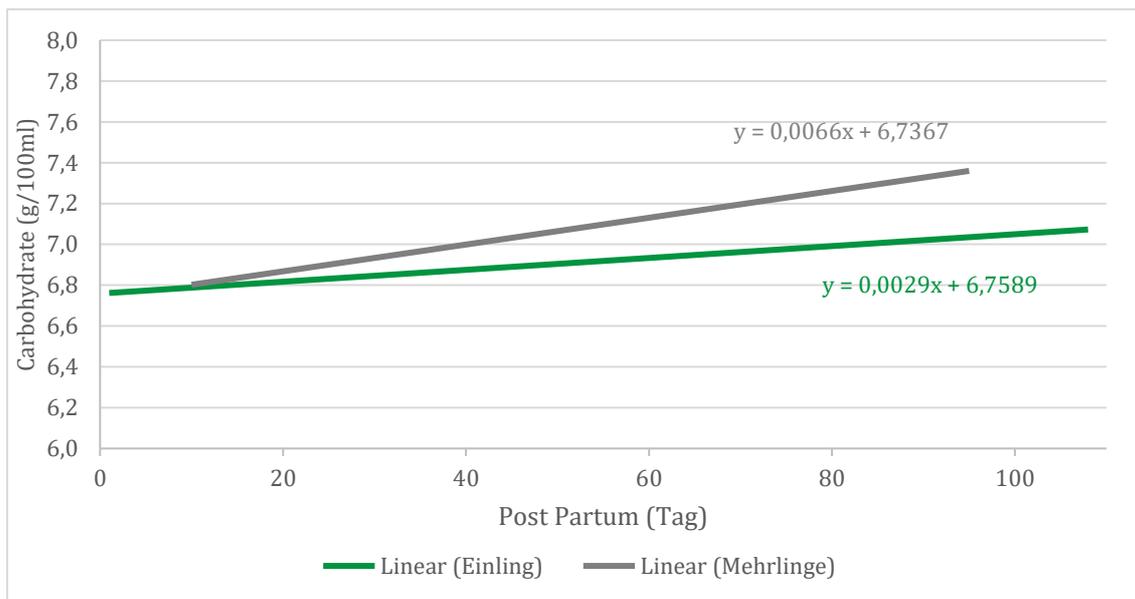


Abbildung 14 Vergleich Carbohydrate- Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen

Im Vergleich zwischen Einlings- und Mehrlingsmüttern starteten beide Gruppen annähernd gleich, jedoch stieg der CH- Gehalt der Frauenmilch bei Müttern von Mehrlingen deutlich mehr.

## Ergebnisse

### 4.2.4 Abhängigkeit des CH- Verlaufs von der Entbindungswoche

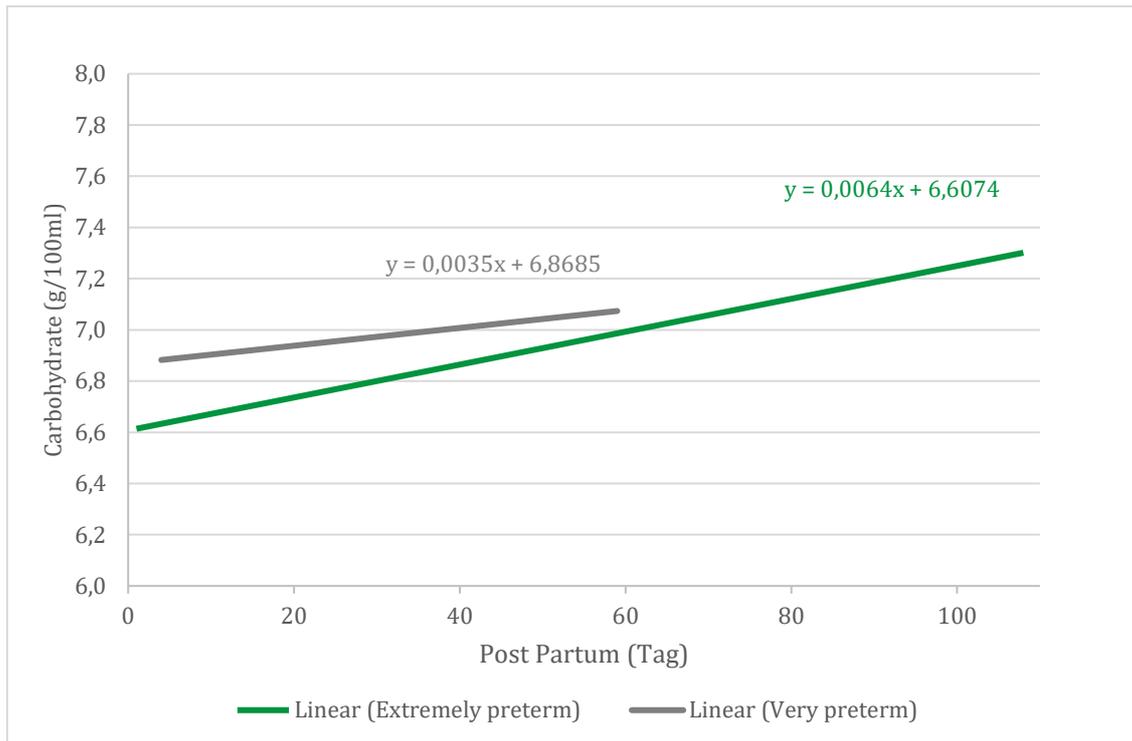


Abbildung 15 Zeitlicher Verlauf des Carbohydrate- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“ und „very preterm“

Der CH- Gehalt startete für beide Entbindungszeiträume annähernd gleich. „Very preterm“ Frauenmilch zeigte einen etwas geringeren Steigungswinkel.

## Ergebnisse

### 4.2.5 Abhängigkeit des CH- Verlaufs vom Geburtsgewicht

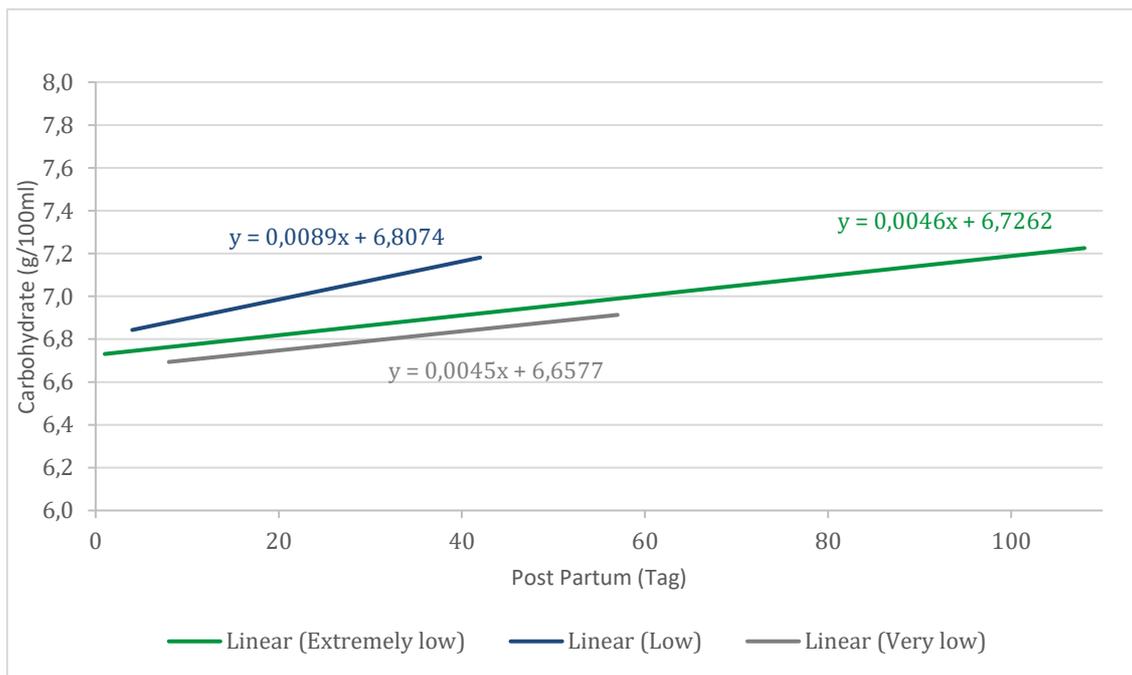
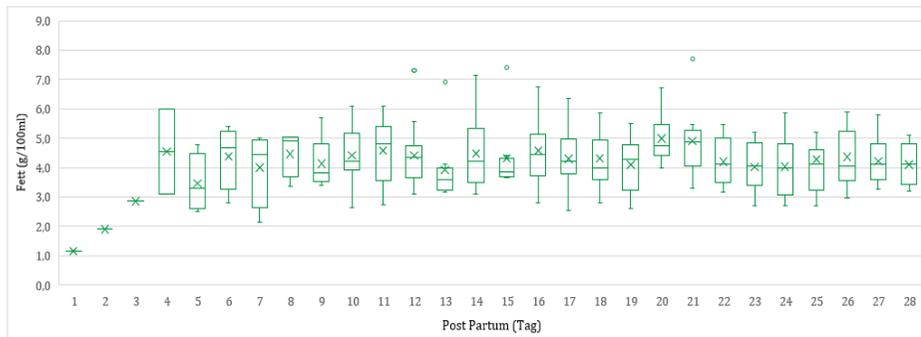


Abbildung 16 Zeitlicher Verlauf des CH- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“

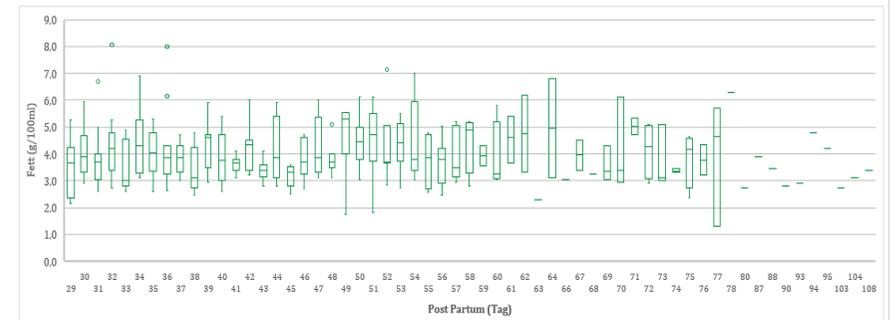
Die Graphen für Frauenmilch von ELBW und VLBW Müttern verlaufen sowohl vom Startpunkt als auch von der Steigung annähernd gleich. Bei Frauenmilch von LBW Müttern ist die Steigung steiler und der Startgehalt an CH höher.

## 4.3 Fett

### 4.3.1 Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts

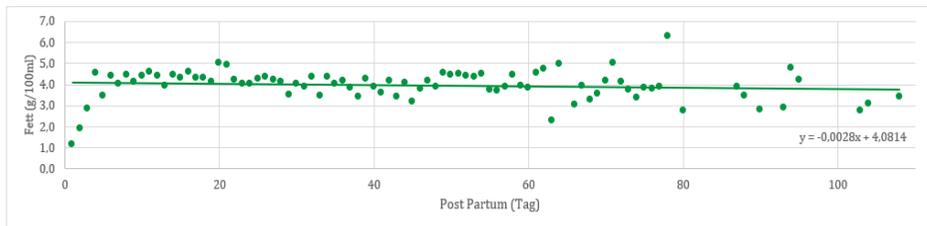


Probanden (Anzahl) 1 1 1 2 4 4 4 5 6 8 12 11 8 12 8 12 14 11 12 9 10 11 9 9 10 12 13 12

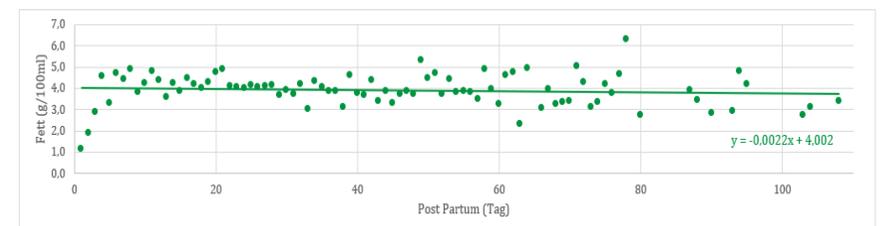


Prob. (Anz) 10 12 11 7 9 11 9 9 8 7 7 7 6 7 7 8 7 7 6 4 4 2 2 2 1 2 1 3 2 3 4 2 3 1 1 1 1 1 1 1

a. Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts über die Tage 1-28 pp



b. Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts über die Tage 29-108pp



c. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108: Mittelwerte

d. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108: Medianwerte

Abbildung 17 Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts

## Ergebnisse

---

In den ersten sieben Tagen konnten eine bis vier Proben untersucht werden. Der Median stieg von 1,2 g/100ml auf 4,4 g/100ml.

Im Durchschnitt betrug der Fettgehalt an Tag sieben 4,0 g/100ml.

Der Fettgehalt der Muttermilch an Tag 28 betrug im Median sowie durchschnittlich 4,1 g/100ml.

Der Fettgehalt in den Tagen 29-108 zeigt wie an den Boxplots deutlich sichtbar wird eine sehr hohe Range. Während der mittlere Fettgehalt bei 4,12g/100ml lag, gingen die einzelnen Messungen teilweise über 5g/100ml auseinander.

Der mittlere Fettgehalt in den Tagen 1-28 lag bei 4,17g/100ml. Der mittlere Fettgehalt in den Tagen 29-108 lag bei 4,12g/100ml. Der Unterschied ist mit 0,42 und 0,84 weder im einseitigen noch im zweiseitigen T-Test signifikant.

Die Graphen für die Durchschnitts- und Medianwerte über den gesamten Zeitraum der Tage 1-108 fallen beide minimal ab mit einem Gefälle von -0,0028 bzw -0,0022. Sie verlaufen annähernd gleich.

### 4.3.2 Ausreißer

Probandin 17 gab in den postpartalen Tagen 11-57 Proben ab. In den ersten 10 Tagen verzeichnete sie hohe Fett- und Energiewerte. An den Tagen 12, 13 und 15 sind die Werte mit 7,3g/100ml, 6,9g/100ml und 7,4g/100ml so hoch, dass sie als Ausreißer sichtbar sind. Sie ist Mutter eines VLBW Einlings, der „extremely preterm“ geboren wurde.

Probandin 8, Mutter von ELBW und „extremely preterm“ Mehrlingen gab in den pp Tagen 11-95 Proben ab. An den Tagen 21, 34 und 36 sind diese Fettwerte mit 7,7g/100ml, 6,9g/100ml und 8,0g/100ml als Ausreißer sichtbar.

## Ergebnisse

### 4.3.3 Abhängigkeit des Fett-Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern

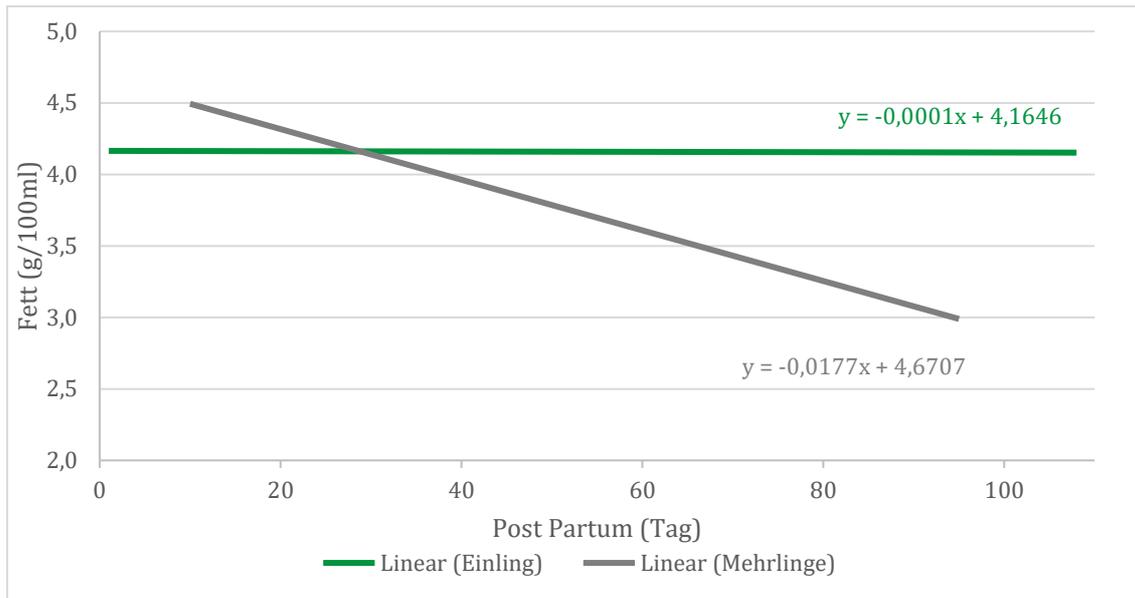


Abbildung 18 Vergleich Fett Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen

Während der Fettgehalt von Einlingsmüttern über die Zeit annähernd linear verläuft, fällt der Fettgehalt von Mehrlingsmüttern deutlich ab. Da die Anzahl der Mütter beider Gruppen sehr ungleich verteilt und zudem ohnehin sehr gering war, war eine Auswertung der Signifikanz nicht sinnvoll.

## Ergebnisse

### 4.3.4 Abhängigkeit des Fett-Verlaufs von der Entbindungswoche

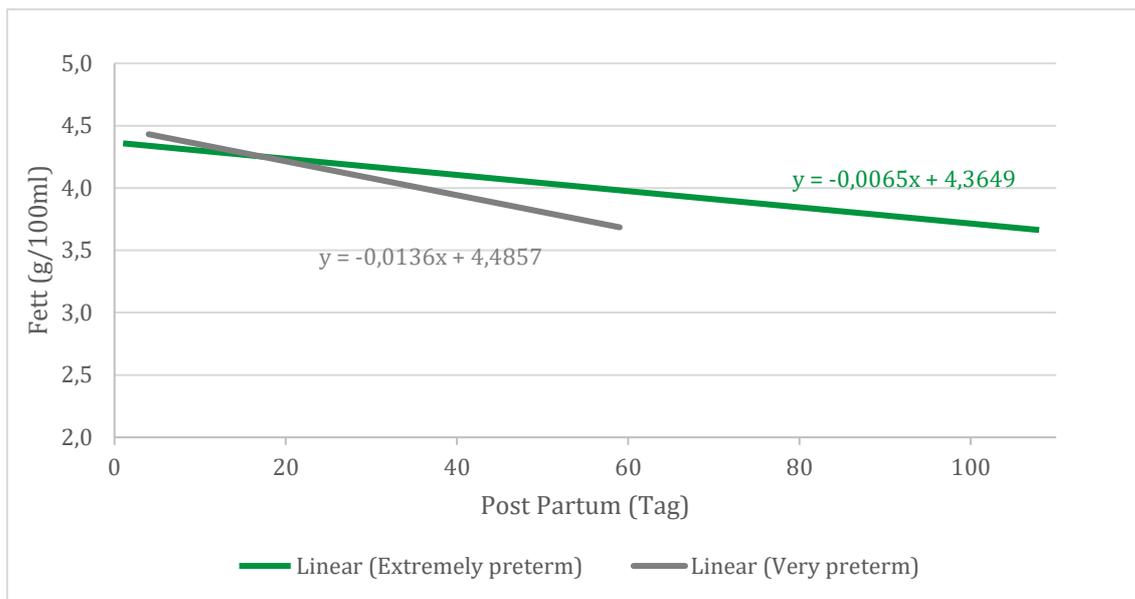


Abbildung 19 Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“ und „very preterm“

Die Frauenmilch von „very preterm“ Müttern zeigt einen steiler sinkenden Verlauf als die der „extremely preterm“ Mütter.

## Ergebnisse

### 4.3.5 Abhängigkeit des Fett-Verlaufs vom Geburtsgewicht

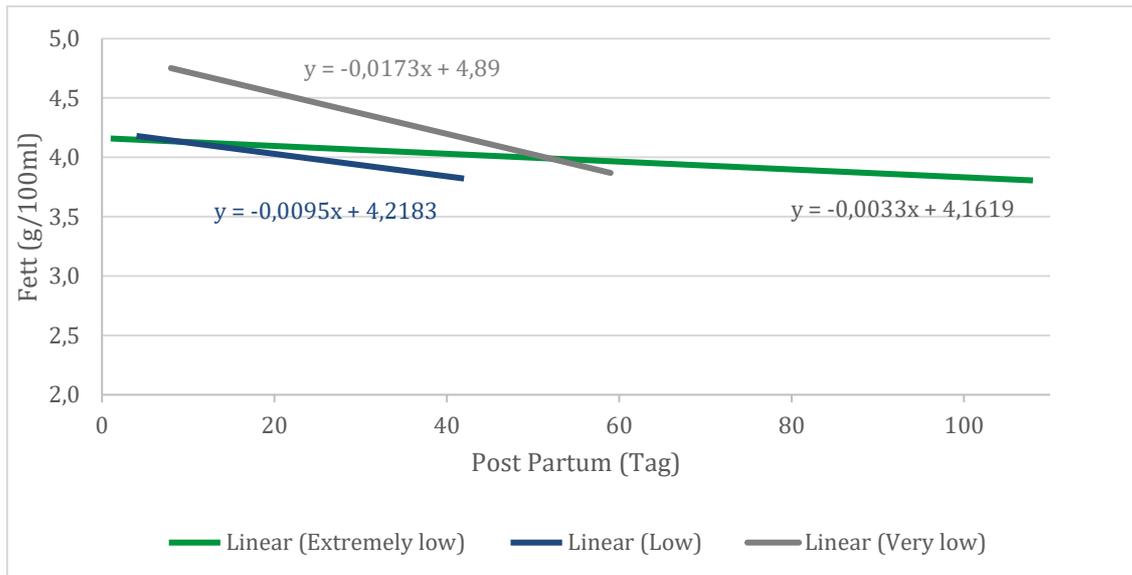


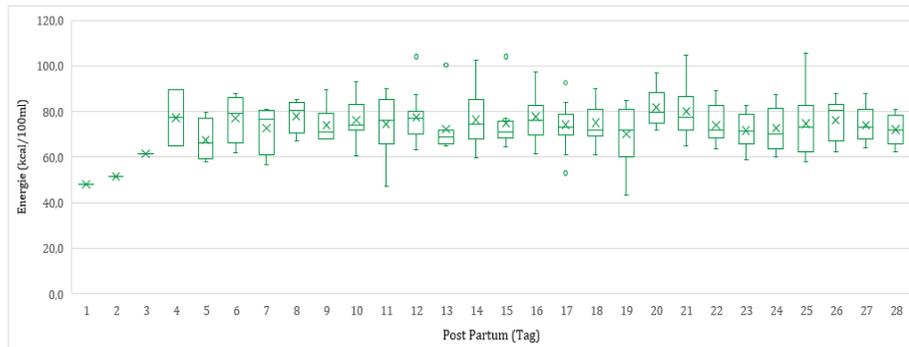
Abbildung 20 Zeitlicher Verlauf des Fett- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“

Der Fettgehalt in der Frauenmilch von Müttern von ELBW Frühchen fällt am geringsten, während Milch von VLBW Frühchen Müttern im Vergleich am höchsten ansetzt und stärksten fällt. Der Gehalt in der Milch von Müttern von LBW Frühchen startet ähnlich wie der von ELBW Frühchen, fällt aber schneller ab.

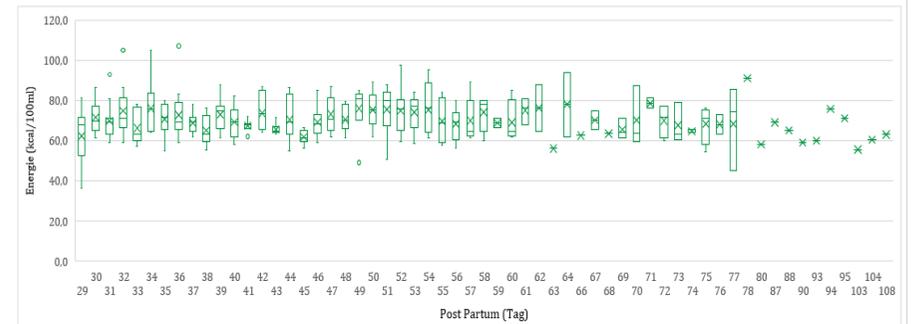
# Ergebnisse

## 4.4 Energie

### 4.4.1 Zeitlicher Verlauf des Energie Gehalts



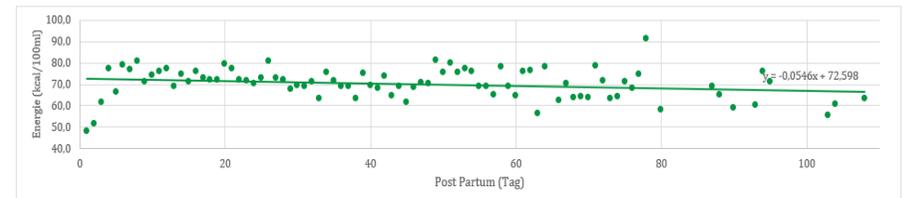
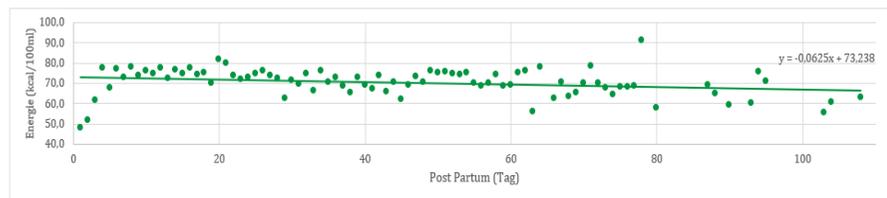
Probanden (Anzahl) 1 1 1 2 4 4 4 5 6 8 12 11 8 12 8 12 14 11 12 9 10 11 9 9 10 12 13 12



Prob. (Anz) 10 12 11 11 9 11 9 9 8 7 7 7 8 6 7 7 8 7 7 4 2 3 2 1 2 1 2 1 3 2 4 3 3 4 2 3 1 1 1 1 1 1 1

a. Zeitlicher Verlauf des Energie- Gehalts über die Tage 1-28 pp

b. Zeitlicher Verlauf des Energie- Gehalts über die Tage 29-108pp



c. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108 Mittelwerte

d. Zeitlicher Verlauf pp Tag 1-108: Medianwerte

Abbildung 21 Zeitlicher Verlauf des Energiegehalts

## **Ergebnisse**

---

In den postpartalen Tagen d1-d28 sowie d29-d108 zeigt der Energiegehalt eine sehr hohe Variabilität.

Der mittlere Energiegehalt in den pp Tagen 1-28 lag bei 72,9kcal/100ml. Der mittlere Energiegehalt in den pp Tagen 29-108 lag bei 71,9kcal/100ml. Sowohl im einseitigen als auch in zweiseitigen T- Test ist der Unterschied mit 0,33 sowie 0,66 nicht signifikant.

Der durchschnittliche Energiegehalt sowie der Median des Energiegehalts von Frauenmilch über die pp Tage 1-108 sinken leicht. Die Graphen verlaufen annähernd gleich.

### **4.4.2 Ausreißer**

An den Tagen 12-15 erreichte die Muttermilch von Probandin 17 einen Kilokalorienanteil von über 100kcal/100ml.

Die Muttermilch von Probandin 3 erreichte an Tag 32 einen Wert von 105,0kcal/100ml. An Tag 36 hatte Probandin 8 einen Wert von 107,0kcal/100ml.

## Ergebnisse

### 4.4.3 Abhängigkeit des Energie-Verlaufs von Einlings- und Mehrlingsmüttern

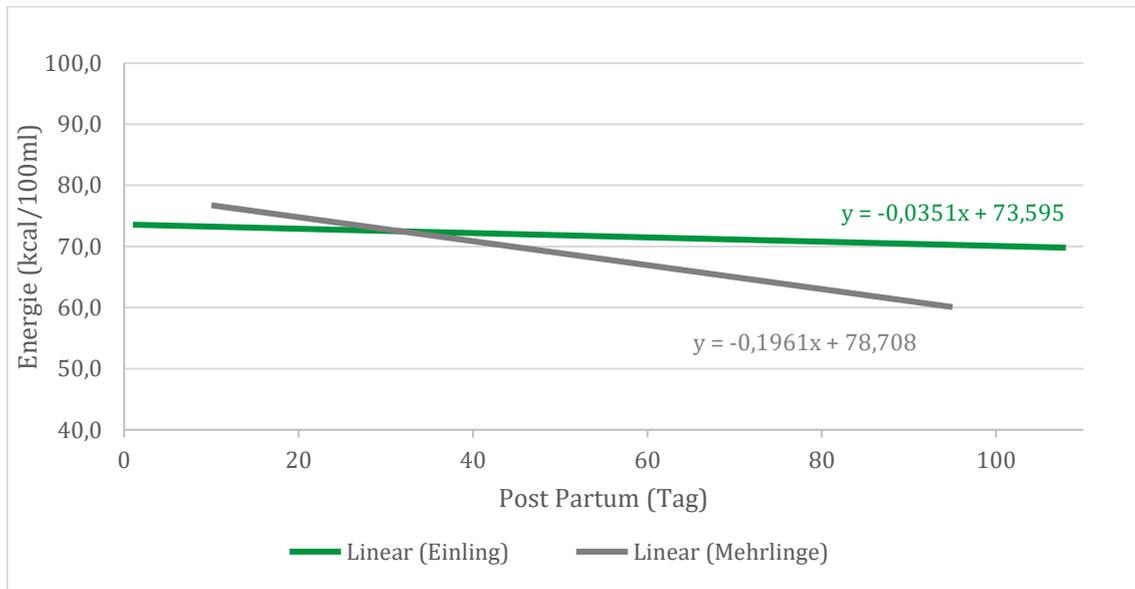


Abbildung 22 Vergleich Energie-Gehalt bei Müttern von Einlingen und Mehrlingen

Der Energiegehalt der Muttermilch von Müttern von Mehrlingen setzt initial höher an und fällt steiler als die Milch von Einlingsmüttern.

## Ergebnisse

### 4.4.4 Abhängigkeit des Energie-Gehalts von der Entbindungswoche

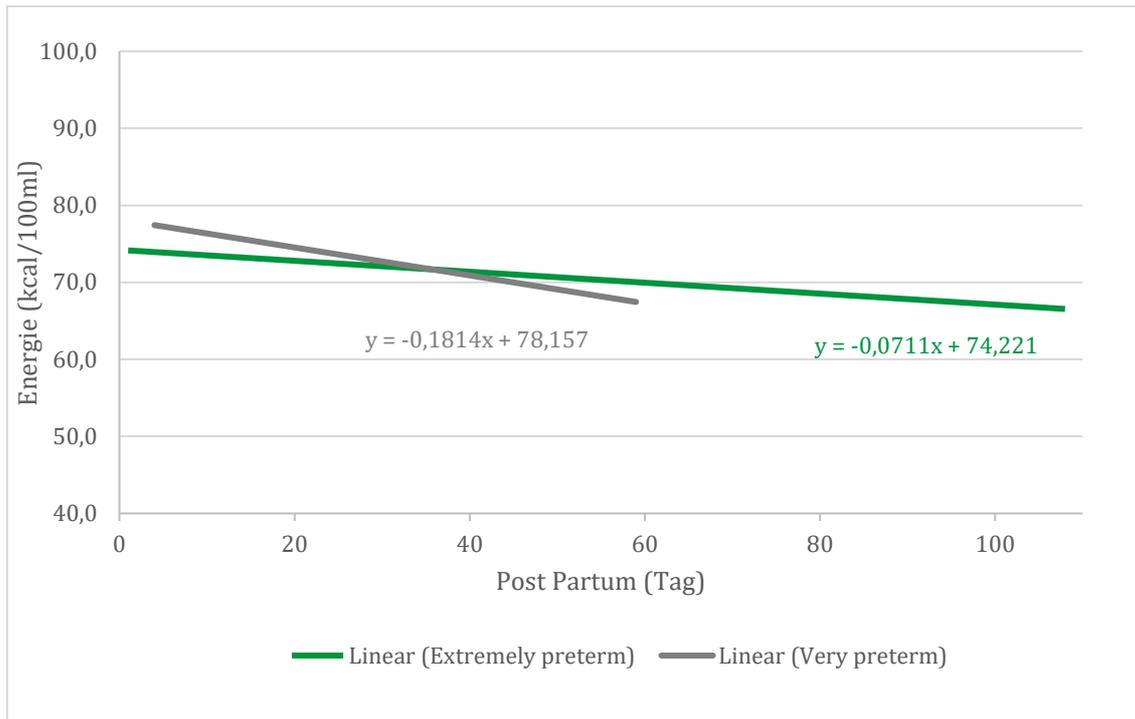


Abbildung 23 Zeitlicher Verlauf des Energie- Gehalts aufgeteilt nach Entbindungswoche in „extremely preterm“, „very preterm“ und „moderate preterm“

Der Energiegehalt von „very preterm“ Milch setzt initial höher an. „Extremely preterm“ Frauenmilch sinkt langsamer ab.

## Ergebnisse

### 4.4.5 Abhängigkeit des Energie-Verlaufs vom Geburtsgewicht

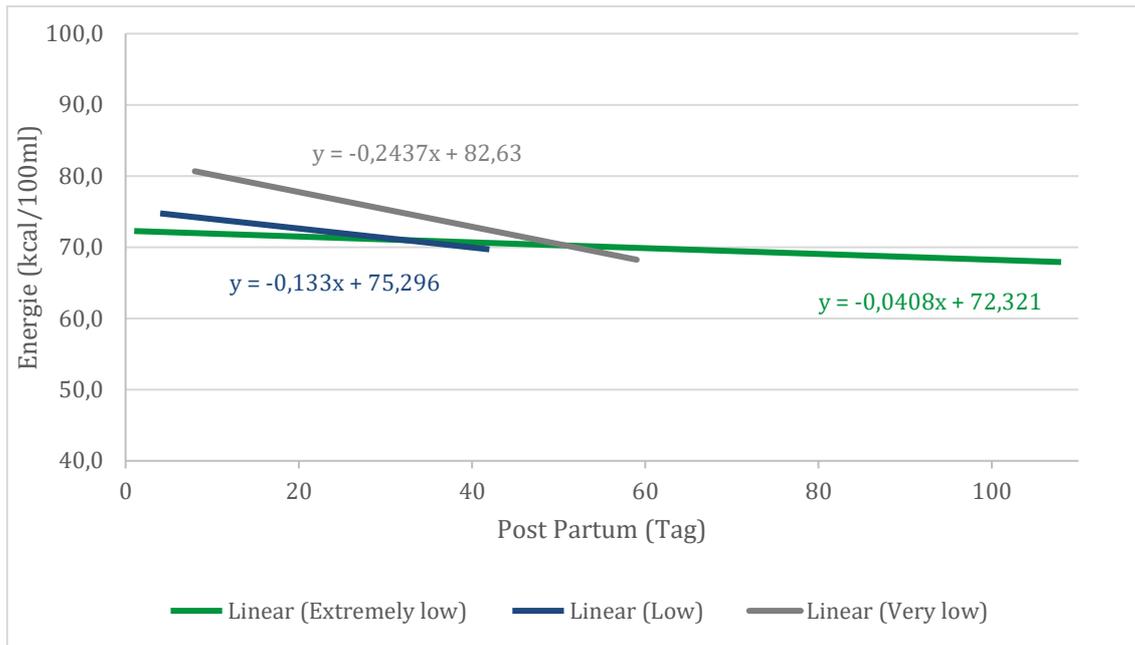


Abbildung 24 Zeitlicher Verlauf des Energie- Gehalts aufgeteilt nach Geburtsgewicht in „extremely low-“, „very low-“ und „low birth weight infants“

Der Energiegehalt in der Frauenmilch von Müttern von ELBW Frühchen fällt am geringsten, während Milch von VLBW Frühchen Müttern im Vergleich am höchsten ansetzt und stärksten fällt. Der Energiewert in der Milch von Müttern von LBW Frühchen startet ähnlich wie der von ELBW Frühchen, fällt aber schneller ab.

## Ergebnisse

### 4.5 Zeitlicher Verlauf der Makronährstoffe in den postpartalen Wochen 1-4

#### 4.5.1 Zeitlicher Verlauf des True Protein Gehalts in den Wochen 1-4

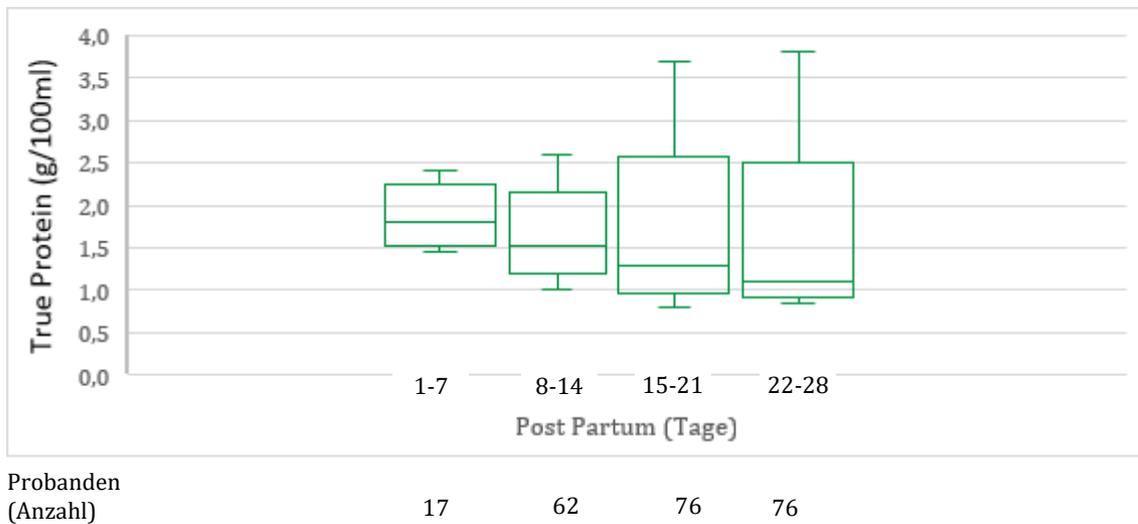


Abbildung 25 Boxplot über den True Protein Verlauf in den Wochen 1-4

Der konsolidierte TP- Gehalt in Woche eins fiel im Median von 1,8 g/100ml auf 1,1 g/100ml in Woche vier. Das entspricht einem Abfall von 38,9% in den ersten vier Wochen. Gut erkennbar ist die zunehmende Schwankungsbreite der gemessenen Werte.

## Ergebnisse

### 4.5.2 Zeitlicher Verlauf des Carbohyrate- Gehalts in den Wochen 1-4

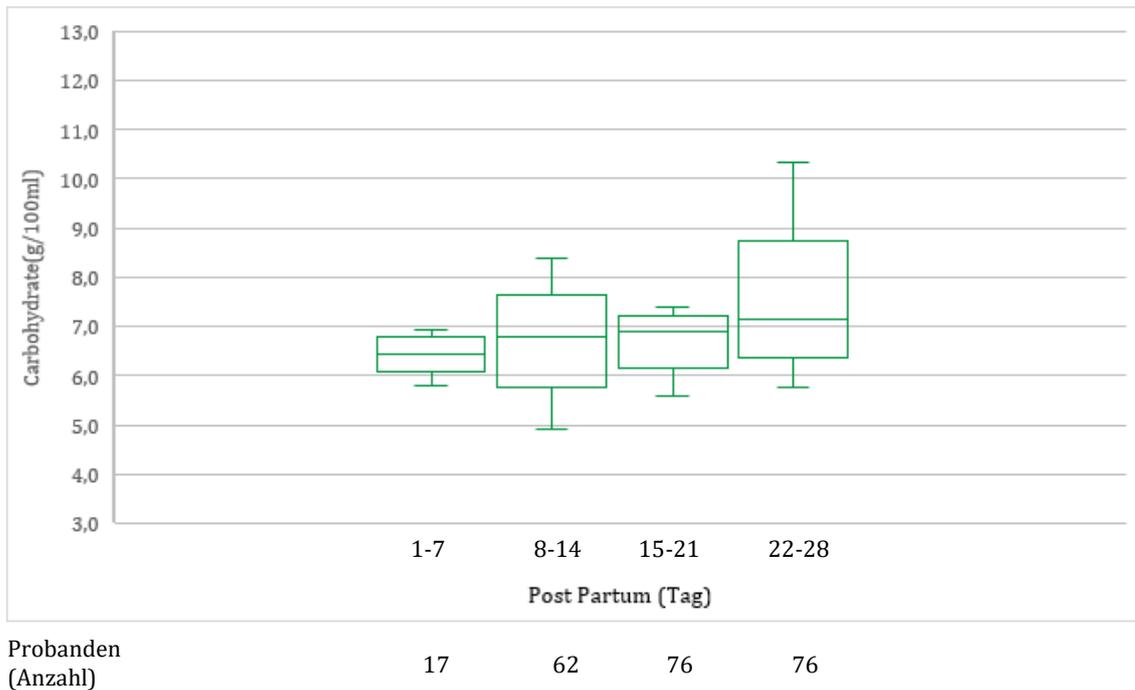
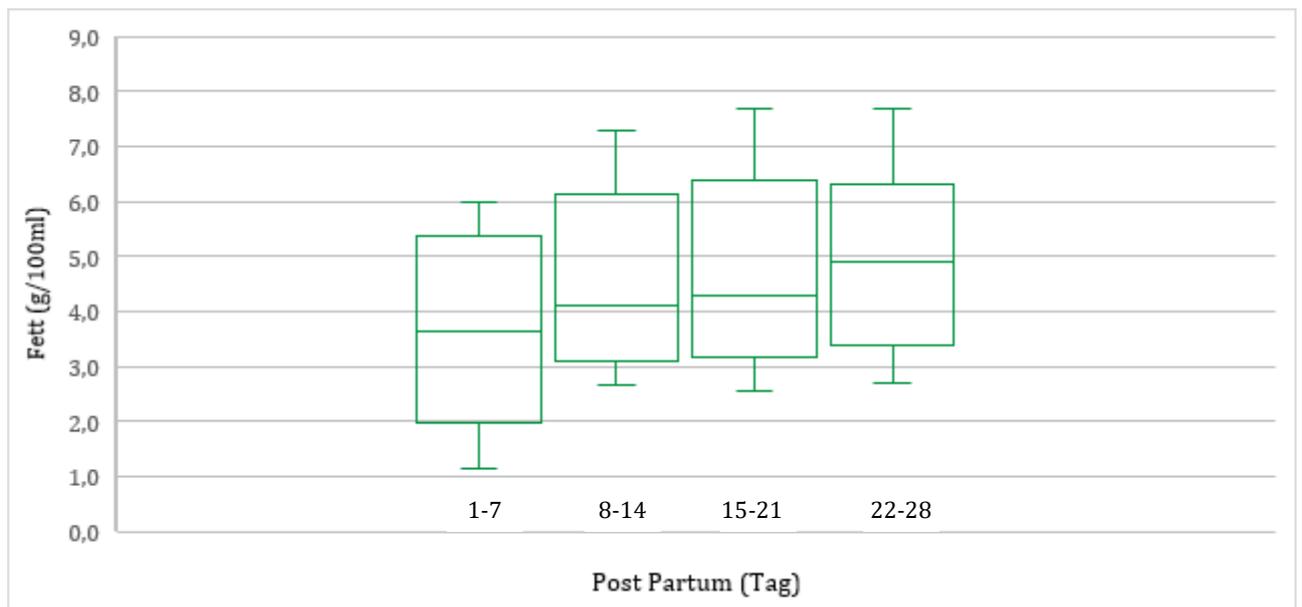


Abbildung 26 Boxplot über den Carbohyrate-Verlauf in den Wochen 1-4

Der konsolidierte Energiegehalt stieg in Woche eins im Median von 69,3kcal/100ml auf 81,0kcal/100ml in Woche vier. Das entspricht einem Anstieg von 14,5% in den ersten vier Wochen.

## Ergebnisse

### 4.5.3 Zeitlicher Verlauf des Fett-Gehalts in den Wochen 1-4



Probanden  
(Anzahl)

17

62

76

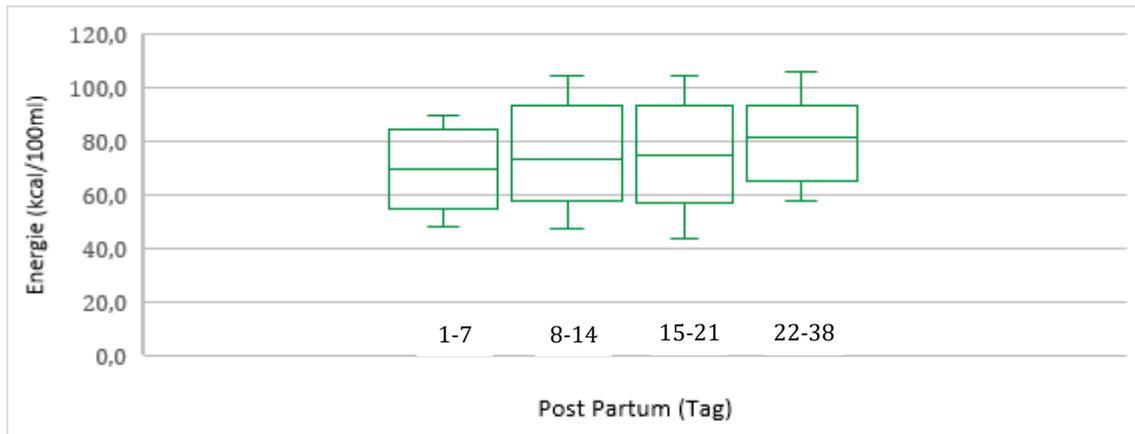
76

Abbildung 27 Boxplot über den Fett Verlauf in den Wochen 1-4

Der konsolidierte Fettgehalt in Woche eins stieg im Median von 3,6g/100ml auf 4,9g/100ml in Woche vier. Das entspricht einem Anstieg von 26,5% in den ersten vier Wochen.

## Ergebnisse

### 4.5.4 Streudiagramme True Protein und Fett



Probanden  
(Anzahl)

17

62

76

76

*Abbildung 28 Boxplot über den Energie Verlauf in den Wochen 1-4*

Der konsolidierte Energiegehalt stieg in Woche eins im Median von 69,3kcal/100ml auf 81,0kcal/100ml in Woche vier. Das entspricht einem Anstieg von 14,5% in den ersten vier Wochen.

### 4.5.5 Streudiagramme True Protein und Fett

Wie bereits in den vorherigen Abschnitten ausgeführt, zeigten sich große intra- und interindividuelle Schwankungen des Gehalts an True Protein und Fett innerhalb der Stillperiode und zwischen den einzelnen Probandinnen. Die Abbildung 29 fasst diese Beobachtungen noch einmal zusammen.

## Ergebnisse

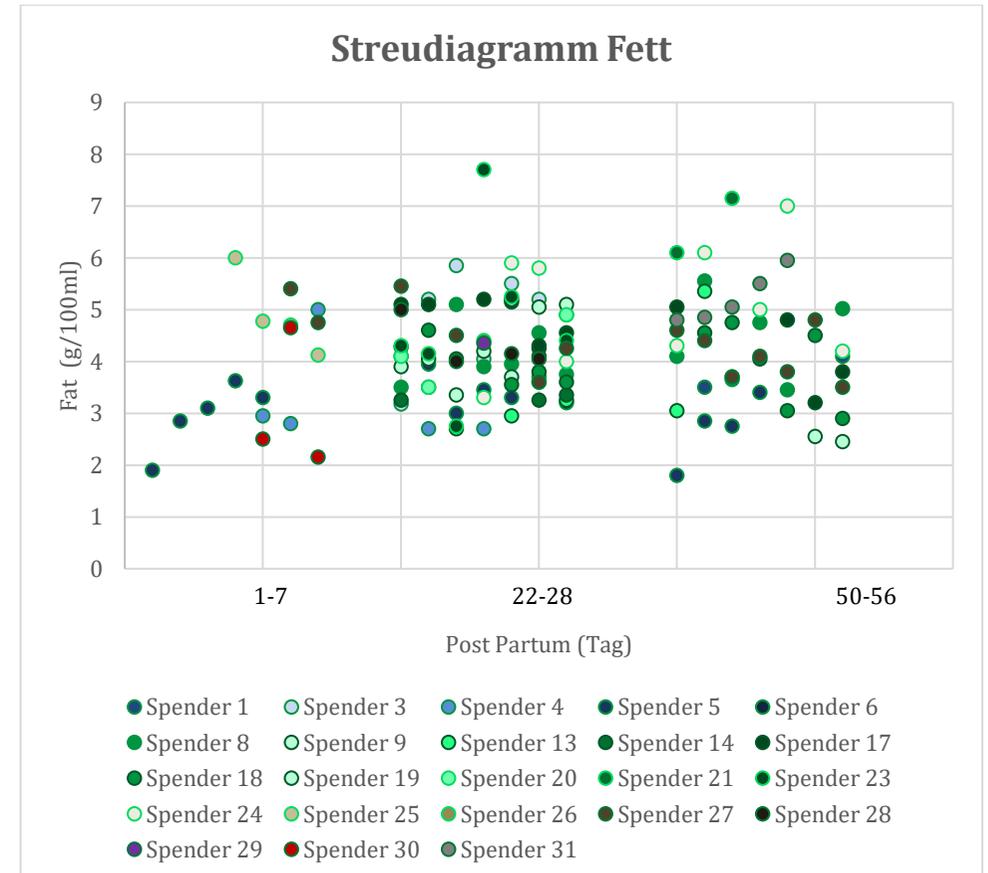
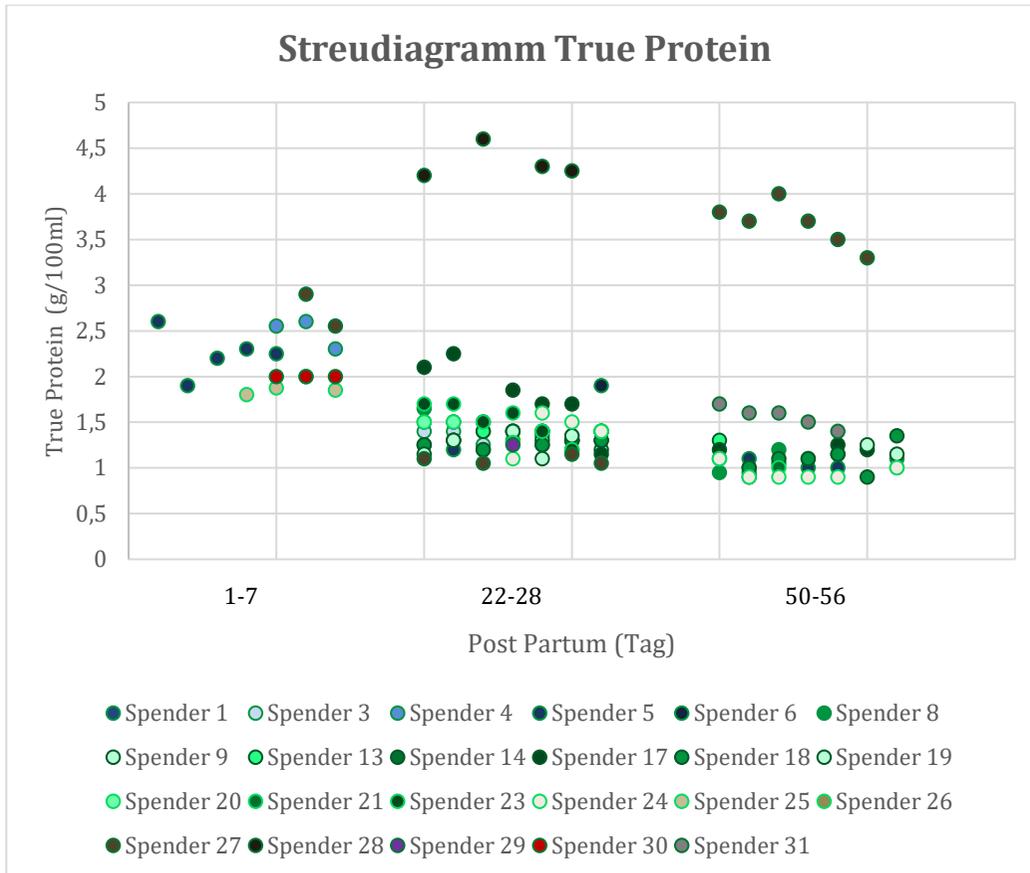


Abbildung 29 Streudiagramme für True Protein und Fett an den Tagen d1-d7, d22-d28 und d50-d56

# 5 Diskussion

## 5.1 Zusammenfassung

Die Ernährung eines Frühgeborenen mit bedarfsorientiert angereicherter Frauenmilch kann Einfluss auf dessen neurologische, geistige und körperliche Entwicklung nehmen und in Bezug auf verschiedene Komplikationen protektiv wirken (63-69). In unserer Untersuchung konnten wir zeigen, dass ähnlich wie bei Muttermilch nach Geburt am Termin, sich die Zusammensetzung der Milch nach Frühgeburt über die Stilldauer verändert und der Gehalt an Makronährstoffen intra- als auch interindividuell großen Schwankungen unterworfen ist (Abbildung 29). Auch in unserem Kollektiv ließ sich eine deutliche Abnahme des True Protein feststellen, während der Carbohydrate Gehalt annähernd gleichblieb und Fett und Energiegehalt in den ersten Wochen einen leichten Anstieg verzeichneten. Um im klinischen Alltag Muttermilch für Frühgeborene als auch Spendermilch aus Frauenmilchbanken bedarfsgerecht anzureichern, ist es daher notwendig, Milchproben in Bezug auf die Makronährstoffe schnell und zuverlässig, am besten als Point of Care Diagnostik auszuwerten, ohne auf langwierige chemische Referenzverfahren zurückzugreifen (100).

## 5.2 Diskussion von Material und Methoden

In unserer Studie haben wir für die schnelle Analyse der Makronährstoffe den MIRIS® Human Milk Analyzer verwendet, der mithilfe von Mittelinfrarottechnik innerhalb von ca. 60 Sekunden die Makronährstoffe von humaner Milch anzeigt und außerdem nur 2-5ml humane Milch zur Analyse benötigt.

### 5.2.1 Aufbau der Studie und Probandenkollektiv

Die Studie zum „zeitlichen Verlauf der Zusammensetzung von humaner Milch bei Müttern nach Frühgeburt“ war prospektiv über den Zeitraum von April 2013 bis März 2015 angesetzt. Da die gesammelte Milch im Rahmen des Aufbaus der Muttermilchbank routinemäßig gesammelt wurde, konnte kein fester Zeitpunkt des postpartalen Starts festgelegt werden. Somit sind in unserem Kollektiv Frauen, von denen bereits in den ersten postpartalen Tagen Milch gesammelt werden konnte,

## Diskussion

---

sowie auch viele spätere Startpunkte im zeitlichen Verlauf abgebildet. Zudem war die Routineerhebung auf keinen Zeitraum begrenzt, die Probenmenge variiert daher zwischen 1 und 64 gesammelten Milchproben pro Mutter. Alle wurden gleichwertig in den zeitlichen Verläufen dargestellt, was einen Biasfaktor darstellt.

Unsere Kohorte bildet Mütter in unterschiedlichen Wochen ab, und ist durch das Studiendesign nicht gleichmäßig verteilt (zwei Mütter von „moderate preterm“, aber 15 Mütter von „extremely preterm“ und 14 von „very preterm“ Kindern). Die Mütter der „moderate preterm“ Kinder konnten eher entlassen werden als die der „extremely“ und „very preterm“ Kinder, und somit liegen nur von den ersten 20 postpartalen Tagen Milchproben der Mütter von „moderate preterm“ Kinder zur Auswertung vor. 4 Kinder wurden postnatal zuverlegt. Die Auswertung der zugehörigen Muttermilch startet ebenso entsprechend später. Da wir Milchproben von Spenderinnen der Frauenmilchbank untersucht haben, ist außerdem ein Bias durch die Aufnahmekriterien in die Spendermilchbank denkbar (lediglich CMV-negative Spenderinnen, Spende in den Räumlichkeiten der Intensivstation).

### 5.2.2 Lagerung und Handhabung der Frauenmilch

Die Frauenmilch wurde in eigens dafür vorgesehenen Röhrchen aus Polypropylen verschlossen und schockgefroren. In unserer Studie wurde ausschließlich rohe, also nicht pasteurisierte humane Milch verwendet, da die Pasteurisierung zu einem niedrigeren Protein- Fett- und Energiegehalt führen kann (101-103).

Es besteht ein Unterschied im Gehalt an Makronährstoffen zwischen Vordermilch (wässriger) und Hintermilch (höherer Fettgehalt) (104). Daher fand in unserer Studie immer eine volle Brustentleerung statt, um den Gehalt der gesamten Milch, also der Kombination aus Vorder- und Hintermilch, zu messen. Die Proben wurden nicht über 24h gesammelt und gepoolt. Es sollte, wenn möglich, immer zur selben Zeit eine Probe abgegeben werden, da der Tageszeitpunkt ebenfalls Einfluss auf die Zusammensetzung der Milch hat (105). Dies war für die Sammlung im Rahmen der Routine nicht möglich und stellt damit einen Einflussfaktor dar, der nicht untersucht wurde. Die beschriebene intraindividuelle Variabilität konnten wir anhand unseres eigenen Kollektivs mittels eines Streudiagramms für die Makronährstoffe „true protein“ und „Fett“ gut sichtbar machen (Abbildung 29)

## Diskussion

---

Die Lagerungszeit der humanen Milchproben bei -20 Grad Celsius betrug zwischen wenigen Tagen und 4 Monaten bevor eine Auswertung stattfand.

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass der Lagerungsprozess (Temperatur, Gefäß und Dauer) negativen Einfluss auf den Gehalt der Frauenmilch nimmt.

Garcia-Lara et al. testeten Frauenmilchproben zu verschiedenen Zeitpunkten, die in 6 Aliquote unterteilt worden waren. Mit Beginn der Auswertung am Entnahmetag der Probe, anschließend nach 7, 15, 30, 60 und 90 Tagen. Gelagert wurden die Proben bei -20°C. Es wurden erst nach der Lagerungszeit von 90 Tagen bei -20°C signifikant niedrigere Fett- und Energiewerte gemessen als zu Beginn (106).

In einer klinischen Studie von Orbach et. al. wurden 25 humane Muttermilchproben in je 6 Aliquote unterteilt und bei -20°C und -80°C gelagert und nach 4, 12 und 24 Wochen ausgewertet. Hierbei war der Fettgehalt in jeder Probe die bei -80°C gelagert wurde höher als in der Kontrollgruppe bei -20°C. Auch in den bei -80°C gelagerten Proben zeigte sich ein deutlicher Abfall an Fett und Protein im Vergleich der Auswertungen nach 4 und nach 24 Wochen (107).

Auch die Art des Aufbewahrungsgefäßes kann Einfluss auf die gemessenen Makronährstoffe haben.

So ergab die Studie von Chang et al. einen signifikant niedrigeren Fettgehalt in der Frauenmilch in jedem von 9 verschiedenen untersuchten Plastikgefäßen aus Polypropylen (PP), Polyethersulfon (PES), Polycarbonat (PC) oder Polyethylen (PE). Dabei waren 4 der 9 untersuchten Gefäße Fläschchen aus PP, PC, PES, oder Glas, vergleichbar mit unseren Gefäßen aus PP (108).

Zwar fand in unserer Studie keine Pasteurisierung statt, jedoch ist davon auszugehen, dass die Faktoren „Lagerungstemperatur“, „Lagerungsdauer“ sowie „Gefäß der Aufbewahrung“ Einwirkungen auf den Gehalt der von uns untersuchten Frauenmilch gehabt haben könnten. Da ein Teil unserer Proben erst nach ca. 4 Monaten Lagerung bei -20°C ausgewertet wurde, ist vor dem oben dargestellten Hintergrund ein Bias in Bezug auf die Ergebnisse der von uns untersuchten Proben denkbar. Die Gefäße, die zur Aufbewahrung benutzt wurden, waren alle aus Polypropylen, vergleichbar mit den 9 untersuchten Gefäßen aus der oben aufgeführten Studie von Chang et al. Zwar haben Chang et al. keine Frühgeborenen

## Diskussion

---

Frauenmilch untersucht, jedoch ist das „Gefäß der Aufbewahrung“ ein Einflussfaktor, der Potential für weitere Studien bei Frühgeborenen Frauenmilch birgt und einen ebenfalls nicht untersuchten Bias Faktor unserer Studie darstellt.

Die Studienlage zeigt, dass Frauenmilch am besten roh und sofort verbraucht wird, da Pasteurisierung und Lagerung bei -20° Celsius mit erheblichen Einbußen im Fett, Protein- und Energiegehalt einhergehen können. Eine humane Milchbank ist aber vor allem auf den Lagerungsprozess angewiesen und eine Sofortverfütterung im klinischen Alltag nur schwer umsetzbar (vor allem durch geforderte und notwendige mikrobiologische Untersuchungen). Empfehlenswert ist es, die humane Milch so kurz als nötig zu lagern und erst zu messen, wenn sie aufgetaut und vollständig mittels Ultraschall homogenisiert wurde, um dann entsprechend bedarfsorientiert anzureichern zu können (109).

### 5.2.3 Homogenisierung mit dem Sonicator®

Die Homogenisierung unserer Milchproben fand nach dem langsamen Auftauen und Erwärmen im Wasserbad mit dem dafür vorgesehenen Miris Sonicator® (Miris Ultrasonic Processor®) statt. Er ist einfach in der Handhabung und schnell in der Anwendung. Durch Kavitation kommt es zur Freisetzung von kinetischer Energie, die dazu führt, dass große Fettmoleküle in sehr viel kleinere Fettmoleküle gespalten werden. Während sich große Moleküle an der Oberfläche der Milch binden, verteilen sich kleine Moleküle homogen in der Milch (99). Die Spaltung ist notwendig, da eine Messung ohne Homogenisierung oder unzureichender Homogenisierung zu verfälschten Fettwerten der Milch führen würde. Zu diesem Schluss kamen auch Garcia- Lara et al., die in ihrer klinischen Studie eine höhere Konzentration an Makronährstoffen messen konnten, wenn die Proben mit Ultraschall anstatt manuell homogenisiert worden waren (106).

Studien zeigten zudem, dass die Homogenisierung von humanen Milchproben dazu führt, dass das Fett in der Milch besser im Darm der Frühgeborenen absorbiert werden kann. Die Kinder hatten im Vergleich daher eine bessere Gewichtszunahme (110, 111).

### 5.2.4 Auswertung mit MIRIS HMA

In unserer Studie wurde zur Auswertung der humanen Milchproben ausschließlich der MIRIS HMA verwendet.

Eine Auswertung von 2-5ml Milch dauert circa 60 Sekunden. Dies ist ein enormer Vorteil gegenüber Referenzverfahren, da die Auswertung in chemischen Analysen Stunden dauern kann, viele Chemikalien sowie Apparaturen benötigt werden, und zudem viel mehr der kostbaren Muttermilch benötigt wird (112). Vor allem in der ersten Woche, wenn die Muttermilch noch nicht ausreichend produziert wird, das Frühgeborene aber dringend jeden Tropfen selbst benötigt, ist es wichtig, eine schnelle Auswertung mit wenigen Millilitern Milch zu erreichen.

#### 5.2.4.1 Verwendung des Miris HMA auf Station

Der Gehalt von Makronährstoffen in der Muttermilch schwankt von Frau zu Frau und auch interindividuell. Es erscheint daher zunächst sinnvoll, vor jeder Fütterung die Milch zu untersuchen die gegeben werden soll, um diese je nach Bedarf anzureichern. Dies erfordert jedoch einen immensen zusätzlichen zeitlichen Aufwand (97). Zwar dauert eine einzelne Messung mit ca. 60 Sekunden nicht lange, da das Gerät aber eine sehr empfindliche Messküvette hat, gehören dazu auch immer weitere Schritte. Das Gerät muss nach längerer Wartezeit vorerst kalibriert werden, um benutzt werden zu können. Milch darf nicht länger als 5 Minuten in der Messküvette verbleiben, da diese sonst eintrocknet und die empfindliche Messküvette brechen kann oder Ergebnisse verfälscht werden. Unsaubere Handhabung führt schnell zu einem Defekt. Im klinischen Alltag erfolgt die Versorgung von Frühgeborenen individuell und bedürfnisorientiert. Das heißt, dass die Kinder zu unterschiedlichen Zeiten Frauenmilch benötigen. Daher würden die meisten Messungen einzeln erfolgen und es müsste jeweils zusätzlich ein Reinigungs- sowie Kalibriervorgang gestartet werden. Das hat einen hohen zeitlichen Aufwand zur Folge und fordert zudem einen hohen Materialverbrauch. Eine zeit-, personal- und kostengünstige Alternative wäre ein Poolen der Frauenmilch und Durchführen einer z.B. einmal wöchentlichen Messung.

Da die Referenzmethode aus der Milchwirtschaft kommend nur für Kuhmilch evaluiert wurde, warnte die Ernährungscommission zunächst vor dem unkritischen

## Diskussion

---

Gebrauch der Analytoren (113). Humane Milch enthält einen höheren Oligosaccharid-Anteil mit einem endständigen Lactosemolekül. Dieses wird vom Infrarot-Messgerät erfasst und kann zu falsch hohen Energiewerten in humaner Milch führen (98, 114).

Fusch et al. kam in einer Studie zu dem Schluss, dass man Milchanalysegeräte nach weiteren Adjustierungen jedoch in den klinischen Alltag integrieren könnte, zumindest für die Messung von Fett und Protein. Um auch die für eine bettseitige Analyse notwendige Messung von Carbohydrates valide durchführen zu können, forderten sie, dem IR- HMA weitere spektrale Informationen hinzuzufügen und die optische Einheit zu modifizieren(98, 113).

2016 führten Billard et al eine Studie durch, in der Richtwerte zur Kalibrierung des MIRIS HMA erstellt wurden. Sie empfehlen anschließend die Verwendung des HMA zur Target fortification unter Berücksichtigung der von ihnen erarbeiteten Richtwerte (100).

In einem umfassenden Review von Fusch et al. wurden 62 Studien zum Thema HMA verglichen. Die Studien hatten zum Teil infrared- milk analyzer, kurz IR-MA, evaluiert, den Effekt verschiedener Bedingungen auf die Makronährstoffe der Muttermilch untersucht oder hatten HMA in klinischen Studien im Gebrauch. Hierbei wurde 33-mal der MIRIS HMA als IR- MA benutzt.

Zusammenfassend wurden IR-HMA zur target fortification von Frauenmilch im „Bedside“- Gebrauch empfohlen, da diese das Patienten Outcome verbessern könnten. Dennoch gäbe es diverse klinische Einflussfaktoren auf den Gehalt an Makronährstoffen in Frauenmilch. HMA sollten außerdem immer einer Laborroutine entsprechend kalibriert und validiert werden. Zudem müsste eine sorgsame Aufbereitung der Proben vorgenommen werden, um HMA zu verwenden (93).

Vor diesem Hintergrund scheint der MIRIS HMA sich für die bettseitige Messung der Makronährstoffe in Frauenmilch und die sich daraus ergebende Möglichkeit der bedarfsorientierten Anreicherung (target fortification) im klinischen Gebrauch zu eignen (115).

### 5.2.5 Ausblick Methoden

Zu den positiven Aspekten unserer Studie zählt die Verwendung von Rohmilch, die vor der Auswertung vollständig mittels Ultraschalles homogenisiert wurde. Eine negative Auswirkung auf die Zusammensetzung der Muttermilch hatte eventuell die Lagerungszeit sowie die Verwendung von Plastikgefäßen aus Polypropylen. Außerdem wäre es sinnvoller, Muttermilch zu untersuchen, die immer zum selben Zeitpunkt abgepumpt oder über 24h gepoolt wird. Ein weiterer Einflussfaktor ist die Aufbewahrungstemperatur. Zwar wurden unsere Milchproben schockgefrostet und schonend erwärmt, was der Ausbildung von Eiskristallen sowie der Denaturierung von Proteinen vorbeugt, jedoch fand die Aufbewahrung bei -20° Celsius statt. Die Einbußen der Makronährstoffe wären bei einer Lagerung bei -80° Celsius vermutlich geringer.

In unserer Studie konnte gezeigt werden, dass die Anwendung des Miris HMA auf der Frühgeborenenintensivstation im Rahmen einer Spendermilchbank praktikabel ist. Damit bestätigen wir die bereits bestehenden umfassenden Studien und konnten veranschaulichen, dass trotz einiger nötiger Nachjustierungen, die Benutzung des HMA sinnvoll ist und einen unvergleichlichen wertvollen Beitrag zur Ernährung von Frühgeborenen darstellen kann (93, 98, 100, 114, 115). Die Anreicherung von Frauenmilch nach Bedarf stellt eine Option zur Verbesserung der Ernährungssituation und Entwicklung von Frühgeborenen dar (95, 96, 116). Große, randomisierte multizentrische Studien zum Effekt der Target Fortifizierung fehlen allerdings noch.

### 5.3 Diskussion der Ergebnisse

Von den 31 Müttern, deren Milch im Rahmen der Routine gesammelt wurde, konnten insgesamt 557 Milchproben ausgewertet werden. Diese erstrecken sich über den Zeitraum der postpartalen Tage 1-108.

Die Ergebnisse wurden zusätzlich anhand des Einflusses der Faktoren „Einling/Mehrling“, „Entbindungswoche“ und „Geburtsgewicht“ in Streudiagrammen untersucht.

#### 5.3.1 Zeitraum der untersuchten Proben und Entbindungszeitpunkt

Als prospektive klinische Studie war die Datenerhebung abhängig von der Muttermilchmenge der teilnehmenden Mütter. Neben der erfolgreichen Laktation spielte die Dauer des Aufenthalts der Kinder auf der neonatologischen Intensivstation eine Rolle, da die Probensammlung im Rahmen der Stationsroutine erfolgte und die Mütter nicht dafür aufgefordert wurden, extra Sammlungen für die Studie durchzuführen. In den untersuchten postpartalen Tagen 1-108 standen demnach an jedem Tag unterschiedlich viele Proben zur Verfügung, je nachdem, wer sich zu welchem Zeitpunkt in der Klinik befand und ob eine ausreichende Laktation vorlag. Die Aussagekraft zum Verlauf des Makronährstoffgehalts ist daher in den Tagen 1 bis einschließlich 3 und 78 bis einschließlich 108 begrenzt, da an diesen Tagen nur Muttermilch von einer Patientin untersucht werden konnte und die Ergebnisse lediglich einen exemplarischen Verlauf widerspiegeln.

In den Tagen 1 bis einschließlich 78 gibt es, außer an Tag 65, täglich Proben, an den Tagen 80 bis 108 gibt es 10 Proben. Für eine objektivere Darstellung des Verlaufs der Makronährstoffe wäre ein definierter Zeitraum der Probensammlung und eine Fallzahlkalkulation wünschenswert. Für die Planung einer solchen Untersuchung könnten die Ergebnisse der vorliegenden Beobachtungsstudie eine wertvolle Basis darstellen. Ein weiterer Nachteil des vorliegenden Studiendesigns war der fehlende feste Tageszeitpunkt der Milchsammlung. Auch diese sollte bei weiteren Studien unbedingt berücksichtigt werden. Es nahmen fünfzehn Probandinnen mit „extremely preterm infants“, vierzehn Probandinnen mit „very preterm infants“ und zwei mit „moderate preterm infants“ teil. In vielen anderen Studien wird oft nur eines dieser Risikokollektive herausgegriffen. Zwar sind in unserer Studie alle

## Diskussion

---

Risikokollektive vertreten, jedoch lassen aufgrund der ungleich verteilten Gruppengröße die Ergebnisse keinen Rückschluss zu.

### 5.3.2 Zusammensetzung der Makronährstoffe und des Energiegehalts- Interpretation des zeitlichen Verlaufs

Bekanntermaßen ändert sich die Zusammensetzung der Makronährstoffe von Frauenmilch in drei Phasen: Kolostrum, Übergangsmilch und schließlich nach ca. einer Woche die „gereifte“ Muttermilch. (117) Die ersten Boxplots die genauer betrachtet wurden, beinhalten deshalb die Daten von Tag 7. Anschließend wurden wochenweise die Ergebnisse der Tage 14, 21 und 28 beschrieben. Um eine validere Aussage treffen zu können, wurden anschließend nochmal die Ergebnisse wochenweise konsolidiert dargestellt und eine Standardabweichung bestimmt. So konnte ein nachvollziehbarer, valider Verlauf der Entwicklung der Makronährstoffe und des Energiegehalts dargestellt werden. Für die Entwicklung von Frühgeborenen besonders bedeutsam ist der True Proteingehalt der Muttermilch (74). Unsere Ergebnisse zeigen einen deutlichen Abfall des True Protein Gehalts über die ersten 4 Wochen um 38,9%. Dass der Protein Gehalt in der Muttermilch in den ersten Wochen nach der Geburt sinkt, deckt sich mit den Ergebnissen anderen Studien (52, 92-94, 118). Das Besondere am zeitlichen Verlauf unserer Studie ist, dass der Zeitraum der Routineuntersuchungen nicht begrenzt war. Somit konnte ein extrem langer Verlauf von bis 108 Tagen nach der Geburt dargestellt werden. Auch hier wurden Boxplots verwendet. Deutlich wird, dass der Gehalt der Muttermilch weiterhin stark abnimmt. Bemerkenswert sind die verschiedenen Ausreißer mit anfänglich niedrigen Proteinwerten und einem sekundären Anstieg, der letztendlich hinsichtlich der Ursache unklar ist.

Statistisch signifikant war der Abfall des True Protein Gehalt nach den ersten 28 Tagen ( $p < 0,05$ , True Protein Gehalt d1-28 vs d29-108). Dies wirft die Frage auf, ob Frühchen nach ihrer Entlassung nach Hause noch von einer weiteren Supplementierung profitieren würden.

Wie bereits für reife Muttermilch beschrieben, ließ sich auch bei der Milch von Frühgeborenen Müttern über den Beobachtungszeitraum von 108 Tagen kaum eine Veränderung des Kohlenhydratgehalts erkennen. Ein Einfluss auf den Energiegehalt

## Diskussion

---

war nicht zu sehen. Ganz anders als beim Fettgehalt. Im Verlauf der ersten Tage 1-28 zeigte sich ein leichter Anstieg. Konsolidiert über die Wochen wird deutlich, dass der Fettgehalt der ersten 7 Tage, des Kolostrums, deutlich niedriger ist als in der vierten Woche, der Tage 22-28. Während in den ersten 4 Wochen ein Anstieg gesehen werden konnte, zeigte der T-Test im Vergleich mit den restlichen Tagen 29-108 keinen signifikanten Unterschied. Die Durchschnitts- und Medianwerte im Streudiagramm zeigten ein minimales Gefälle des Fettgehalts über den gesamten Zeitraum 1-108. Erklärt werden kann diese Diskrepanz an der hohen Variabilität des Fettgehalts, nochmals deutlicher zu sehen in den Streudiagrammen (Abbildung 29). Von allen Makronährstoffen unterlag der Fettgehalt, wie in den Boxplots deutlich gemacht, den größten Schwankungen. Auch hier decken sich unsere Ergebnisse mit der Literatur, wie zum Beispiel der Studie von John et al. (119). Ähnlich wie der Fettgehalt, stieg auch der Energiegehalt in den ersten vier Wochen leicht an, verzeichnete aber insgesamt in den Tagen 1-108 im Streudiagramm ein leichtes Gefälle. Auch hier konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Tagen 1-28 und 29-108 festgestellt werden. Ein Zusammenhang der sichtbar wurde ist, dass ein erhöhter Fettgehalt mit einem erhöhten Energiegehalt einherging. Noch deutlicher wird dies bei Betrachtung der Ausreißer.

### 5.3.3 Ausreißer

Zwei der 31 Mütter verzeichneten True Protein Verläufe, die über die Zeit von mehreren Wochen wie zu erwarten erst deutlich absanken, und schließlich sprunghaft wiederanstiegen, und ihren Initialwert deutlich toppen konnten. In Rücksprache mit den Intensivpflegekräften nahmen beide Mütter (Probandinnen 27 und 28) Nahrungsergänzungsmittel, auf die sich ihre True Protein Werte deutlich erhöhten.

Wie bei den Ausreißern zu sehen ist, stellt die Ernährung, in unserem Fall Nahrungsergänzungsmittel, einen schwer kontrollierbaren Einflussfaktor auf die Zusammensetzung der Makonährstoffe dar. Auch in anderen Studien wurde gezeigt, dass Ernährung einen großen Einfluss auf die Zusammensetzung der Frauenmilch nehmen kann. So konnte in einer prospektiv angesetzten Fall- Kontroll- Studie in Kanada bei Müttern von reifgeborenen Kindern ein kurzfristiger Einfluss auf die

## Diskussion

---

Fettzusammensetzung der Muttermilch genommen werden. Hierbei stellte jede Mutter ihre eigene Kontrolle dar. Es wurde jeweils für 4 Tage erst eine Diät mit hohem Fettgehalt und dann eine Diät mit niedrigem Fettgehalt eingehalten. Unter anderem war ein Ergebnis, dass die mittelkettigen Fettsäuren in der Muttermilch ansteigen, wenn die Frauen eine Diät mit niedrigem Fettgehalt einhalten. Bei Kindern, die Probleme mit Malabsorption oder Unverträglichkeiten haben, wäre dies möglicherweise von Vorteil. In dieser Studie wurde allerdings nur Muttermilch von reifgeborenen Kindern von 14 Frauen untersucht (120). Dennoch bietet dies ein hohes Potential für zukünftige Studien, um Muttermilch gegebenenfalls über die Ernährung der laktierenden Mutter in ihrem Gehalt zu steigern.

Bei der genaueren Betrachtung der Mütter mit sehr hohen oder sehr niedrigen Werten ließ sich kein Zusammenhang zwischen Einlings- oder Mehrlingsschwangerschaft, Entbindungswoche oder Geburtsgewicht darstellen. Dies könnte an der Anzahl unserer Studienteilnehmer und der ungleichen Gruppengröße liegen. Möchte man untersuchen, inwieweit diese Faktoren Einfluss auf die Ausreißer im zeitlichen Verlauf des Gehalts der Muttermilch haben, sollten die Gruppen in jedem Fall größer und gleichverteilt sein. Zwar fand zufällig im Bereich „Entbindungswoche“ eine Gleichverteilung statt, jedoch sind die Teilnehmer mit 2-4 Probandinnen/Woche dennoch zu gering um eine fundierte Aussage zu treffen. Außerdem sind zwar die Studienteilnehmer gleich verteilt, aber die Anzahl der Proben die diese abgeben konnten schwankte zwischen 1 und 64, und ist somit nicht vergleichbar.

Die Probandinnen die als Ausreißer mit sehr hohem oder niedrigem Fettgehalt auffielen, hatten auch entsprechend hohe oder niedrige Energiewerte. Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien, die davon ausgehen, dass ca. 50% des Energiegehalts der Muttermilch über den Fettgehalt bezogen werden (121, 122).

### 5.3.3.1 Standardanreicherung vs. Anreicherung nach Bedarf

Die Anreicherung der Frauenmilch auf der neonatologischen Intensivstation in Großhadern wurde zum Zeitpunkt der Studie mit 1 FM 85 der Firma Nestlé® durchgeführt. Laut Beipackzettel steigern 4g FM 85 den Proteingehalt von 1,6g/100ml auf 3,0g/100ml. Der Carbohydrate Gehalt steigt von 7,3g/100ml auf

## Diskussion

---

8,6g/100ml. Der Fettgehalt wird von 3,5g/100ml auf 4,2g/100ml angehoben und der Energiegehalt der Frauenmilch von 68kcal/100ml auf 85kcal/100ml (87).

Der konsolidierte TP- Gehalt fiel in Woche eins im Median von 1,8g/100ml auf 1,5g/100ml in Woche zwei, auf 1,3g/100ml in Woche 3 und schließlich auf 1,1g/100ml in Woche 4. Mit einer Standardanreicherung von 1FM 85, der von einem zugrundeliegenden True Protein Gehalt von 1,6g/100ml in der Frauenmilch ausgeht, wäre die Milch also schon ab der 2. Lebenswoche nicht mehr ausreichend mit Protein angereichert.

Der True Protein Gehalt in der Frauenmilch sank in unserer Beobachtung in den Tagen 29-108 weiter und erreichte schließlich 0,6g/100ml. Sieht man sich die Minimalwerte im Verlauf an, so schwanken diese zwischen 0,4 und 0,9g/100ml. Es besteht das Risiko, dass die Kinder, die mit dieser Frauenmilch ernährt wurden, mit einer Standardanreicherung von 1FM 85 unterversorgt waren. Daher ist eine zusätzliche Beurteilung der Kinder bezüglich ihres Wachstums und ihrer Gewichtszunahme ein entscheidender Faktor, der in die Beurteilung der Kinder miteinfließt und gegebenenfalls Adjustierungen der Ernährung nach sich zieht.

Der Carbohydrate Gehalt stieg in den ersten 4 Wochen leicht um 9,7% von 6,5g/100ml in Woche 1 auf 7,2g/100ml in Woche 4. Das bedeutet, dass auch hier die Standard Fortification in den ersten drei Lebenswochen zu gering gewesen sein könnte.

Der Fettgehalt liegt im Median zwar bei ca. 4,18g/100ml in den ersten 28 Tagen, jedoch unterlag der Fettgehalt den größten Schwankungen. Somit ist die Gefahr der Über- oder Unterversorgung mit Makronährstoffen bei der Anreicherung mit 1 FM 85 groß. Während eine Unterversorgung mit Makronährstoffen mit vor allem akuten Wachstumseinschränkungen assoziiert ist, birgt die Überversorgung auch Krankheitsrisiken für das Erwachsenenleben. In den letzten Jahren konnte zunehmend vor allem die Überversorgung mit Protein als Hochrisikofaktor für spätere Adipositas und die Entwicklung eines metabolischen Syndroms identifiziert werden (123, 124).

Wie in Tabelle 2 dargestellt, liegt der Proteinbedarf pro kg KG/Tag bei 3,5-4g, der Bedarf an Carbohydrate zwischen 7 und 20 g/kg KG/Tag und der Bedarf an Fett zwischen 4 und 9g/kg KG/Tag. Es sollten außerdem Energiewerte zwischen 110

## Diskussion

---

und 165kcal/kg KG/Tag erreicht werden. In unserer Studie konnte im zeitlichen Verlauf gezeigt werden, dass die Makronährstoffe über den gesamten Zeitraum unter die Grenze sinken können, wenn eine Standardanreicherung durchgeführt wird. Die Target Fortification nach Messung gepoolter Milchproben wäre eine zeitsparende Möglichkeit, die Gefahr einer Minderversorgung bei Standardanreicherung auszugleichen (93).

### 5.3.4 Einfluss der Faktoren Einling/Mehrling

Der Vergleich zwischen Einlings- und Mehrlingsmüttern in unserer Studie war aufgrund der sehr unterschiedlichen Anzahl nur rein deskriptiv möglich. Von 31 Studienteilnehmern waren 25 Einlingsmütter, von denen 408 Proben gesammelt werden konnten, und 6 Mehrlingsmütter mit insgesamt 115 Proben.

Zwar konnte man aus den Streudiagrammen lesen, dass der Proteingehalt von Mehrlingsmüttern vermeintlich höher startet und dann aber schneller absinkt, in jedem Fall wäre aber auch die Milch von Mehrlingsmüttern schon zu Beginn auf Anreicherung angewiesen, um den Bedarf an benötigtem Protein zu decken. Sowohl Fett- als auch Energiegehalt starteten initial höher und fielen schneller und steiler ab, während die Muttermilch der Einlingsmütter dahingehend annähernd linear verlief. Der Gehalt an Carbohydrate startete bei beiden Gruppen gleich, der Gehalt bei Mehrlingsmüttern stieg aber steiler an. Zusammenfassend lässt sich über unsere Ergebnisse sagen, dass die Mehrlingsmilch unserer Studienteilnehmer zwar initial gehaltvoller war, man jedoch im Langzeitverlauf von 108 Tagen einen deutlichen Abfall zur Einlingsgruppe sehen konnte. In jedem Fall war die Milch aber sowohl von Einlings- als auch von Mehrlingsmüttern unter den angenommenen Bedarfsgrenzen. In einer anderen Studie von Copp et.al. kam man zu dem Schluss, dass Zwillingsmütter eine gehaltvollere Muttermilch produzierten, jedoch war der Studienumfang mit nur 3 Teilnehmern ebenfalls stark limitiert (125). Der Einflussfaktor Einling vs. Mehrling in Bezug auf den Gehalt der Muttermilch ist noch nicht ausreichend untersucht und bietet für zukünftige Studien viel Potential. Dies ist vor allem vor dem Hintergrund eines steigenden Anteils von Mehrlingsschwangerschaften und des damit assoziierten Risikos der Frühgeburtslichkeit von Bedeutung (126).

### 5.3.5 Einfluss des Faktors „Entbindungswoche“

Aufgeteilt nach den drei möglichen Entbindungszeiträumen ergab sich für uns folgende Gruppenzusammensetzung: 15 extremely preterm Frühchenmütter die 364 Proben abgeben konnten, 14 Mütter von very preterm Frühchen die 149 Proben abgeben konnten und 2 Mütter von moderate preterm Frühgeborenen, die insgesamt 10 Proben abgeben konnten. Aufgrund der geringen Probenanzahl der MP Mütter, wurden diese grafisch nicht mit dargestellt, da sie wahrscheinlich nur eine zufällige Beobachtung darstellen.

He et. al. kamen zu dem Ergebnis, dass die Zusammensetzung an Makronährstoffen und Energiewert sich je nach Entbindungswoche anpassen, um den Bedürfnissen der Frühgeborenen zu entsprechen (118). Einen Unterschied bezüglich der Zusammensetzung der Makronährstoffe je nach Entbindungswoche konnten wir auch sehen. Jedoch ist aufgrund der unterschiedlichen Gruppenkonstellationen und –größen eine Aussage darüber, ob es sich dabei tatsächlich um eine Anpassung der Makronährstoffe nach Entbindungswoche handelt, nicht möglich.

### 5.3.6 Einfluss des Faktors „Geburtsgewicht“

Die Klassifizierung nach Geburtsgewicht ist notwendig, da Kinder je nach Gewicht einen unterschiedlichen Ernährungsanspruch haben. Ein ELBW Frühchen bräuchte einen höheren Kalorie- und Proteinanteil in der Muttermilch als ein LBW Frühchen. In unseren Ergebnissen stellt sich gerade der initiale Proteingehalt von ELBW Müttern niedriger dar als der von VLBW und LBW Müttern. Der gesamte Verlauf ist nicht beurteilbar, da es nur gemeinsame Werte über die ersten ca. 40 Tage gibt. Es wird jedoch deutlich, dass der Proteingehalt von ELBW Müttern anscheinend langsamer sinkt als der Proteingehalt von VLBW und LBW Müttern. In der Muttermilch von ELBW Müttern verhalten sich die Graphen für Fett- und Energiegehalt minimal fallend. Im Gegensatz dazu verläuft der Graph von VLBW Müttern steiler fallend und setzt sowohl für Fett als auch für Energiegehalt höher an. Auch hier würde man den initial höheren Fett- und Energiegehalt eher bei den ELBW Frühchen Müttern erwarten, da er dort noch dringender benötigt würde. Studien zum Thema „Einfluss des Geburtsgewichts auf die Zusammensetzung der Muttermilch bei Frühgeborenen“ gibt es noch nicht.

### 5.3.7 Ausblick Ergebnisse

Zusammenfassend lässt sich zur Zusammensetzung von Frauenmilch im zeitlichen Verlauf nach Frühgeburt sagen, dass für jeden untersuchten Zeitraum der Gehalt an Makronährstoffe und Energie deutlich unterhalb der geltenden Empfehlungen der ESPGHAN zur Ernährung von Frühgeborenen lag. Die Werte waren größtenteils so gering, dass auch die Standardanreicherung mit Frauenmilchverstärker den Bedarf von Frühgeborenen nicht gedeckt hätte. Ein signifikanter Unterschied im zeitlichen Verlauf konnte allerdings nur für True Protein festgestellt werden.

Die untersuchten Einflussfaktoren „Einling/Mehrling“, „Entbindungswoche“ und „Entbindungsgewicht“ wiesen zwar teilweise deutliche Unterschiede auf, eine sinnvolle statistische Auswertung der Ergebnisse war aufgrund der geringen und variablen Gruppengröße zu den unterschiedlichen Zeitpunkten und der multiplen Biasfaktoren nicht möglich.

Mit dem MIRIS HMA ließen sich Makronährstoffe und der Energiegehalt unkompliziert und schnell auswerten. Da man sofort Rückmeldung an die Mütter über den Gehalt der Frauenmilch geben kann, besteht die Möglichkeit, dass die Mütter selbst durch eine Nahrungsergänzung Einfluss auf die Zusammensetzung ihrer Milch nehmen können. Dies könnte ein spannender Ansatz für zukünftige Studien sein.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit dem MIRIS HMA unterstützen die Hypothese, dass eine individuelle Supplementierung von Frühgeborenen aufgrund der starken Schwankungen in der Zusammensetzung der Frauenmilch und dem ohnehin geringen Grundgehalt sinnvoll sein kann. Deutlich wird, dass der Nährstoffgehalt der Muttermilch über einen sehr viel längeren Zeitraum abfällt als bisher untersucht, und die Ursache einer eventuellen Wachstumsabflachung bei restriktiver Nahrungssupplementierung sein könnte. Inwieweit die Entbindungswoche und das Entbindungsgewicht sowie Einlings- oder Mehrlingsgeburt Einfluss nehmen auf den Frauenmilchgehalt sollte in zukünftigen Untersuchungen mit statistisch auswertbarer Gruppengröße und gleichverteilten Daten aufgegriffen werden.

### 6 Zusammenfassung

Die Ernährung eines Frühgeborenen nimmt Einfluss auf dessen komplexe neurologische, geistige und körperlich gesundheitliche Entwicklung. In diversen Studien konnte bedarfsorientiert angereicherte Frauenmilch als optimale Ernährungsform herausgearbeitet werden, um sowohl kurzfristige als auch langfristige gesundheitliche Schäden wie NEC, ROP, LOS etc. so gering wie möglich zu halten.

Ziel unserer Studie war es, einen möglichst langen zeitlichen Verlauf der Makronährstoffe von Frauenmilch auszuwerten, um darstellen zu können, ob sich aus diesen Werten eine Handlungsempfehlung zur Anreicherung von Frauenmilch für unser eigenes Kollektiv ableiten ließe.

Das Sammeln der Milchproben fand im Rahmen der Etablierung der Frauenmilchbank im Klinikum Großhadern statt. Zur Auswertung verwendeten wir ausschließlich den Miris HMA, ein Milchanalysegerät, welches mit Mittelinfrarottechnik in kurzer Zeit die Makronährstoffe der Frauenmilch auswertet. Untersucht wurden True Protein, Carbohydrates, Fett und der Energiegehalt. Hierbei konnte ein zeitlicher Verlauf von 108 Tagen dargestellt werden. Die Daten wurden mit dem Geburtsgewicht, dem Gestationsalter zum Zeitpunkt der Entbindung sowie Einlings- oder Mehrlingsgeburt korreliert, um einen möglichen Zusammenhang zu untersuchen.

Die Milchanalysen in unserem Kollektiv bestätigten die Ergebnisse aus anderen Studien. Es zeigte sich ein signifikanter Abfall der Makronährstoffe für True Protein, während der Fett- und somit auch der Energiegehalt insgesamt sehr variabel waren. Der Kohlenhydratgehalt erwies sich als über die Zeit nahezu stabil.

Die Werte in unserem Kollektiv zeigten, dass vor allem für den wichtigen Faktor True Protein die Standardanreicherung vermutlich zu niedrig ist, und lässt ebenfalls den Schluss zu, dass eine individuelle Anreicherung der Frauenmilch im Sinne einer Point- of- care Diagnostik, die mit dem Miris HMA möglich ist, sinnvoll erscheint. Eine Korrelation der Zusatzfaktoren ließ sich aufgrund des kleinen Studienkollektivs nicht darstellen.

## 7 Literaturverzeichnis

1. WHO: recommended definitions, terminology and format for statistical tables related to the perinatal period and use of a new certificate for cause of perinatal deaths. Modifications recommended by FIGO as amended October 14, 1976. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 1977;56(3):247-53.
2. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller AB, et al. Born Too Soon: The global epidemiology of 15 million preterm births. *Reproductive Health*. 2013;10(Suppl 1):S2.
3. Howson CP, Kinney MV, McDougall L, Lawn JE. Born Too Soon: Preterm birth matters. *Reproductive Health*. 2013;10(Suppl 1):S1.
4. Lawn JE, Kinney MV, Belizan JM, Mason EM, McDougall L, Larson J, et al. Born Too Soon: Accelerating actions for prevention and care of 15 million newborns born too soon. *Reproductive Health*. 2013;10(Suppl 1):S6.
5. Bundesausschuss g. IQTIG Qualitätsreport 2017.
6. Moore T, Hennessy EM, Myles J, Johnson SJ, Draper ES, Costeloe KL, et al. Neurological and developmental outcome in extremely preterm children born in England in 1995 and 2006: the EPICure studies. *BMJ (Clinical research ed)*. 2012;345:e7961.
7. Moster D, Lie RT, Markestad T. Long-term medical and social consequences of preterm birth. *The New England journal of medicine*. 2008;359(3):262-73.
8. Hille ET, den Ouden AL, Saigal S, Wolke D, Lambert M, Whitaker A, et al. Behavioural problems in children who weigh 1000 g or less at birth in four countries. *Lancet*. 2001;357(9269):1641-3.
9. Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, Cradock MM, Anand KJ. Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. *Jama*. 2002;288(6):728-37.
10. Litt J, Taylor HG, Klein N, Hack M. Learning disabilities in children with very low birthweight: prevalence, neuropsychological correlates, and educational interventions. *Journal of learning disabilities*. 2005;38(2):130-41.
11. Saigal S, den Ouden L, Wolke D, Hoult L, Paneth N, Streiner DL, et al. School-age outcomes in children who were extremely low birth weight from four international population-based cohorts. *Pediatrics*. 2003;112(4):943-50.
12. Hack M, Klein NK, Taylor HG. Long-term developmental outcomes of low birth weight infants. *The Future of children*. 1995;5(1):176-96.
13. Hack M, Taylor HG, Drotar D, Schluchter M, Cartar L, Andreias L, et al. Chronic conditions, functional limitations, and special health care needs of school-aged children born with extremely low-birth-weight in the 1990s. *Jama*. 2005;294(3):318-25.
14. Torchin H, Ancel PY. [Epidemiology and risk factors of preterm birth]. *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction*. 2016;45(10):1213-30.
15. Kwok TC, Dorling J, Gale C. Early enteral feeding in preterm infants. *Seminars in perinatology*. 2019;43(7):151159.
16. Leitlinie Nekrotisierende Enterokolitis, (2010).
17. Schnabl KL, Van Aerde JE, Thomson AB, Clandinin MT. Necrotizing enterocolitis: a multifactorial disease with no cure. *World journal of gastroenterology*. 2008;14(14):2142-61.
18. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *Lancet*. 2006;368(9543):1271-83.

## Literaturverzeichnis

---

19. Holman RC, Stoll BJ, Curns AT, Yorita KL, Steiner CA, Schonberger LB. Necrotising enterocolitis hospitalisations among neonates in the United States. *Paediatric and perinatal epidemiology*. 2006;20(6):498-506.
20. Regev RH, Reichman B. Prematurity and intrauterine growth retardation--double jeopardy? *Clinics in perinatology*. 2004;31(3):453-73.
21. Al Tawil K, Sumaily H, Ahmed IA, Sallam A, Al Zaben A, Al Namshan M, et al. Risk factors, characteristics and outcomes of necrotizing enterocolitis in late preterm and term infants. *Journal of neonatal-perinatal medicine*. 2013;6(2):125-30.
22. Tanner SM, Berryhill TF, Ellenburg JL, Jilling T, Cleveland DS, Lorenz RG, et al. Pathogenesis of necrotizing enterocolitis: modeling the innate immune response. *Am J Pathol*. 2015;185(1):4-16.
23. Niño DF, Sodhi CP, Hackam DJ. Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(10):590-600.
24. Anand RJ, Leaphart CL, Mollen KP, Hackam DJ. The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Shock (Augusta, Ga)*. 2007;27(2):124-33.
25. Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999;80(3):F167-73.
26. Hackam D, Caplan M. Necrotizing enterocolitis: Pathophysiology from a historical context. *Seminars in pediatric surgery*. 2018;27(1):11-8.
27. Warner BB, Deych E, Zhou Y, Hall-Moore C, Weinstock GM, Sodergren E, et al. Gut bacteria dysbiosis and necrotising enterocolitis in very low birthweight infants: a prospective case-control study. *Lancet*. 2016;387(10031):1928-36.
28. Pammi M, Cope J, Tarr PI, Warner BB, Morrow AL, Mai V, et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *Microbiome*. 2017;5(1):31.
29. Prof. Dr. med. Orsolya Genzel-Boroviczeny PDmAJ, Prof. Dr. med. Walter Mihatsch, Prof. Dr. Dr. med. Peter Schmittenebecher, . Leitlinie der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin, der Gesellschaft für Pädiatrische Gastroenterologie und Ernährung und der Deutschen Gesellschaft für Kinderchirurgie 2017:24.
30. Okuyama H, Kubota A, Oue T, Kuroda S, Ikegami R, Kamiyama M. A comparison of the clinical presentation and outcome of focal intestinal perforation and necrotizing enterocolitis in very-low-birth-weight neonates. *Pediatric surgery international*. 2002;18(8):704-6.
31. Gordon PV. Understanding intestinal vulnerability to perforation in the extremely low birth weight infant. *Pediatr Res*. 2009;65(2):138-44.
32. Blakely ML, Tyson JE, Lally KP, McDonald S, Stoll BJ, Stevenson DK, et al. Laparotomy versus peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis or isolated intestinal perforation in extremely low birth weight infants: outcomes through 18 months adjusted age. *Pediatrics*. 2006;117(4):e680-7.
33. Chan KY, Leung KT, Tam YH, Lam HS, Cheung HM, Ma TP, et al. Genome-wide expression profiles of necrotizing enterocolitis versus spontaneous intestinal

## Literaturverzeichnis

---

- perforation in human intestinal tissues: dysregulation of functional pathways. *Annals of surgery*. 2014;260(6):1128-37.
34. Bohler T, Bruder I, Ruef P, Arand J, Teufel M, Mohrmann M, et al. Necrotizing enterocolitis and focal intestinal perforation in neonatal intensive care units in the state of baden-wuerttemberg, Germany. *Pediatric reports*. 2014;6(1):5194.
35. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Annals of surgery*. 1978;187(1):1-7.
36. Tam AL, Camberos A, Applebaum H. Surgical decision making in necrotizing enterocolitis and focal intestinal perforation: predictive value of radiologic findings. *Journal of pediatric surgery*. 2002;37(12):1688-91.
37. Epelman M, Daneman A, Navarro OM, Morag I, Moore AM, Kim JH, et al. Necrotizing enterocolitis: review of state-of-the-art imaging findings with pathologic correlation. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2007;27(2):285-305.
38. Dordelmann M, Rau GA, Bartels D, Linke M, Derichs N, Behrens C, et al. Evaluation of portal venous gas detected by ultrasound examination for diagnosis of necrotising enterocolitis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2009;94(3):F183-7.
39. Faingold R, Daneman A, Tomlinson G, Babyn PS, Manson DE, Mohanta A, et al. Necrotizing enterocolitis: assessment of bowel viability with color doppler US. *Radiology*. 2005;235(2):587-94.
40. Pourcyrus M, Korones SB, Yang W, Boulden TF, Bada HS. C-reactive protein in the diagnosis, management, and prognosis of neonatal necrotizing enterocolitis. *Pediatrics*. 2005;116(5):1064-9.
41. Hallstrom M, Koivisto AM, Janas M, Tammela O. Laboratory parameters predictive of developing necrotizing enterocolitis in infants born before 33 weeks of gestation. *Journal of pediatric surgery*. 2006;41(4):792-8.
42. Obladen MM, R.F. *Neugeborenenintensivmedizin*. 2010;8.
43. Lucas A, Cole TJ. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. *Lancet*. 1990;336(8730):1519-23.
44. Gregory KE, Samuel BS, Houghteling P, Shan G, Ausubel FM, Sadreyev RI, et al. Influence of maternal breast milk ingestion on acquisition of the intestinal microbiome in preterm infants. *Microbiome*. 2016;4.
45. Sisk PM, Lovelady CA, Dillard RG, Gruber KJ, O'Shea TM. Early human milk feeding is associated with a lower risk of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2007;27(7):428-33.
46. Corpeleijn WE, Kouwenhoven SM, Paap MC, van Vliet I, Scheerder I, Muizer Y, et al. Intake of own mother's milk during the first days of life is associated with decreased morbidity and mortality in very low birth weight infants during the first 60 days of life. *Neonatology*. 2012;102(4):276-81.
47. Quigley M, Embleton ND, McGuire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;6:Cd002971.
48. Turfkruyer M, Verhasselt V. Breast milk and its impact on maturation of the neonatal immune system. *Curr Opin Infect Dis*. 2015;28(3):199-206.
49. Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology*. 2012;22(9):1147-62.

## Literaturverzeichnis

---

50. Good M, Sodhi CP, Egan CE, Afrazi A, Jia H, Yamaguchi Y, et al. Breast milk protects against the development of necrotizing enterocolitis through inhibition of Toll-like receptor 4 in the intestinal epithelium via activation of the epidermal growth factor receptor. *Mucosal Immunol.* 2015;8(5):1166-79.
51. Miller J, Tonkin E, Damarell RA, McPhee AJ, Suganuma M, Suganuma H, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Human Milk Feeding and Morbidity in Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients.* 2018;10(6).
52. Blakstad EW, Strommen K, Moltu SJ, Wattam-Bell J, Nordheim T, Almaas AN, et al. Improved Visual Perception in Very Low Birth Weight Infants on Enhanced Nutrient Supply. *Neonatology.* 2015;108(1):30-7.
53. Ginovart G, Gich I, Verd S. Human milk feeding protects very low-birth-weight infants from retinopathy of prematurity: a pre-post cohort analysis. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet.* 2016;29(23):3790-5.
54. Dong Y, Speer CP. Late-onset neonatal sepsis: recent developments. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2015;100(3):F257-63.
55. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2002;110(2 Pt 1):285-91.
56. Hammoud MS, Al-Taiar A, Thalib L, Al-Sweih N, Pathan S, Isaacs D. Incidence, aetiology and resistance of late-onset neonatal sepsis: a five-year prospective study. *J Paediatr Child Health.* 2012;48(7):604-9.
57. Ronnestad A, Abrahamsen TG, Medbo S, Reigstad H, Lossius K, Kaaresen PI, et al. Late-onset septicemia in a Norwegian national cohort of extremely premature infants receiving very early full human milk feeding. *Pediatrics.* 2005;115(3):e269-76.
58. Trend S, Strunk T, Hibbert J, Kok CH, Zhang G, Doherty DA, et al. Antimicrobial protein and Peptide concentrations and activity in human breast milk consumed by preterm infants at risk of late-onset neonatal sepsis. *PloS one.* 2015;10(2):e0117038.
59. World Health Organisation U. Global strategy for infant and child feeding 2003 [
60. Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.* 2013;57(4):535-42.
61. Arslanoglu S, Ziegler EE, Moro GE. Donor human milk in preterm infant feeding: evidence and recommendations. *Journal of perinatal medicine.* 2010;38(4):347-51.
62. Martin CR, Ling PR, Blackburn GL. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients.* 2016;8(5).
63. Kim EJ, Lee NM, Chung SH. A retrospective study on the effects of exclusive donor human milk feeding in a short period after birth on morbidity and growth of preterm infants during hospitalization. *Medicine.* 2017;96(35).
64. Meinzen-Derr J, Poindexter B, Wrage L, Morrow A, Stoll B, Donovan E. Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association.* 2009;29(1):57-62.

## Literaturverzeichnis

---

65. Hair AB, Peluso AM, Hawthorne KM, Perez J, Smith DP, Khan JY, et al. Beyond Necrotizing Enterocolitis Prevention: Improving Outcomes with an Exclusive Human Milk-Based Diet. *Breastfeeding Medicine*. 2016;11(2):70-4.
66. Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C. Feeding strategies for premature infants: beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula. *Pediatrics*. 1999;103(6):1150-7.
67. Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, Patel AL, Trawogger R, Kiechl-Kohlendorfer U, et al. An exclusively human milk-based diet is associated with a lower rate of necrotizing enterocolitis than a diet of human milk and bovine milk-based products. *The Journal of pediatrics*. 2010;156(4):562-7.e1.
68. El-Mohandes AE, Picard MB, Simmens SJ, Keiser JF. Use of human milk in the intensive care nursery decreases the incidence of nosocomial sepsis. *Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association*. 1997;17(2):130-4.
69. Boyd CA, Quigley MA, Brocklehurst P. Donor breast milk versus infant formula for preterm infants: systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007;92(3):F169-75.
70. Schneider N, Garcia-Rodenas CL. Early Nutritional Interventions for Brain and Cognitive Development in Preterm Infants: A Review of the Literature. *Nutrients*. 2017;9(3).
71. Vohr BR, Poindexter BB, Dusick AM, McKinley LT, Higgins RD, Langer JC, et al. Persistent beneficial effects of breast milk ingested in the neonatal intensive care unit on outcomes of extremely low birth weight infants at 30 months of age. *Pediatrics*. 2007;120(4):e953-9.
72. Cristofalo EA, Schanler RJ, Blanco CL, Sullivan S, Trawoeger R, Kiechl-Kohlendorfer U, et al. Randomized trial of exclusive human milk versus preterm formula diets in extremely premature infants. *The Journal of pediatrics*. 2013;163(6):1592-5.e1.
73. Hay WW, Hendrickson KC, editors. *Preterm formula use in the preterm very low birth weight infant*. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine; 2017: Elsevier.
74. Nutrient needs and feeding of premature infants. Nutrition Committee, Canadian Paediatric Society. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 1995;152(11):1765-85.
75. Herber-Jonat S. Stillen beim Frühgeborenen. *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie*. 2007;211(01):8-12.
76. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC pediatrics*. 2014;14:216.
77. Colaizy TT, Carlson S, Saftlas AF, Morriss Jr FH. Growth in VLBW infants fed predominantly fortified maternal and donor human milk diets: a retrospective cohort study. *BMC pediatrics*. 2012;12:124.
78. Kuschel CA, Harding JE. Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;1.
79. Eibensteiner F, Auer-Hackenberg L, Jilma B, Thanhaeuser M, Wald M, Haiden N. Growth, Feeding Tolerance and Metabolism in Extreme Preterm Infants under an Exclusive Human Milk Diet. *Nutrients*. 2019;11(7).
80. Joosten K, Embleton N, Yan W, Senterre T. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Energy. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2018;37(6 Pt B):2309-14.

## Literaturverzeichnis

---

81. Moro G, Fulconis F, Minoli I, Pohlandt F, RAIHA N. Growth and Plasma Amino Acid Concentrations in Very Low Birthweight Infants Fed Either Human Milk Protein Fortified Human Milk or a Whey - Predominant Formula. *Acta Paediatrica*. 1989;78(1):18-22.
82. Kashyap S, Schulze KF, Forsyth M, Dell RB, Ramakrishnan R, Heird WC. Growth, nutrient retention, and metabolic response of low-birth-weight infants fed supplemented and unsupplemented preterm human milk. *The American journal of clinical nutrition*. 1990;52(2):254-62.
83. Polberger S, Axelsson I, Raiha N. Growth of very low birth weight infants on varying amounts of human milk protein. *Pediatric Research*. 1989;25(4):414-9.
84. Tan MJ, Cooke RW. Improving head growth in very preterm infants--a randomised controlled trial I: neonatal outcomes. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2008;93(5):F337-41.
85. Dorum BA, Ozkan H, Cakir SC, Koksall N, Sen GE. What should be the protein target for adjustable Human Milk fortification in premature infants? *Pakistan journal of medical sciences*. 2019;35(1):277-81.
86. Lucas A, Morley R, Cole TJ. Randomised trial of early diet in preterm babies and later intelligence quotient. *BMJ (Clinical research ed)*. 1998;317(7171):1481-7.
87. Nestlé. Nestlé BEBA FM 85 – Nährstoffsupplement zur Frauenmilch 2017 [
88. Morlacchi L, Mallardi D, Gianni ML, Roggero P, Amato O, Piemontese P, et al. Is targeted fortification of human breast milk an optimal nutrition strategy for preterm infants? An interventional study. *Journal of translational medicine*. 2016;14(1):195.
89. Bulut O, Coban A, Uzunhan O, Ince Z. Effects of Targeted Versus Adjustable Protein Fortification of Breast Milk on Early Growth in Very Low-Birth-Weight Preterm Infants: A Randomized Clinical Trial. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*. 2019.
90. Corvaglia L, Aceti A, Paoletti V, Mariani E, Patrono D, Ancora G, et al. Standard fortification of preterm human milk fails to meet recommended protein intake: Bedside evaluation by Near-Infrared-Reflectance-Analysis. *Early human development*. 2010;86(4):237-40.
91. Aiken CG. Determinants of urea production and mineral retention in parenterally fed preterm infants. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(8):1655-8.
92. Radmacher PG, Lewis SL, Adamkin DH. Individualizing fortification of human milk using real time human milk analysis. *Journal of neonatal-perinatal medicine*. 2013;6(4):319-23.
93. Fusch G, Kwan C, Kotrri G, Fusch C. "Bed Side" Human Milk Analysis in the Neonatal Intensive Care Unit: A Systematic Review. *Clinics in perinatology*. 2017;44(1):209-67.
94. Maly J, Burianova I, Vitkova V, Ticha E, Navratilova M, Cermakova E. Preterm human milk macronutrient concentration is independent of gestational age at birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2018.
95. de Halleux V, Rigo J. Variability in human milk composition: benefit of individualized fortification in very-low-birth-weight infants. *The American journal of clinical nutrition*. 2013;98(2):529s-35s.
96. Weber A, Loui A, Jochum F, Buhner C, Obladen M. Breast milk from mothers of very low birthweight infants: variability in fat and protein content. *Acta Paediatr*. 2001;90(7):772-5.

## Literaturverzeichnis

---

97. Rochow N, Fusch G, Choi A, Chessell L, Elliott L, McDonald K, et al. Target fortification of breast milk with fat, protein, and carbohydrates for preterm infants. *The Journal of pediatrics*. 2013;163(4):1001-7.
98. Fusch G, Rochow N, Choi A, Fusch S, Poeschl S, Ubah AO, et al. Rapid measurement of macronutrients in breast milk: How reliable are infrared milk analyzers? *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2015;34(3):465-76.
99. MIRIS. <http://www.mirissolutions.com/support/user-manuals> 2016 [
100. Billard H, Simon L, Desnots E, Sochard A, Boscher C, Riaublanc A, et al. Calibration Adjustment of the Mid-infrared Analyzer for an Accurate Determination of the Macronutrient Composition of Human Milk. *Journal of human lactation : official journal of International Lactation Consultant Association*. 2016;32(3):Np19-27.
101. de Halleux V, Pieltain C, Senterre T, Studzinski F, Kessen C, Rigo V, et al. Growth Benefits of Own Mother's Milk in Preterm Infants Fed Daily Individualized Fortified Human Milk. *Nutrients*. 2019;11(4).
102. Garcia-Lara NR, Vieco DE, De la Cruz-Bertolo J, Lora-Pablos D, Velasco NU, Pallas-Alonso CR. Effect of Holder pasteurization and frozen storage on macronutrients and energy content of breast milk. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2013;57(3):377-82.
103. Vieira AA, Soares FV, Pimenta HP, Abranches AD, Moreira ME. Analysis of the influence of pasteurization, freezing/thawing, and offer processes on human milk's macronutrient concentrations. *Early human development*. 2011;87(8):577-80.
104. Mangel L, Ovental A, Batscha N, Arnon M, Yarkoni I, Dollberg S. Higher Fat Content in Breastmilk Expressed Manually: A Randomized Trial. *Breastfeeding medicine : the official journal of the Academy of Breastfeeding Medicine*. 2015;10(7):352-4.
105. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early human development*. 2015;91(11):629-35.
106. Garcia-Lara NR, Escuder-Vieco D, Garcia-Algar O, De la Cruz J, Lora D, Pallas-Alonso C. Effect of freezing time on macronutrients and energy content of breastmilk. *Breastfeeding medicine : the official journal of the Academy of Breastfeeding Medicine*. 2012;7:295-301.
107. Orbach R, Mandel D, Mangel L, Marom R, Lubetzky R. The Effect of Deep Freezing on Human Milk Macronutrients Content. *Breastfeeding medicine : the official journal of the Academy of Breastfeeding Medicine*. 2019;14(3):172-6.
108. Chang YC, Chen CH, Lin MC. The macronutrients in human milk change after storage in various containers. *Pediatrics and neonatology*. 2012;53(3):205-9.
109. Lev HM, Ovental A, Mandel D, Mimouni FB, Marom R, Lubetzky R. Major losses of fat, carbohydrates and energy content of preterm human milk frozen at -80 degrees C. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2014;34(5):396-8.
110. Thomaz ACP, Goncalves AL, Martinez FE. Effects of human milk homogenization on fat absorption in very low birth weight infants. *Nutrition Research*. 1999;19(4):483-92.
111. Rayol MR, Martinez FE, Jorge SM, Goncalves AL, Desai ID. Feeding premature infants banked human milk homogenized by ultrasonic treatment. *The Journal of pediatrics*. 1993;123(6):985-8.

## Literaturverzeichnis

---

112. Boyce C, Watson M, Lazidis G, Reeve S, Dods K, Simmer K, et al. Preterm human milk composition: a systematic literature review. *The British journal of nutrition*. 2016;116(6):1033-45.
113. der Ernährungskommission S. Warnung vor unkritischem Gebrauch von Muttermilchanalysatoren. 2016.
114. Groh-Wargo S, Valentic J, Khaira S, Super DM, Collin M. Human Milk Analysis Using Mid-Infrared Spectroscopy. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*. 2016;31(2):266-72.
115. Kreissl A, Zwiauer V, Repa A, Binder C, Thanhaeuser M, Jilma B, et al. Human Milk Analyser shows that the lactation period affects protein levels in preterm breastmilk. *Acta Paediatr*. 2016;105(6):635-40.
116. de Halleux V, Close A, Stalport S, Studzinski F, Habibi F, Rigo J. [Advantages of individualized fortification of human milk for preterm infants]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 2007;14 Suppl 1:S5-10.
117. Mosca F, Gianni ML. Human milk: composition and health benefits. *La Pediatria medica e chirurgica : Medical and surgical pediatrics*. 2017;39(2):155.
118. He BZ, Sun XJ, Quan MY, Wang DH. [Macronutrients and energy in milk from mothers of premature infants]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2014;16(7):679-83.
119. John A, Sun R, Maillart L, Schaefer A, Hamilton Spence E, Perrin MT. Macronutrient variability in human milk from donors to a milk bank: Implications for feeding preterm infants. *PloS one*. 2019;14(1):e0210610.
120. Nasser R, Stephen AM, Goh YK, Clandinin MT. The effect of a controlled manipulation of maternal dietary fat intake on medium and long chain fatty acids in human breast milk in Saskatoon, Canada. *International Breastfeeding Journal*. 2010;5:3.
121. Jensen RG. The lipids in human milk. *Progress in lipid research*. 1996;35(1):53-92.
122. Comerford KB, Ayoob KT, Murray RD, Atkinson SA. The Role of Avocados in Maternal Diets during the Periconceptional Period, Pregnancy, and Lactation. *Nutrients*. 2016;8(5).
123. Hellmuth C, Uhl O, Demmelmair H, Grunewald M, Auricchio R, Castillejo G, et al. The impact of human breast milk components on the infant metabolism. *PloS one*. 2018;13(6):e0197713.
124. Koletzko B, Demmelmair H, Grote V, Totzauer M. Optimized protein intakes in term infants support physiological growth and promote long-term health. *Seminars in perinatology*. 2019;43(7):151153.
125. Copp K, DeFranco EA, Kleiman J, Rogers LK, Morrow AL, Valentine CJ. Nutrition Support Team Guide to Maternal Diet for the Human-Milk-Fed Infant. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*. 2018;33(5):687-93.
126. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *The New England journal of medicine*. 2002;346(10):731-7.

## Anhang

---

### 8 Anhang

Name:

Date of taking:

Time of taking:

Index number MIRIS:

	Messung 1	Messung 2
Fat		
Crude protein		
Carbohydrates		
TS		
Energy		
True protein		

*Anhang 1: Vorlagebogen zur Datenerhebung*

### 9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all meinen Patientinnen bedanken, die ihre Milch zur Verfügung gestellt haben, und ohne die es keine Proben zu untersuchen gegeben hätte. Außerdem möchte ich mich ganz herzlich bei den Intensivpflegekräften der I10 in Großhadern bedanken, allen voran bei Madeleine Wurm, die nicht nur Kinder, sondern auch Mütter in dieser schwierigen Zeit betreuen. Ich danke euch für euer Feingefühl und die Aquirierung der Patientinnen sowie für eure Arbeit in der Milchküche.

Ich danke Herrn Prof. Schulze, für die Idee zu dieser Arbeit und das Feedback in der Zweitkorrektur.

Ich danke meiner Biologie- Lehrerin Susi Pickl, die den Funken für die Wissenschaft in mir entfacht hat und mich an mich selber glauben ließ.

Außerdem gilt mein Dank meinem Mann Michael für die stundenlangen Erklärungen über Excel und Word, die enorme Hilfe bei den Grafiken, der Formatierung und den konstanten Reminder, diese Arbeit fertigzustellen. Ohne dich, wäre ich nicht da wo ich jetzt bin.

Mein größter Dank gilt Frau PD Dr. med. Susanne Jonat, für die Übernahme dieser Arbeit nachdem sie fast verloren schien. Für ihre Funktion als Doktormutter und Betreuerin in Einem. Für zahlreiche Korrekturen und den konstruktiven Input. Für ihre immer aufmunternden Worte und fürs bis zum Ende mit mir durchhalten. Tausend Dank!

## **10 Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit eigenständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Textpassagen, die wörtlich oder dem Sinn nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

München, 12.11.2022

Nadine Venus