

Einfluss einer MCT/LCT-Emulsion im Vergleich zu
einer herkömmlichen LCT-Emulsion im Rahmen einer
parenteralen Ernährung von Frühgeborenen

Frauke Lehner

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Einfluss einer MCT/LCT-Emulsion im Vergleich zu einer herkömmlichen LCT-Emulsion im Rahmen einer parenteralen Ernährung von Frühgeborenen

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Frauke Lehner

aus
Eittingermoos

2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. B. Koletzko
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. A. Schulze Prof. Dr. M. Thiel
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. H. Demmelmair
Dekan:	Prof. Dr. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	10.01.2006

*Dank meinen Eltern, die mir diesen Weg
ermöglicht haben und mir stets zur Seite standen.*

Bei Herrn Prof. Dr. med. B. Koletzko bedanke ich mich sehr herzlich für die Anregung dieser Arbeit und für die jederzeit gewährte Unterstützung.

Großer Dank gilt Herrn Dr. Hans Demmelmair, für die Durchführung der Messungen am GC-C-IRMS, seine konstruktive Kritik und unermüdliche Unterstützung.

Weiterhin bedanken möchte ich mich bei den beteiligten Ärzten der Kinderklinik Pécs, für die Rekrutierung der Studienteilnehmer, sowie für die Durchführung der Untersuchungen und Blutentnahmen bei den Kindern. An dieser Stelle möchte ich mich besonders bedanken bei Herrn Dr. Decsi, für seine Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

Bei allen Kolleginnen und Kollegen des Labors für Stoffwechsel und Ernährung des Dr. von Haunerschen Kinderspitals bedanke ich mich für die herzliche Atmosphäre und große Hilfsbereitschaft. Über viele angeregte Diskussionen erhielt ich letztlich auch wertvolle Hinweise für die Fertigstellung dieser Arbeit.

Unterstützt wurde diese Arbeit von der Stiftung Kindergesundheit und der B. Braun Melsungen AG.

- Inhaltsverzeichnis -

1	EINLEITUNG	1
2	STUDIEN-TEILNEHMER UND METHODEN	10
2.1	Studienteilnehmer	10
2.2	Studiendesign	10
2.2.1	Ernährung der Frühgeborenen während der Studienphase	10
2.2.1.1	Zusammensetzung der Studienprodukte	11
2.2.1.2	Randomisierung	12
2.2.1.3	Kodierung und Dekodierung	12
2.2.1.4	Produktion, Verpackung und Lagerung der Präparate	13
2.2.2	Dokumentation der Ernährungsbehandlung der Kinder	13
2.2.3	Dokumentation der klinischen Daten des Kindes	13
2.2.4	Probenentnahmen und Untersuchungen im Studienverlauf	14
2.2.4.1	Anthropometrische Messungen	14
2.2.4.2	Probenentnahmen	16
2.2.4.3	Vorbereitung und Verabreichung der ¹³ C-markierten Fettsäuren	16
2.3	Ethische Aspekte	17
2.3.1	Blutentnahmen bei Frühgeborenen	17
2.3.2	Verabreichung stabiler Isotope bei Kindern	17
2.3.3	Aufklärung und Einwilligung der Eltern	18
2.3.4	GCP-Richtlinien und prüfende Ethik-Kommission	18
2.4	Analytische Methoden	19
2.4.1	Geräte und Reagenzien	19
2.4.2	Probenvorbereitung, Transport und Lagerung	20
2.4.3	Fettsäureanalytik	20
2.4.3.1	Reproduzierbarkeit und Methodenverbesserung für die Analyse der Fettsäure-Absolutkonzentrationen	20
2.4.3.2	Plasma-Lipidfraktionen	21
2.4.3.3	Erythrozyten-Phospholipide	24
2.4.3.4	Gaschromatographie	26
2.4.3.5	Berechnung der Fettsäuregehalte in den Proben	27
2.4.4	Methode zur Analyse der Plasma-Vitamine (Vitamin E und A)	28
2.4.4.1	Herstellung des Standard-Gemisches	28
2.4.4.2	Probenaufbereitung	29
2.4.4.3	HPLC-Bedingungen	30
2.4.4.4	Kalibriergerade und Konzentrationsberechnungen	31
2.4.5	Carnitin-Bestimmung	31
2.4.5.1	Probenaufbereitung	31
2.4.5.2	Elektronenspray Ionisation-Tandem Massenspektrometrie	32
2.4.6	Bestimmung der ¹³ C-Anreicherungen von Fettsäuren mittels GC-C-IRMS	32
2.5	Berechnungen und Statistische Auswertung	33
2.5.1	Statistische Fallzahlberechnung	33

- Inhaltsverzeichnis -

2.5.2	Statistische Methoden zur Auswertung der Ergebnisse	34
2.5.3	Berechnung zur Auswertung der Tracerdaten	34
3	ERGEBNISSE	37
3.1	Methoden zur Fettsäureanalytik	37
3.2	Methode zur Vitaminanalytik	39
3.3	Studienteilnehmer	40
3.3.1	Anzahl rekrutierter und ausgeschlossener Kinder	40
3.3.2	Geburtsverlauf und demographische Daten der Studienteilnehmer	41
3.3.3	Unerwünschte Ereignisse und Begleitmedikation	41
3.3.4	Verträglichkeitskriterien	42
3.4	Ernährung und Gewichtsentwicklung im Verlauf der Studie	43
3.4.1	Energie- und Nährstoffzufuhr während der Studienphase	43
3.4.2	Gewichtsverlauf während der Studienphase	44
3.5	Fettsäuregehalte der Präparate	46
3.6	Fettsäurezusammensetzung von Plasma und Erythrozyten	46
3.6.1	Fettsäurekonzentrationen in den Plasmatriglyceriden	46
3.6.2	Prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Plasmatriglyceride	51
3.6.3	Fettsäurekonzentrationen in den Plasmaphospholipiden	54
3.6.4	Prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Plasma-phospholipide	56
3.6.5	Erythrozyten-Phosphatidylcholin	59
3.6.6	Erythrozyten-Phosphatidylethanolamin	62
3.6.7	Korrelation der Fettsäuregehalte in den Plasma-TG , Plasma-PI und Erythrozyten-PL bei Studienende	65
3.6.8	Korrelation zwischen anthropometrischen Daten und Fettsäurekonzentrationen in Plasma-Phospholipiden bei Studienende	68
3.7	Vitaminskonzentrationen im Plasma	68
3.8	Carnitinkonzentrationen im Plasma	69
3.9	¹³ C-Anreicherung in den langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren nach oraler Gabe ¹³ C-markierter Linolsäure und α -Linolensäure	72
3.9.1	¹³ C-Anreicherung in den PUFAs der Plasmaphospholipiden	72
3.9.2	Zusammenhang zwischen den ¹³ C-Anreicherungen in den Fettsäuren der n-6 und der n-3 Reihe	76
4	DISKUSSION	79
4.1	Demographische Daten und Geburtsverlauf	80
4.2	Ernährung und Gewichtsentwicklung der Studienteilnehmer	80
4.3	Zusammensetzung der eingesetzten Präparate	81
4.4	Verträglichkeit	82
4.5	Fettsäurespiegel in Plasma und Erythrozyten	83
4.5.1	Plasma-Triglyceride (Konzentrationen)	83
4.5.2	Plasma-Triglyceride (% Fettsäuren)	85
4.5.3	Plasma-Phospholipide (Konzentrationen)	85

- Inhaltsverzeichnis -

4.5.4	Plasma-Phospholipide (% Fettsäuren)	87
4.5.5	Erythrozyten-Phospholipide	88
4.6	Vitamine	90
4.7	Carnitin	91
4.8	Konversion von $^{13}\text{C}18:2\text{n-6}$ und $^{13}\text{C}18:3\text{n-3}$ zu langkettigen hochungesättigten Fettsäuren	93
4.8.1	Beurteilung von Studiendesign und Methodik	93
4.8.1.1	In vivo Untersuchungen mit stabilen Isotopen	93
4.8.1.2	Studiendesign der Tracerstudie	93
4.8.2	Interpretation und Beurteilung der Ergebnisse der Tracerstudie	94
4.8.2.1	Vergleich der Anreicherungen in den n-3 und n-6 Fettsäuren	94
4.8.2.2	Vergleich von Atom Percent Excess und Tracerkonzentrationen	95
4.8.2.3	Quotienten der APE-Werte	95
4.8.2.4	Quotienten der Tracerkonzentrationen	96
5	ZUSAMMENFASSUNG	97
6	Literatur	100
7	ANHANG	121

Verzeichnis verwendeter Abkürzungen

Kurzform	Bedeutung
AA	Arachidonsäure
AC	Summe aller gemessenen Acylcarnitine
AC/CO	Quotient der Summe der AC zu freiem Carnitin
AGA	appropriate for gestational age (10. - 90. Perzentile)
ÄM	Äußere Mitochondrien-Membran
APGAR-Schema	Punkteschema für die Zustandsdiagnostik mit den Beurteilungskriterien: <u>A</u> tmung, <u>P</u> uls, <u>G</u> rundtonus, <u>A</u> ussehen, <u>R</u> eflexe
BHT	2,6 Di-tertiär-butyl-p-kresol
C18-PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäure (polyunsaturated fatty acid) mit 18 C-Atomen
CO	Freies Carnitin
CPT	Carnitin-Acyl-Transferase
CRP	C-reaktives Protein
DHA	Docosahexaensäure
EPA	Eicosapentaensäure
Ery	Erythrozyten
GGT	γ -Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
IM	Innere Mitochondrien-Membran
IntM	Intermembranraum
IRDS	infant respiratory distress syndrome; Atemnotsyndrom des Neugeborenen
KG	Körpergewicht
LCP	langkettige hochungesättigte Fettsäure (long chain polyunsaturated fatty acid)
LGA	large for gestational age (> 90. Perzentile)
m/w	männlich/weiblich
ME	Methylester

Kurzform	Bedeutung
MUFA	einfach ungesättigte Fettsäure (<u>m</u> onoun <u>s</u> aturated <u>f</u> atty <u>a</u> cid)
MW	Mittelwert
n.d.	nicht detektiert
n-3 LCP	langkettige hochungesättigte Fettsäure der n-3 Reihe
n-6 LCP	langkettige hochungesättigte Fettsäure der n-6 Reihe
OCTN2	Natrium-abhängiger Carnitin-Transporter
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PL	Phospholipid
PM	Plasma-Membran
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäure (<u>p</u> oly <u>u</u> n <u>s</u> aturated <u>f</u> atty <u>a</u> cid)
SA	Standardabweichung
SFA	gesättigte Fettsäure (<u>s</u> aturated <u>f</u> atty <u>a</u> cid)
SGA	small for gestational age (<10. Perzentile)
T	Carnitin-/Acyl-Carnitin-Translokase
TBME	tertiär-Butyl-methylester
trans-FA	trans-Fettsäure
Wo.	Woche
Z-Score	Anzahl von Standardabweichungen, um die der Wert von der 50. Perzentile abweicht
<u>Tracerstudie</u>	
¹³ C18:2n-6	uniform ¹³ C-markierte C18:2n-6 („Tracer“)
¹³ C18:3n-3	uniform ¹³ C-markierte C18:3n-3 („Tracer“)
Tracerkonzentration _{FS}	μMol Tracer- ¹³ C _{FS} /l Plasma (μMol von aus dem Tracer stammender ¹³ C in der Fettsäure pro Liter Plasma)
¹³ C20:4n-6/ ¹³ C18:2n-6	Quotient aus den Tracerkonzentrationen in C20:4n-6 und C18:2n-6

1 EINLEITUNG

Fortschritte in der neonatologischen Intensivmedizin konnten in den letzten Jahrzehnten eine immer besser werdende Versorgung von Frühgeborenen gewährleisten. Kinder mit geringem Geburtsgewicht (low birth weight infants) weisen im Gegensatz zu Reifgeborenen einen erhöhten Bedarf an bestimmten Nährstoffen auf, wie beispielsweise einigen Fettsäuren. Diesen besonderen Anforderungen an die Nährstoffversorgung gilt es, gerecht zu werden. Oft stellt bei Frühgeborenen am Anfang die parenterale Ernährung eine gut wirksame und lebensrettende Maßnahme dar (84). Hauptanliegen bei der parenteralen Ernährung von Frühgeborenen ist die postnatale Rekonstruktion der fötalen Entwicklung (in Bezug auf Wachstum und Stoffwechsel), die sich sonst bis zur termingerechten Geburt fortgesetzt hätte (83). Gerade die frühkindliche Differenzierung des Nervensystems hängt bei Frühgeborenen von einer optimalen Zufuhr der LCP ab (56).

Intravenöse Fettemulsionen. Bei der parenteralen Ernährung mit intravenösen Lipidemulsionen wird unter Umgehung des Magen-Darm-Trakts einer Fettsäuremischung direkter Zugang über eine Vene gegeben. Diese Form der parenteralen Ernährung ist weit verbreitet und bietet gegenüber alleiniger Energiezufuhr durch Glucose-Lösungen entscheidende Vorteile (23;52;171;172). Fettemulsionen weisen eine wesentlich höhere Energiedichte auf als Glucoselösungen und können daher in vergleichsweise geringen Volumina mit isotoner Lösung infundiert werden. Neben der geringeren Osmolarität, verhindert Energie aus Fett bei parenteraler Ernährung eine übermäßige Insulinsekretion, reduziert die Kohlendioxidproduktion und kann einer Leberverfettung vorbeugen. Zudem wird durch die Zufuhr intravenöser Lipidemulsionen die Stickstoffbilanz verbessert (22;130;141;151;156). Gleichzeitig sorgen intravenöse LCT-Emulsionen für eine sichere Versorgung an essentiellen Fettsäuren (4;78;79). Durch Lipidemulsionen können die Phospholipidmuster in Lipoproteinen und Zellmembranen verändert, der Lipoprotein-Stoffwechsel, sowie die Aktivität mancher Enzyme beeinflusst werden. Hohe Plasmatriglycerid-Konzentrationen und niedrige HDL-Cholesterol-Spiegel können mögliche Komplikationen beim Einsatz intravenöser Lipidemulsionen darstellen.

Zwei verschiedene Arten Lipidemulsionen haben sich in der Praxis etabliert. Herkömmliche Fettemulsionen werden aus Sojaöl hergestellt. Diese enthalten ausschließlich langkettige Triglyceride (LCTs), die etwa 62% mehrfach ungesättigte

Fettsäuren (PUFAs) enthalten. Seit 1984 wird in Europa eine Emulsion mit einem Gemisch zu gleichen Teilen aus mittelkettigen Triglyceriden (MCT) und langkettigen Triglyceriden (LCT) vertrieben (35).

Parenteral werden die Lipide als Partikel zugeführt, die Lipoproteinen mit sehr niedriger Dichte ähneln. Diese infundierten Partikel enthalten, ähnlich wie die Chylomikronen, einen Kern, der fast ausschließlich aus Triglyceriden besteht (neben den Vitaminen E und K, sowie Sterol-Estern). Ihr Durchmesser beträgt durchschnittlich zwischen 200 und 350 nm (35). Der Kern ist von einer amphiphilen Phospholipidschicht umgeben (190). Es gibt jedoch eindeutige Unterschiede zwischen den infundierten Partikeln und den endogenen Chylomikronen (34). Im Gegensatz zu Chylomikronen enthalten die infundierten, triglyceridreichen Partikel praktisch keine Cholesterylester in ihrem Kern, lediglich geringe Mengen an freiem Cholesterol (und anderen pflanzlichen Sterolen) und auch keine Apoproteine an der Oberfläche.

Die weiteren Stoffwechselwege der Liposome gleichen denen der Chylomikronen. Sehr rasch nach der Infusion übernehmen die Liposome Apo C's, Apo E und auch Apo-AIV von HDL (164). Apo C-II und Apo C-III aktivieren die Lipoproteinlipase, die die Triglyceride hydrolysiert.

Lipidinfusionen mit einem höheren Energiezustrom als 1 kcal/kg/h übersteigen bei Säuglingen regelmäßig die Hydrolysekapazität durch Lipoproteinlipase (138). Dadurch kommt es zu einer Akkumulation triglyceridreicher Partikel, die die pulmonale Diffusion und die Leukozytenfunktion beeinträchtigen können. Wenn die infundierten Lipide nicht vollständig durch die Lipoproteinlipase hydrolysiert werden können, wird das reticuloendotheliale System aktiviert, so daß die reticuloendothelialen Zellen im ganzen Körper mit Lipiden beladen werden. Da mittelkettige Triglyceride schneller hydrolysiert werden, ist ihre Verwendung mit einer verminderten Inzidenz von Hypertriglyceridämie und einem geringeren Risiko abnormer Fettablagerungen (besonders in den Lungen) verbunden (189).

Carnitin

Langkettige Fettsäuren aus der Spaltung von Triglyceriden werden nach dem Durchtritt durch die Plasmamembran zu Acyl-CoA-Estern aktiviert (s.Abb.1-1). Der weitere Transport aus dem Cytoplasma in die Mitochondrien geschieht bei den längerkettigen Fettsäuren mit Hilfe des Carnitin-Shuttles. In der Mitochondrienmatrix findet die β -Oxidation statt. FADH₂ und NADH, die Endprodukte hieraus, wer-

den in der Atmungskette oxidiert, während Acetyl-CoA in den Citrat-Zyklus eingeschleust wird (121).

Die Coenzym-A-Ester langkettiger Fettsäuren können nicht als solche durch die innere Mitochondrienmembran in den Matrixraum gelangen, wo alle Enzyme des Fettsäureabbaus lokalisiert sind. Erster Schritt ist hierbei die Umveresterung dieser Fettsäure durch die Carnitin-Acyl-Transferase I (CPT I), die an der Außenseite der inneren Membran gebunden ist. Dabei wird die Acylgruppe von der OH-Gruppe des Carnitins unter Bildung eines Acylcarnitins übernommen und das Coenzym-A freigesetzt. Mit Hilfe einer Carnitin/Acyl-Carnitin-Translokase wird das Acyl-Carnitin über die Innenmembran transportiert. Ein Natrium-abhängiger Carnitin-Transporter in der Plasmamembran (OCTN2) stellt freies Carnitin für diesen Prozeß zur Verfügung. Dort katalysiert die Carnitin-Acyl-Transferase II (CPT II) die Reveresterung der Fettsäuren mit Coenzym A, welches an der Innenseite der inneren Membran lokalisiert ist. Dieser Transport sorgt gleichzeitig für die Trennung des cytosolischen und mitochondrialen Coenzym-A-Pools (75;161).

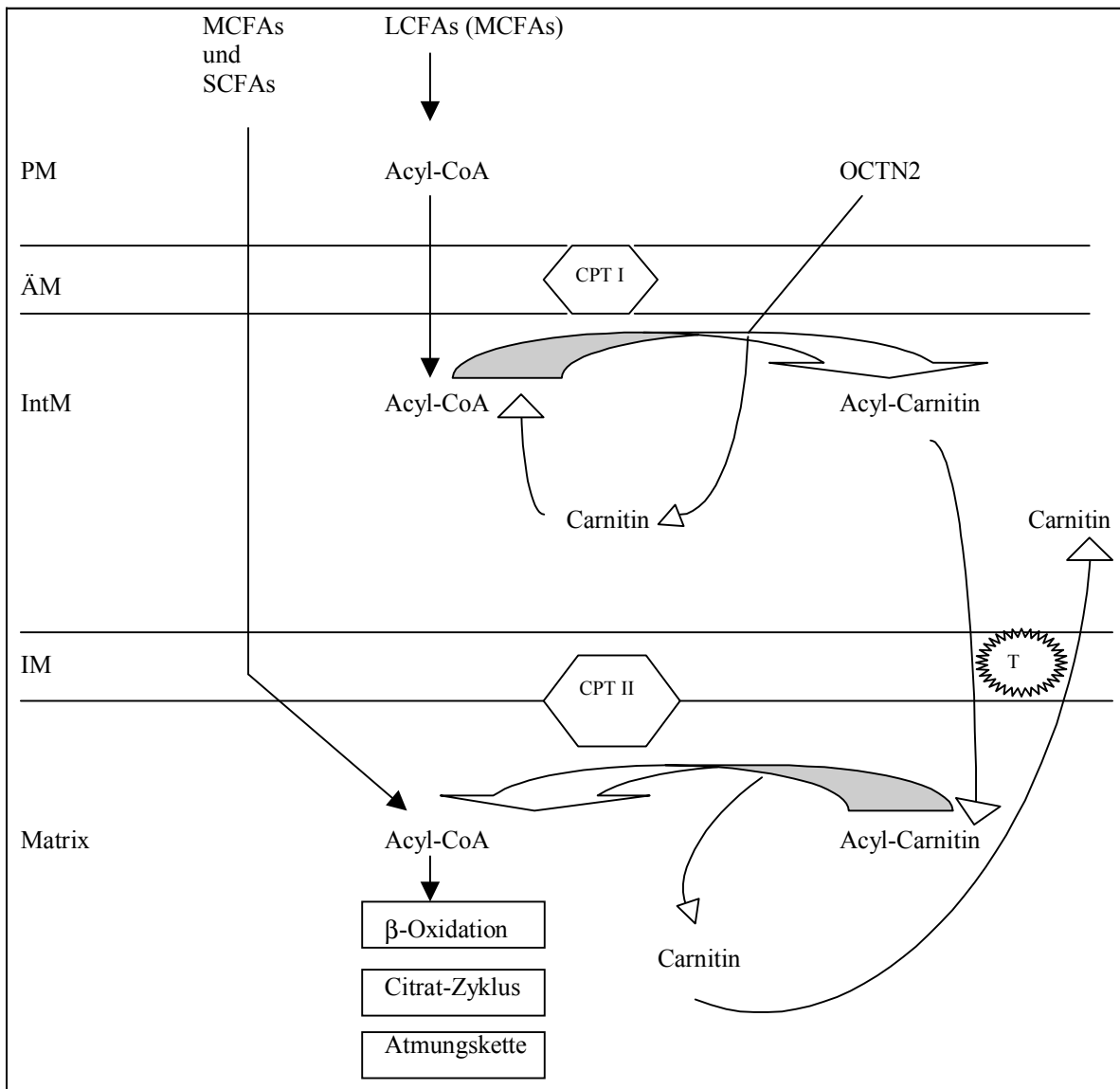


Abb. 1-1. Fettsäure-Transport in den Matrixraum der Mitochondrien. PM Plasmamembran; ÄM Äußere Mitochondrien-Membran; IntM Intermembran-Raum; IM Innere Mitochondrien-Membran; CPT Carnitin-Acyl-Transferase; T Carnitin-/Acyl-Carnitin-Translokase; OCTN2 Natrium-abhängiger Carnitin-Transporter [modifiziert nach (24;161)].

MCFAs können, anders als die langkettigen Fettsäuren, unabhängig von einer Veresterung mit Carnitin und ohne Beteiligung des Acylcarnitin-/Carnitin-Antiporters die innere Mitochondrienmembran der Leber durchdringen. Sie werden zu Coenzym-A-Estern im mitochondrialen Matrixraum aktiviert. Damit stellen mittelkettige Fettsäuren eine sehr schnell oxidierbare Substanz dar, da sie weitgehend Carnitin-unabhängig durch einfache Diffusion in die Mitochondrien gelangen können (14;200;210).

MCFAs können aber auch außerhalb der Mitochondrien aktiviert werden – der Übertritt in den Matrixraum wird dann jedoch abhängig vom Carnitin-Transport. Otto beobachtete in vitro, daß die Verteilung der beiden Stoffwechselwege vom Verhältnis ATP zu ADP in der Leber abhängt (149).

Bei den LCTs ist die Oxidation einmal durch den Transport aus dem Plasma und zum anderen durch den Eintritt in die Mitochondrien als Carnitinester begrenzt.

Studien mit Erwachsenen belegen, daß mittelkettige Triglyceride während simultaner Verabreichung mit langkettigen Triglyceriden im Rahmen einer parenteralen Ernährung eine höhere Oxidationsrate ausweisen (5;36;37;108). Bei den herkömmlichen MCT/LCT (1:1)-Mischemulsionen zeigte sich im Vergleich zu reinen LCT-Emulsionen nur eine geringfügig stärkere Stimulation des Energiehaushaltes, die klinisch ohne Relevanz blieb (4). Untersuchungen haben ergeben, daß bei gleichzeitiger Verabreichung mittel- und langkettiger Triglyceride in einer Mischemulsion die Oxidationsrate mittelkettiger Triglyceride deutlich höher als die der langkettigen Triglyceride ist (4). Die bevorzugte Oxidation der MCTs trägt dazu bei, essentielle Fettsäuren für ihre Funktion als Strukturlipide oder Präkursoren für Eicosanoide zu bewahren.

Mittelkettige Fettsäuren werden nach oder auch vor dem Durchtritt durch die Mitochondrienmembran zu CoA-Estern aktiviert. Durch die β -Oxidation dieser Fettsäuren in den Mitochondrien wird rasch eine große Menge an Acetyl-CoA erzeugt. Die Menge an freiem Coenzym A stellt den limitierenden Faktor für die Aktivierung und somit auch für die β -Oxidation und dem Citrat-Zyklus dar. Sinkt die Verfügbarkeit von freiem Coenzym A, nimmt gleichzeitig die Nutzbarmachung der MCFAs in den Mitochondrien ab. Folglich wächst der extramitochondriale Pool dieser Fettsäuren und gleichzeitig auch die Rate der ω -Oxidation. Wie Rebouche und Mitarbeiter bereits berichteten, könnte Carnitin zur Umesterung der kurzkettigen Acyl-Moleküle beitragen, katalysiert durch die Carnitin-Acyltransferase (160). Dadurch würde die Verfügbarkeit von freiem Coenzym A wieder steigen. Folglich würde die Umesterung der Acetyl-Gruppen mit Carnitin die Effizienz der β -Oxidation erhöhen und die Rate der ω -Oxidation senken

Bedeutung der LCP in der Perinatalzeit.

Prenatal. Intrauterin wird der Foetus mit LCP über die Placenta versorgt. Hierbei handelt es sich um einen selektiven materno-fetalen Transfer. Es wird angenommen, daß der Foetus ausreichend versorgt wird und nicht auf eine Eigensynthese angewiesen ist (112).

In der späten prenatalen und frühen postnatalen Wachstumsphase der Organe kommt es zu einer bevorzugten Einlagerung von DHA in das Gehirn, aber auch in die Retina (6). Im letzten Trimenon der Schwangerschaft ist die Anreicherung von AA und DHA im Gehirn um 50- 80fach höher als die ihrer Vorläuferfettsäuren LA und ALA (46). Auch in Rückenmark, Leber und Retina werden bevorzugt Arachidonsäure (AA, C20:4n-6) und Docosahexaensäure (DHA, C22:6n-3) eingelagert (46-48;68). In der Retina macht der Anteil von DHA etwa 30% aus. DHA ist für die neurovisuelle Entwicklung von besonderer Bedeutung (131;132;199). Im foetalen Gehirn steht quantitativ AA an erster Stelle, wobei die Anreicherung ab der 33. Gestationswoche bis zur Geburt linear zunimmt (105). AA hat wachstumsfördernde Funktion, ist wichtiges Strukturelement in Membranen und stellt einen Vorläufer von Eicosanoiden dar (28;114;198;198).

Postnatal. Zum Zeitpunkt der Geburt stehen bei Frühgeborenen die AA-Gehalte in direktem Bezug zum Geburtsgewicht, wohingegen die DHA-Gehalte mit dem Gestationsalter korrelieren (114;124). Frühgeborene besitzen im Vergleich zu Reifgeborenen weitaus geringere Fettdepots und damit auch geringere Körperreserven an essentiellen Fettsäuren (47). Zugleich weisen sie wegen des raschen Körperwachstums einen hohen Bedarf auf (105). Für die Ausbildung eines Mangels sind frühgeborenen Kinder besonders gefährdet (10;71), berichtet wurde von Mangelerscheinungen schon innerhalb der ersten Woche bei parenteraler Ernährung (72;113). Eine unzureichende Versorgung mit LCP in der postnatalen Entwicklungsperiode kann sich negativ auf die funktionelle Entwicklung des Gehirns und der Sehfunktion auswirken (197), bis hin zu bleibenden Schäden (105).

Die Fettsäurezusammensetzung intravenöser Lipidemulsionen weicht von der normalen Ernährung mit Muttermilch deutlich ab. Muttermilch enthält 1-2 % LCP der n-3 und n-6 Reihe (105). Im Rahmen einer parenteralen Ernährung bei Frühgeborenen werden essentielle Fettsäuren in Form von LA und ALA zugeführt. Aus den Vorläufer-Fettsäuren LA und ALA können endogen durch Desaturation und Elongation AA und DHA synthetisiert werden (s. Abb. 1-2).

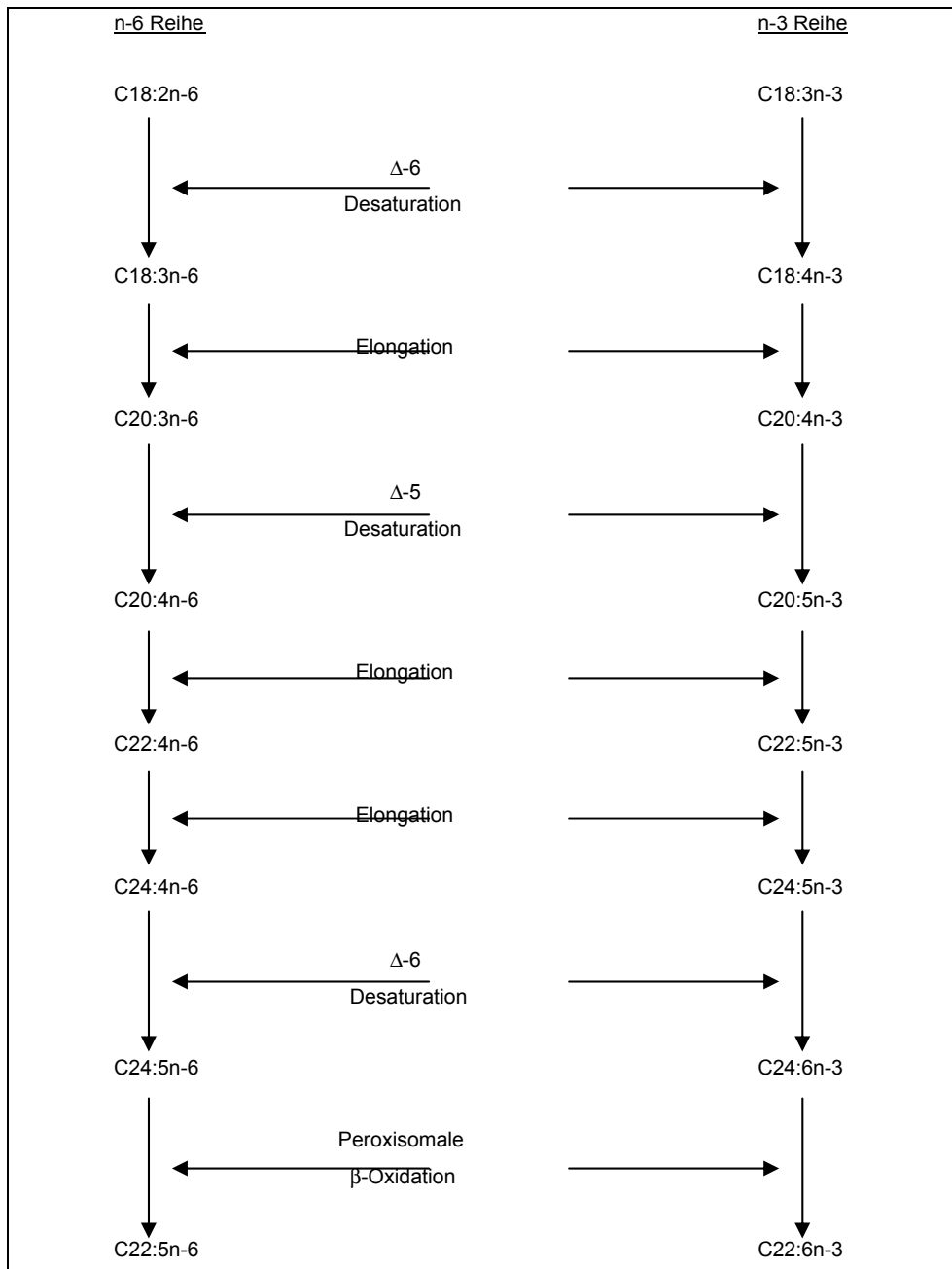


Abb.1-2. Endogene Synthese der langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LCP) der n-6 und n-3 Reihe aus den Vorläuferfettsäure Linolsäure (C18:2n-6) und α -Linolensäure (C18:3n-3) (174)

Über die Δ -6-Desaturase entsteht aus LA die γ -Linolensäure (C18:3n-6), die dann zur Dihomo- γ -Linolensäure (C20:3n-6) elongiert wird. Daraus kann über die Δ -5-Desaturase Arachidonsäure gebildet werden. Entsprechend gibt es einen Syntheseweg auf der n-3 Reihe. Aus ALA wird Eicosapentaensäure (C20:5n-3) gebildet, die dann weiter zu Docosahexaensäure (C22:6n-3) umgewandelt werden kann. Studien haben ergeben, daß die C22-Fettsäuren nicht wie ursprünglich ange-

nommen über Δ -4-Desaturase entstehen. Sie werden durch Elongation und Desaturation zu C24:5n-6 bzw. C24:6n-3 und anschließender peroxisomaler β -Oxidation gebildet (175;203). In vitro Studien haben gezeigt, daß Früh- und Reifgeborenen über die erforderliche Enzymkapazität dieser Konversionsschritte verfügen (43;157). Zahlreiche in vivo Untersuchungen bestätigten dies, doch wird vermutet, daß die endogene Synthese von LCP den hohen Bedarf von Frühgeborenen während der ersten Lebensmonate nicht decken kann (33;61;173;175;177).

Fragestellung der vorliegenden Arbeit. Lipofundin[®] N 20% stellt eine in der Pädiatrie herkömmlich eingesetzte Fettemulsion bei parenteraler Ernährung dar. Der Anteil der essentiellen Fettsäuren LA und ALA macht 50 bzw. 7% aus (s. Tab. 2-1). Die Zufuhr dieser Fettsäuren liegt somit weit über dem Bedarf von Frühgeborenen (66). Diskutiert werden in diesem Zusammenhang immer wieder unerwünschte Nebenwirkungen einer zu hohen Zufuhr an LA und ALA. In zahlreichen Studien wurde von dem Mechanismus der kompetitiven Hemmung der Δ -5-Desaturase berichtet (16;104;105;123;134;168). Ein weiterer Nachteil einer zu hohen LA und ALA-Zufuhr stellt das erhöhte Risiko von Lipidperoxidation dar, wie nach Verabreichung von Sojaöl-Emulsionen berichtet wurde (155;196;201;207;208). Zudem konkurrieren LA und AA beide um den Einbau in VLDL-Phospholipide und -Cholesterinester, so daß eine zu hohe LA-Zufuhr möglicherweise mit einem reduziertem Einbau an AA verbunden ist (120).

MCT/LCT-Mischungen werden bei Erwachsenen seit einigen Jahren bereits erfolgreich eingesetzt (55;109). Vorteile dieser Emulsionen sind eine schnelle Entfernung der MCTs aus der Blutbahn, Stickstoffeinsparung, sowie Vermeidung einer möglichen Glucoseintoleranz (13;55). MCFA und LCFA unterscheiden sich im Stoffwechsel grundsätzlich in einigen Punkten (12;13;55;109;128). MCFAs werden in einem geringeren Ausmaß im Blut an Albumin gebunden, gelangen unabhängig vom Transportprotein in die Zelle, können weitgehend unabhängig vom Carnitin-Acyl-Transferase-System durch die innere Mitochondrienmembran in den Matrixraum gelangen und werden nicht im Fettgewebe gespeichert. In Studien mit erwachsenen Patienten wurde gezeigt, daß nach Verabreichung einer MCT/LCT-Fettemulsion (Mischverhältnis 1/1) etwa 32 % der MCTs, hingegen lediglich 11 % der LCTs oxidiert wurden. Bei einer reinen LCT-Fettemulsion wurden 16 % LCTs zu CO₂ umgesetzt (3;5). Diese Untersuchungsergebnisse lassen darauf schließen, daß bei Verabreichung von MCT/LCT-Fettemulsionen eine schnelle Energiever-

sorgung über die MCTs ermöglicht wird, gleichzeitig die LCTs als Energiequelle eingespart werden. Diese, speziell die essentiellen Fettsäuren, können für Einbau in Membranstrukturen oder Eicosanoidsynthese genutzt werden. Die hier getestete MCT/LCT-Fettemulsion, Lipofundin® MCT, enthält etwa zu 50 % mittelkettige Fettsäuren. Der Anteil der essentiellen Fettsäuren ist im Vergleich zu LCT-Emulsion um die Hälfte reduziert (s. Tab. 2-1).

Im Rahmen einer vollständig parenteralen Ernährung über 8 Tage wurde die klinische Wirksamkeit einer 20 %-igen MCT/LCT Fettemulsion im Vergleich zu einer herkömmlichen LCT-Emulsion bei Frühgeborenen erfasst. Als Parameter für die Auswirkung der zugeführten Emulsionen auf den Fettsäure-Status wurden die Zusammensetzung der Plasma-Triglyceride und -Phospholipide, sowie Erythrozyten-Phospholipidfraktionen zu Beginn der Studie erfasst. Nach einwöchiger Applikation wurden mögliche Veränderungen der Fettsäuremuster festgestellt. Durch den Einsatz stabiler Isotop-markierter Fettsäuren konnten neue Erkenntnisse hinsichtlich des Fettsäuremetabolismus (Konversion von uniform ¹³C-markierter Linolsäure und α -Linolensäure zu LCP) bei parenteral ernährten Frühgeborenen gewonnen werden. Zudem war die Messung von Carnitin und verschiedenen Acylcarnitinen ein wichtiger Aspekt. Wie oben bereits berichtet gibt es bei den mittelkettigen Fettsäuren ebenfalls den Weg des Carnitin-vermittelten Transportes in die Mitochondrien-Matrix gibt. Da in der Vergangenheit immer wieder diskutiert wurde, inwieweit bei Säuglingen die Kapazität zur Carnitinsynthese ausreichend ist (21;94), sollten mögliche Veränderungen bzgl. der Carnitin-Konzentrationen beider Gruppen überprüft werden.

2 STUDIENTEILNEHMER UND METHODEN

2.1 Studienteilnehmer

Rekrutiert wurden die Studienteilnehmer in der Kinderklinik der Universität Pécs (Department of Paediatrics, University Medical School of Pécs, Hungary). Einschlusskriterien waren ein Geburtsgewicht von unter 3000 g und ein Gestationsalter zwischen 25 und 37 Wochen. Es konnten sowohl Jungen als auch Mädchen rekrutiert werden. Bei den Kindern musste eine Indikation zur vollständigen parenteralen Ernährung über einen Zeitraum von mindestens 8 aufeinanderfolgenden Tagen bestehen. Die intravenöse Fettzufuhr mit den Studienpräparaten sollte spätestens 48 Stunden nach der Geburt begonnen haben. Bereits in der Vorstudienphase wurde die schriftliche Einverständniserklärung mindestens eines Elternteils nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung eingeholt.

Ausschlusskriterien waren:

- ❖ Gleichzeitige Teilnahme an einer anderen klinischen Prüfung
- ❖ Zusätzliche enterale Ernährung mit einem Anteil von mehr als 20 % der Gesamtkalorienzufuhr pro Studientag
- ❖ Bekannte Unverträglichkeiten/Überempfindlichkeiten von/gegen einen Bestandteil der geplanten vollständigen parenteralen Ernährung
- ❖ Gravierende metabolische Störung (z.B. angeborene Stoffwechselerkrankung, starke Hyperbilirubinämie)
- ❖ Kreislaufinstabilität, Schockzustand oder sonstiger kritischer lebensbedrohlicher Zustand
- ❖ Bluttransfusion während der Studie
- ❖ Kontraindikation für eine intravenöse Fettgabe
- ❖ Zufuhr einer Lipidemulsion vor Studienbeginn

2.2 Studiendesign

Ernährung der Frühgeborenen während der Studienphase

Die Prüfpräparate wurden in verblindeter Form verabreicht. Die Applikation erfolgte im Rahmen der vollständigen parenteralen Ernährung zusammen mit einer Komplettlösung, die aus Aminosäuren, Glucose (10%) und Elektrolyten (Natrium-

chlorid, Kaliumchlorid, Calciumglukonat), sowie Spurenelementen (Ped-el) und wasserlöslichen Vitaminen (Soluvit) bestand. Fettlösliche Vitamine (Vitalipid) wurden zusammen mit den Prüfpräparaten verabreicht.

Die parenterale Lipidzufuhr wurde von 0,21 ml/kg/h (Studientag 1) auf 1,25 ml/kg/h bis zum Studientag 4 gesteigert. Dies entspricht 42 mg/kg/h Fett (Tag1) bzw. 250 mg/kg/h Fett (Tag 4) bei einer Infusionsdauer von 12 Stunden/Tag. Die Tagesdosis der 20 %-igen Fettemulsion betrug 2,5 ml (Tag 1) und wurde auf 15 ml (ab Tag 4) gesteigert. Die Infusion erfolgte über mind. 12 Stunden und am achten Tag über mind. 18 Stunden.

Prüf- und Vergleichspräparat wurden intravenös über einen zentralen Venenkatheter appliziert. An der Kathetereintrittsstelle befand sich ein Y-Stück, über das parallel die Fettemulsion und die Aminosäuren-/Glucoselösung infundiert wurde.

Die Anwendungsdauer betrug 8 Tage. Darüber hinaus wurde die Anwendung bis Studientag 14 beobachtet und Hinweise auf Verträglichkeit protokolliert.

Der exakte Studienablauf ist der Abbildung 2-1 zu entnehmen.

2.2.1.1 Zusammensetzung der Studienprodukte

Tabelle 2-1 zeigt Herstellerangaben der eingesetzten Präparate. Beide Fettemulsionen enthalten pro 100 ml jeweils 20 g Triglyceride, die mit 1,2 g Ei-Phospholipiden emulgiert sind.

Tab. 2-1. Zusammensetzung der intravenösen Fettemulsionen pro 100 ml (Angaben der B.Braun Melsungen AG)

	Lipofundin®N 20%	Lipofundin®MCT 20%
Fettquelle	Sojaöl (100%)	Sojaöl (50%) Kokosöl (50%)
SFA (Gew.%):		
C6:0	-	<1
C8:0	-	27
C10:0	-	21
C12:0	-	1,5
C16:0	12	5
C18:0	4,5	2
MUFA (Gew.%):		
C18:1n-9	24	12
PUFA (Gew.%):		
C18:2n-6	50	27
C18:3n-3	7	4
Andere FA (Gew.%)	2,5	-
Emulgator (g/l)	12	12
Glycerin (g/l)	25	25
Phosphat (mmol/l)	13	13
α-Tocopherol (mg/l)	227	208

2.2.1.2 Randomisierung

Die Randomisierung erfolgte von einer an der Studie nicht unmittelbar beteiligten Person (Mitarbeiter der B.Braun Melsungen AG) per EDV. Diese wurde in verschlüsselter Form an den Leiter der klinischen Prüfung weitergegeben (verschlossene, fortlaufend nummerierte Briefumschläge). Es erfolgte eine blockweise Randomisierung.

2.2.1.3 Kodierung und Dekodierung

Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten, erhielten entsprechend der Reihenfolge ihrer Aufnahme eine fortlaufende Nummer. Aufgrund dieser Kennziffer (dem entsprechenden verschlossenen Briefumschlag) wurden die Patienten entweder der Behandlung A oder B zugeteilt.

Für den Fall, daß eine Verblindung offengelegt werden mußte, wurde die Zuordnung des jeweils verwendeten Präparates in durchnummerierten, verschlossenen Kuverts beim Leiter der klinischen Prüfung aufbewahrt. Auf diese Weise war es möglich, den Code für einen einzelnen Patienten zu brechen, ohne die gesamte Verblindung offenzulegen.

Die Dekodierung erfolgte nach abgeschlossener Dateneingabe und Datenvalidierung mit der beim Sponsor verbliebenen Randomliste.

2.2.1.4 Produktion, Verpackung und Lagerung der Präparate

Die Prüfpräparate wurden von der Firma B.Braun Melsungen AG, Deutschland, produziert. Die Emulsionen waren in Infusionsflaschen zu 100 ml abgefüllt und bei Temperaturen unter 25°C frostfrei gelagert. Sie wurden getrennt von anderen Arzneimitteln unter Verschluss aufbewahrt. Eine Entnahme erfolgte jeweils durch den Prüfarzt. Erhalt, Abgabe und Verbrauch der Prüfmuster wurden für jeden Patienten mit Datum in separaten Formularen dokumentiert.

Mit Ausnahme der zur Analyse vorgesehenen Rückstellmuster, wurden die nicht verbrauchten Prüfmuster, sowie angebrochene Packungen, nach Abschluß der gesamten Studie an den Sponsor zurückgegeben. Auf diese Weise sollte eine Verwendung außerhalb der klinischen Prüfung ausgeschlossen werden. Ausnahmen bildeten die zur Analyse verwandten Rückstellmuster.

2.2.2 Dokumentation der Ernährungsbehandlung der Kinder

Die Ernährungsbehandlung jedes Kindes wurde von Geburt bis Beendigung der Studie, maximal bis Lebenstag 14, im Prüfbogen dokumentiert. Hierbei wurde die intravenöse Zufuhr (Glukose, Aminosäuren, Fette und parenterale Gesamtkalorien), die orale/enterale Zufuhr (Glukose, Muttermilch, Formelmilch, orale/enterale Gesamtkalorien), Gesamtflüssigkeit, Gesamtkalorien und der Anteil der oralen/enteralen Ernährung an der Gesamtkalorienzufuhr erfaßt.

2.2.3 Dokumentation der klinischen Daten des Kindes

Es war vorgesehen, sämtliche Verträglichkeits- und Sicherheitsparameter bei jedem Kind von Geburt an täglich zu erfassen und im Prüfbogen zu dokumentieren. Hierzu zählte der klinische Verlauf (Puls, Blutdruck, Atemfrequenz, O₂-Sättigung, O₂-Bedarf, Temperatur, Gewicht, Infektion, rezidivierende Bradykardien, rezidivierende Apnoen, Persistierender Ductus arteriosus, Hypoglykämien, Hyperglykämien und Konvulsionen), die Labor-Diagnostik (CO₂-Partialdruck, Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, Blutzucker, Blutbild, CRP, Kreatinin, GOT, GPT, GGT, alkal. Phosphatase, Bilirubin gesamt und Bilirubin konjugiert) und die exakte Erfassung einer medikamentösen Behandlung (Bezeichnung des Medikaments, Tagesdosis, Applikationsweg und Dauer der Applikation). Darüber hinaus wurden hier das Erfüllen der Einschlusskriterien (s. 2.1), sowie die Ergebnisse der Geburtsanamnese (Gestationsalter; anthropometrische Daten des Kindes; Komplikationen vor, wäh-

rend, nach der Geburt; APGAR-Werte) und der Eingangsuntersuchung (postnatales Alter; anthropometrische Daten des Kindes; Diagnosen; Randomisierung) festgehalten. Um die Wirksamkeit der Prüfpräparate gezielt messen zu können, wurden Parameter der Labor-Diagnostik vor Beginn der Lipidinfusion (Lebenstag 3, Studientag 1), vor Tracergabe (Lebenstag 9, Studientag 7) und 6 Stunden nach Ende der Lipidinfusion (24 Stunden nach Tracergabe, Lebenstag 10, Studientag 8) überprüft. Hier wurden Plasmalipidkonzentrationen (Cholesterin, Triglyceride, Phospholipide, freie Fettsäure), β -Hydroxybutyrat, Blutzucker, Carnitin (frei und verestert), Tocopherol und Fettsäuren sowie ^{13}C -Anreicherungen gemessen.

2.2.4 Probenentnahmen und Untersuchungen im Studienverlauf

2.2.4.1 Anthropometrische Messungen

Das Gewicht der Kinder wurde während der Studie täglich durch Wägung mit 1g Genauigkeit erfaßt und dokumentiert. Länge und Kopfumfang wurden im Rahmen der Geburtsanamnese und der Eingangsuntersuchung gemessen.

Die Absolutwerte der anthropometrischen Messungen sind zunächst wegen der unterschiedlichen Gestationsalter der Kinder und des verschiedenen Geschlechts nicht vergleichbar. Aus diesem Grund wurden diese Absolutwerte in sog. „Standard Deviation Scores“ (Z-Scores) umgerechnet. Z-Scores sind definiert als Anzahl an Standardabweichungen, die der gemessene Wert eines Kindes vom Mittelwert einer Referenzpopulation abweicht (95), d.h.:

$$\text{Z-Score} = (\text{gemessener Wert} - \text{Mittelwert der Ref.}) / \text{Standardabweichung} \quad (2-1)$$

Für die Berechnungen der Z-Scores wurden Daten von longitudinalen Studien über Wachstum und Entwicklung von Frühgeborenen mit normaler intrauteriner Entwicklung verwendet.

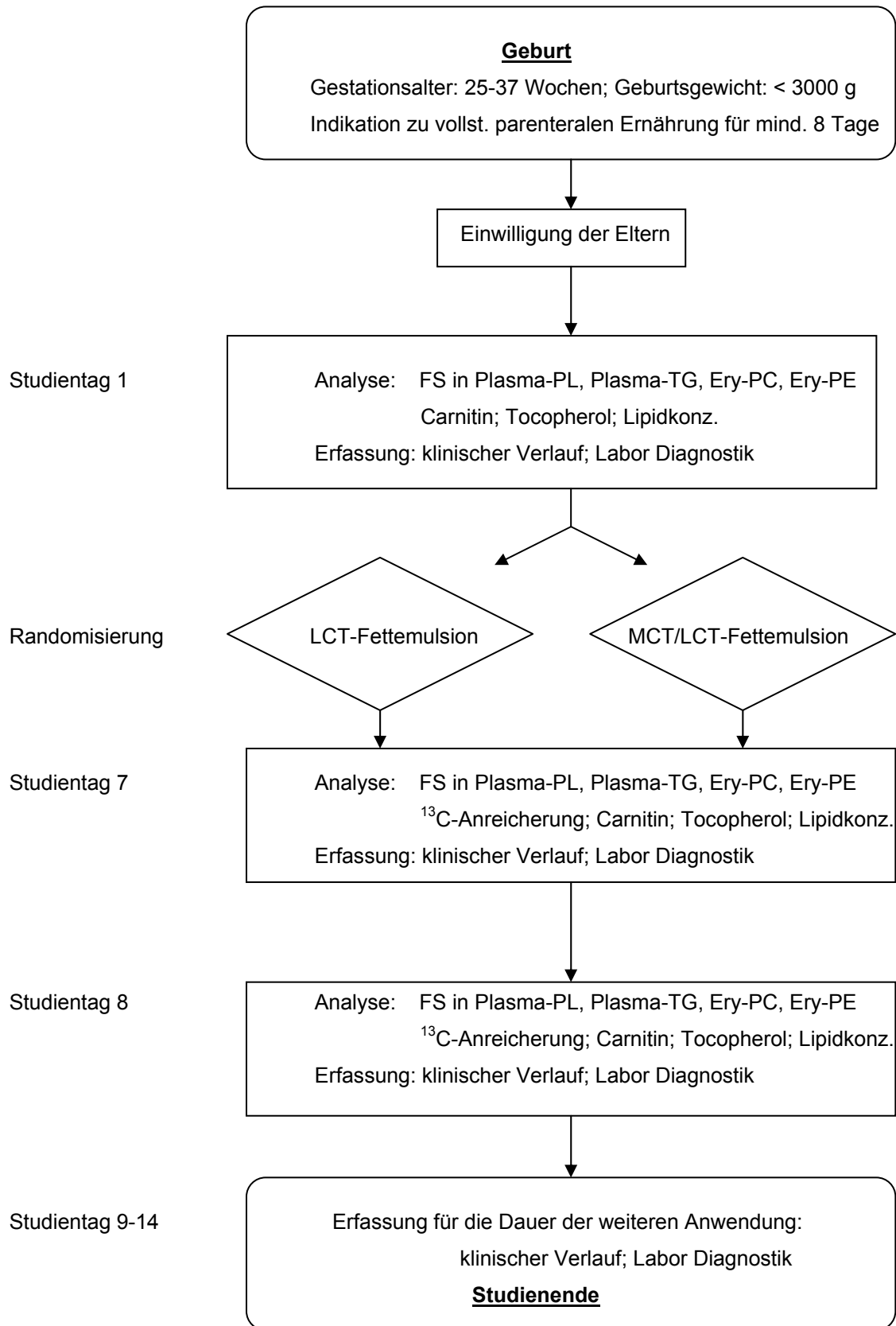


Abb.2-1. Fließschema des Studienablaufs

2.2.4.2 Probenentnahmen

Eine Blutentnahme erfolgte täglich für die Labordiagnostik (routineübliche Parameter). An den Studientagen 1, 7 und 8 wurden größere Volumina an Blut (zusätzlich Tag 1: 2,5 ml; Tag 7: 1 ml und Tag 8: 2,5 ml) für die zusätzlichen Untersuchungen und Analysen (Fettsäuremuster in Plasma und Erythrozyten, Vitamine, Carnitin, ^{13}C -Anreicherungen) gewonnen (s. Studienablauf Abb.2-1).

Die Abnahme erfolgte venös und wurde in EDTA-beschichtete Röhrchen gegeben. Anschließend wurde das Blut sofort zentrifugiert (s. 2.4.2).

2.2.4.3 Vorbereitung und Verabreichung der ^{13}C -markierten Fettsäuren

Ein Zielkriterium der Studie war, den Einfluß einer LCT-Reduktion um 50 % durch den Austausch gegen MCT auf den Fettsäuremetabolismus (Elongation und Desaturierung von Linolsäure und α -Linolensäure zu LCP) zu überprüfen.

Tracerdosierung: Die Kinder erhielten oral 5 mg/kg Körpergewicht ^{13}C -markierte Linolsäure (^{13}C 18:2n-6) und 1 mg/kg Körpergewicht ^{13}C -markierte α -Linolensäure (^{13}C 18:3n-3) an Studientag 7. Die Blutentnahme an diesem Tag wurde vor der Tracergabe durchgeführt, um die Basalwerte (die natürliche ^{13}C -Anreicherung) der Plasma-PL-Fettsäuren zu messen. Exakt 24 Stunden nach der Tracergabe erfolgte eine weitere Blutentnahme. Hier wurden neben der Analyse der Plasma-PL-FS die ^{13}C -Anreicherungen der Fettsäuren gemessen. Dies entspricht den Beobachtungen bisheriger Studien, daß zum vorgesehenen Meßzeitpunkt 24 Stunden nach Tracergabe eine meßbare Anreicherung in den Vorläufer- und Produktfettsäuren vorliegt, die bei dieser Einpunktbestimmung eine Abschätzung der endogenen Synthese ermöglicht (59).

Verwendet wurden uniform ^{13}C -markierte LA und ALA (als freie Fettsäuren) der Firma Martek Biosciences Corp., Columbia, USA (Reinheit >95%, isotopische Anreicherung >98%). Zunächst wurden die markierten Fettsäuren im Verhältnis 5:1 gemischt (135,12 mg ^{13}C 18:2n-6 / 28,96 mg ^{13}C 18:3n-3 bei der ersten Portionierung; 133,4 mg ^{13}C 18:2n-6 / 27 mg ^{13}C 18:3n-3 bei der zweiten Portionierung). Es wurden 11 mg des Fettsäuregemisches mit einer Analysenwaage in nummerierte 4 ml Braungläschen abgefüllt. Das genaue Gewicht der eingewogenen ^{13}C -markierten Fettsäuren wurde jedesmal dokumentiert. Die gewählte Dosis des Tracers zur Messung der endogenen Synthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren entspricht Dosierungen, die bisher in unserem Labor, aber auch von anderen

Forschergruppen verwendet wurden (33;60;175). Chemische Reinheit, Stabilität, sowie Pyrogenfreiheit und Sterilität des Tracers – wichtige Voraussetzungen beim Einsatz von stabilen Isotopen bei Kindern (117) – waren gegeben.

Vorbereitung der Tracergabe: Zu den Braungläschen mit dem Tracer wurden am Studientag 7 im Prüfzentrum (Kinderklinik in Pécs) jeweils 2 ml auf Körpertemperatur angewärmte Muttermilch hinzugefügt. Anschließend wurden dann Tracer und Muttermilch durch Schütteln über 1 min gemischt.

Orale Gabe: Unmittelbar danach wurde der gesamte Inhalt des Braungläschens mit einer 2 ml Einwegspritze entnommen und dem „nüchternen“ Frühgeborenen (letzte orale Zufuhr war etwa 2 Stunden zuvor) um 8.00 Uhr als Bolus über 30 sec über eine bereits liegende Magensonde appliziert. Anschließend wurde nochmals 1 ml Muttermilch in das geleerte Braungläschen gegeben, kurz geschüttelt, wiederum mit der 2 ml Spritze entnommen und erneut über die Magensonde gegeben. Die Magensonde wurde anschließend nochmals mit 1 ml Muttermilch „gespült“. Die Nummer des Braungläschens, das aktuelle Gewicht des Frühgeborenen und der genaue Zeitpunkt der Tracergabe wurden in den Prüfbögen dokumentiert.

2.3 Ethische Aspekte

2.3.1 Blutentnahmen bei Frühgeborenen

Während des gesamten Studienzeitraumes fanden für die Analyse der üblichen Routineparameter täglich Blutentnahmen statt. Zusätzlich wurden für die Messung der Fettsäuren, Vitamine und Carnitin im Plasma und Erythrozyten (nur Fettsäuren) zu den Zeitpunkten t_0 2,5 ml Blutvolumen, an t_7 1,0 ml und an t_8 2,5 ml abgenommen. Ein Volumen von 2,5 ml entspricht 1,7 % des geschätzten Blutvolumens bei einem frühgeborenen Kind von 1500 g, 2,6 % bei einem Gewicht von 1000 g (183).

2.3.2 Verabreichung stabiler Isotope bei Kindern

Mit Hilfe der Stabilen-Isotopen-Technik konnte mit Einsatz von kleinsten Tracermengen verschiedenen Fragestellungen im Fettstoffwechsel von Frühgeborenen in

vivo nachgegangen werden. Inzwischen belegen zahlreiche Studien mit Früh- und Reifgeborenen, daß der Einsatz von ^{13}C markierten Fettsäuren keinerlei nachteilige Effekte auf die Gesundheit der Kinder ausübt (31;60;61;115;175).

2.3.3 Aufklärung und Einwilligung der Eltern

Vor Beginn der Studie wurden die Eltern der Patienten über Prüfsubstanz, Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie und mögliche Risiken in mündlicher und schriftlicher Form aufgeklärt. Bei Bedarf konnten die Eltern auch während der Studie relevante Informationen erfragen. Darüber hinaus wurden die Eltern über die Bedingungen und Bestimmungen der gesetzlich vorgeschriebenen Probandenversicherung unterrichtet. Die schriftliche Einverständniserklärung konnte erst nach erfolgter Aufklärung abgegeben werden und auf Wunsch der Eltern auch jederzeit wieder zurückgezogen werden.

2.3.4 GCP-Richtlinien und prüfende Ethik-Kommission

Die klinische Prüfung dieser Studie wurde nach den Empfehlungen zu „Good Clinical Practice“ der „International Conference on Harmonization“ (ICH) durchgeführt und befand sich in Übereinstimmung mit der „Deklaration von Helsinki“. Vor Studienbeginn lag ein zustimmendes Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Kinderklinik Pécs vor.

2.4 Analytische Methoden

2.4.1 Geräte und Reagenzien

Chemikalien

2,6 Di-tert.-butyl-p-kresol (BHT), Fluka 34750, Buchs (Schweiz)
2,7-Dichlorfluoreszein, Merck 9676, Darmstadt
2-Propanol, Merck 1.09634.1000, Darmstadt
Ammoniaklösung 25 % p.A., Merck 5432.1000, Darmstadt
Aqua ad iniectabilia, Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen
Chloroform p.A., Merck 1.02445.2500, Darmstadt
DC-Platten Kieselgel 60, Merck 1.05721, Darmstadt
Diisopropylether, Baker 8072, Deventer (Holland)
Essigsäure 100% (Eisessig), Merck 1.00063, Darmstadt
Ethanol absolut, Merck 1.00983.2500, Darmstadt
Kaliumoxalat, Sigma P-3917, Steinheim
Methanol LiChrosolv, gradient grade, Merck 1.06007.2500, Darmstadt
Methanolische HCl 3N, Supelco 3-3050 Bellefonte (USA)
Methyl Tricosanoate, Lot No. 9811-9, Larodan AB, Malmö (Schweden)
Natriumcarbonat, Merck, 6392.0500, Darmstadt
Natriumhydrogencarbonat, Merck, 1.06329.1000, Darmstadt
Natriumsulfat, Merck, 1.06649.1000, Darmstadt
n-Heptan, Merck, 1.04379.1000, Darmstadt
n-Hexan LiChrosolv, Merck, 1.04391.1000, Darmstadt
Phosphatidylcholine Dipentadecanoyl, Sigma P7285, Deisenhofen
Phosphatidylethanolamine Diheptadecanoyl, Sigma P 8664, Deisenhofen
Tert.-Butyl-methylether, Fluka 20249, Neu-Ulm
Vitamin B2-Injektions, PZN 3262485, Pascoe, Gießen (Vitaminlösung in Ampullen, 14,6 mg Riboflavin/1 ml)

Verbrauchsmaterialien

Bördelkappe R11-1.0, Nr. 301014, CS Chromatographie Service, Langerwehe
Dichtscheibe G13, Nr. 300357, CS Chromatographie Service, Langerwehe
Dichtscheibe G15, Nr. 300326, CS Chromatographie Service, Langerwehe
Federn, Chromacol 500 X MTS-1, Trumbull (USA)
Flasche G4, braun, Nr. 300106, CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Flasche R1, braun, Nr. 300005, CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Microvials, Chromacol 1000 02-MTV, Trumbull (USA)
Pasteurpipetten, Brand 7477 15, Wertheim
Pipettenspitzen für CP10 und CP100, abimed, Langenfeld
Pipettenspitzen für Eppendorf-Pipetten, Greiner, Frickenhausen
Reagenzgläser 3 WKB 135 14/15 mm, WAG 0,8/1,0 mm, Paul, Gilching
Rollrandfläschchen G1, braun, Nr. 300102, CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Schraubkappe G15, Nr. 300328, CS-Chromatographie Service, Langerwehe

Geräte

Analysenwaage, Sartorius R-200 D, Göttingen
Bördelzange, Hewlett Packard 8710-0979
Büchi Rotavapor R-114, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz
Büchi Waterbath B-480, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz
Entwicklungskammer, Desagag, Heidelberg
Exsikkator, Glaswerk, Wertheim
Gaschromatograph, Hewlett-Packard 5890 Series II, Waldbronn
Membran-Vakuumpumpe MZ 2c, Vacuumbrand GmbH + Co, Wertheim
Metallblock-Thermostat, Bachhofer GmbH, Typ 2102 Reutlingen
Pipette, Brand Transferpipette 10-100 µl, Wertheim
Pipette, abimed 1-10 µl, 10-100µl, 50-250 µl, 200-1000 µl, 500-2500 µl
Schliffglasröhrchen
Sektorfeld-Massenspektrometer, Delta S Finnigan MAT, Bremen

Thermoplatte S Desaga, Heidelberg
Ultraschallbad Sonorex Super, Bandelin electronic, Berlin
UV-Lampe, "no name", Hongkong
Vortexer, Janke und Kunkel IKA-Labortechnik VF 2, Heitersheim
Zentrifuge Universal 30 F, Hettich, Tuttlingen

2.4.2 Probenvorbereitung, Transport und Lagerung

Das abzentrifugierte Plasma (Volumen zwischen 300-500 µl) wurde in Eppendorf-Hütchen, die Erythrozyten in Kunststoffröhrchen (Volumen zwischen 1-3 ml) überführt und bei -80°C eingefroren. Transportiert wurde das Probenmaterial von Pécs nach München in drei Chargen, jeweils auf Trockeneis. In München wurde das Probenmaterial bis zur weiteren Aufarbeitung bei -80°C gelagert.

2.4.3 Fettsäureanalytik

2.4.3.1 Reproduzierbarkeit und Methodenverbesserung für die Analyse der Fettsäure-Absolutkonzentrationen

In dieser Studie wurden die Fettsäuregehalte der Plasma-Triglyceride und – Phospholipide sowohl relativ, als auch absolut angegeben. Leider wies die Methodik zur Analyse der Absolutkonzentrationen nur eine begrenzte Reproduzierbarkeit auf (s. Tab. 7-1 und 7-2). Aus diesem Grund legte ich einen Schwerpunkt meiner Arbeit darauf, die Ursachen für die mäßige Reproduzierbarkeit zu finden und auch die Methodik zu verbessern. Als mögliche Fehlerquellen kamen für mich in Frage: Einwaage des internen Standards, bzw. mangelnde Auftrennung der Fraktionen bei der Dünnschichtchromatographie.

Fehler bei der Einwaage des internen Standards

Gerade bei kleinen Mengen ist es sehr schwierig, eine exakte Meßgenauigkeit einzuhalten. Die Meßgenauigkeit der verwendeten Waage wurde über einen längeren Zeitraum überprüft. Es konnten keine Abweichungen festgestellt werden. Allerdings befand sich die Waage in benachbarten Laborräumen. Während des Transports (von dem einen Laborraum in den anderen) der bereits abgewogenen Standardsubstanzen ist es möglich, daß geringe Mengen verloren gehen. Denkbar wäre hier ein Verlust von Pulversubstanz durch Luftzug oder ein Verdampfen der flüchtigen mittelkettigen Triglyceride.

Auch muß damit gerechnet werden, daß bei der Überführung der Standardsubstanzen nicht die vollständige Menge in die Lösungssubstanz überführt wird. Es

können, trotz des Nachspülens mit Lösungsmittel, Reste am Rand des Wägeschiffchens verbleiben. Ein direktes Einwiegen in ein Braungläschen würde dies verhindern, ist aber praktisch nicht zuverlässig durchführbar.

Da von den einzelnen Standardsubstanzen immer nur kleine Mengen benötigt werden, dauert es oft Monate oder Jahre, bis sie aufgebraucht sind. Während der Lagerungszeit werden die Gläschen wiederholt aufgetaut und geöffnet. Denkbar ist, daß beim Öffnen der Gläschen die Substanzen Feuchtigkeit aus der Luft ziehen und somit an Gewicht zunehmen. Um dies zu untersuchen wurden genau definierte Mengen an TG C15:0 und TG C17:0 über 48 Stunden im Exsikator stehen gelassen. Bei dieser Versuchsanordnung konnten jedoch keine Gewichtsveränderungen festgestellt werden.

Dünnschichtchromatographie

Bei mehreren Versuchsreihen konnte gezeigt werden, daß die Fettsäuren je nach Kettenlänge ein unterschiedliches Laufverhalten bei der Dünnschicht-Chromatographie aufweisen. Gerade bei den Triglyceriden spielt dies eine besondere Rolle, denn die mittelkettigen Triglyceride grenzen unmittelbar an die freien Fettsäuren an. Je nach Spektrum der Fettsäuren ist zu vermuten, daß der Übergang fließend sein kann, oder sogar eine Überlappung vorliegt. Der Nachweis hierfür kann nur visuell, nicht aber quantitativ vollzogen werden. Bei der dünn-schichtchromatographischen Auftrennung der Triglyceride mit Beteiligung von mittelkettigen Triglyceriden, erscheint das in unserem Labor verwendete Laufmittel als nicht optimal. Es bleibt Ziel weiterer Studien, ein Laufmittel zu finden, das zugleich die TGs vollständig von der Fraktion der freien Fettsäuren trennt und gleichzeitig für die Trennung der Phospholipide geeignet ist.

2.4.3.2 Plasma-Lipidfraktionen

Innere Standardlösung: Zur Quantifizierung der mittelkettigen TGs (Kettenlänge $\leq 12\text{C}$ -Atome) wurde Trinonanoin, für die langkettigen Tripentadecanoin verwendet. In den Phospholipiden ist der Gehalt der mittelkettigen FS sehr gering. Aus diesem Grund wurden hier nur die längerkettigen FS analysiert. Als interner Standard hierfür wurde L- α -Phosphatidylcholin Dipentadecanoyl eingesetzt. Das Standardgemisch wurde zu Beginn der Analytik hergestellt und zwar in ausreichend großer Menge, so daß es für das gesamte Probenmaterial ausreichte.

Herstellen der Standardlösung: In Wägeschiffchen aus Glas wurden 5,4 mg Tri-nonanoin, 5,3 mg Tripentadecanoin, 7,2 mg L- α -Phosphatidylcholin Dipentadeca-noyl und 12,6 mg Cholesteryl Pentadecanoate eingewogen. Anschließend erfolgte die Überführung in einen 50-ml-Meßkolben, wobei jeweils mit etwas Lösungsmittel (Methanol/Chloroform, 35/15, v/v; mit BHT, 2 g/l) nachgespült wurde. Mit derselben Lösung wurde der Meßkolben schließlich vollständig aufgefüllt (50 ml). Die fertige Standardlösung wurde in 4 ml Braungläschen portioniert und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert.

Überprüfung der Standardlösung: Nach dem selben Verfahren wurde ein Fett-säuregemisch zur Überprüfung der Standardlösung hergestellt. Eingewogen wur-den 5,6 mg Tricaprylin, 1,1 mg Triheptadecanoin, 1,3 mg Phosphatidylethanolamin Diheptadecanoyl und 1,9 mg Choesteryl-Heptadecanoate, gelöst in Metha-nol/Chloroform (35/15, v/v). Der Standard wurde anhand von zwei Experimenten überprüft (s. Tab. 2-2). In Versuchsaufbau 1 wurden je 250 μl Fettsäuregemisch und 100 μl Standard gemischt, unter Stickstoff eingedampft und wie üblich weiter aufgearbeitet (Beginn: Aufnehmen des Extraktes mit Chloroform/Methanol und Auftragen auf die Dünschichtplatte). In Versuchsaufbau 2 wurden 250 μl des Fett-säuregemisches unter Stickstoff eingedampft und dann 250 μl Plasma und 100 μl Standard zugegeben. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie üblich (Beginn: Extrak-tion mit Hexan/Isopropanol). Die Recovery-Werte lagen bei 97,63 % für TG C8:0, bei 108,07 % für TG C17:0, bei 113,34 % für PL C17:0 und bei 97,21 % für CE C17:0. Ursache für die Recovery-Werte von über 100 konnte letztlich nicht geklärt werden. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang ein unterschiedliches Lösungs-verhalten der verschiedenen Standardsubstanzen.

Tab. 2-2. Recovery bei Experimenten mit unterschiedlichem Versuchsaufbau zur Überprüfung des Standards

	TG C8:0	TG C17:0	PL C17:0	CE C17:0
Errechneter Wert (A) [mg/l]	205,86	42,03	39,07	32,16
Experiment 1 (E1) [mg/l]	184,68	42,12	38,36	29,07
Experiment 2 (E2) [mg/l]	180,31	45,52	43,48	28,26
Abweichung A / E1 [%]	10,3	0,2	1,8	9,6
Abweichung A / E2 [%]	12,4	8,3	1,8	12,1
Abweichung E1 / E2 [%]	2,4	8,1	13,3	2,8
Recovery [%]	97,63 \pm 1,1	108,07 \pm 5,1	113,34 \pm 4,5	97,21 \pm 9,8

Lipidextraktion: Die Lipidextraktion erfolgte nach einer Methode von Kolarovic et al. (111). Die Proben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und 250 µl in ein 4-ml-Braungläschen eingewogen (Erfassen des Gewichtes mittels Analysenwaage). Zum Plasma wurden 100 µl des Internen-Standards gegeben (abimed-Pipette) und 2 ml eines Hexan-Isopropanol-Gemisches hinzugefügt (3/2; v/v). Die Probe wurde 1 Minute auf dem Vortexer geschüttelt und anschließend zur Phasentrennung bei 2400 rpm für 7 Minuten zentrifugiert. Die Hexanphase wurde in ein weiteres 4-ml-Braungläschen überführt und unter Stickstoffzufuhr zur Trocknung gebracht. Für die zweite Extraktion wurden 2 ml Hexan zur Probe gegeben und wie bei der ersten Extraktion weiter verfahren.

Trennung der Phospholipid-Fraktion und der Triglycerid-Fraktion: Die Trennung der Lipidklassen erfolgte über Dünnschichtchromatographie, nach der Methode von Carnielli et al. (31). Hierbei wurde das trockene Lipidextrakt in 400 µl eines Gemisches von Chloroform/Methanol (1/1, v/v) aufgenommen und auf eine Dünnschichtchromatographie-Platte aufgetragen. Alle Auftragsstellen wurden zweimal mit Chloroform (ca. 20 µl) nachgewaschen. Für die Entwicklung der Platten wurde ein Laufmittel folgender Zusammensetzung verwendet: n-Heptan:Diisopropylether:Eisessig (60:40:3, v/v/v). Die Kammer wurde nach dem Hineinstellen der DC-Platte verschlossen und die Platte im Laufe von etwa 45 Minuten bis zu einer Laufhöhe 1 cm unter dem oberen Rand entwickelt. Die anschließende Trocknung erfolgte auf der Thermoplatte über 20 Minuten bei einer Temperatur von ca. 30 °C.

Die entwickelte und getrocknete Platte wurde mit 2,7 Dichlorfluorescein, gelöst in Ethanol, besprüht. Die Lipidfraktionen wurden unter einer UV-Lampe sichtbar gemacht und mit einer Spatelspitze markiert. Die entsprechenden Stellen mit Fluoreszenz-Markierung für die Phospholipide und Triglyceride wurden abgetragen, pulverisiert und mittels eines Glas-Trichters in ein 4-ml-Braunglas überführt.

► **Plasma-Triglyceride**

Bis zur Umsetzung der Fettsäuremethylester waren die Schritte bei der Probenaufbereitung bei Plasma-PL und Plasma-TG identisch.

Synthese der Fettsäuremethylester: Die aus der Dünnschichtchromatographie gewonnenen Triglyceride wurden mit 1 ml methanolischer HCl, 1 ml Methanol und 0,5 ml Hexan versetzt, in 4 ml Braunglasbehältern dicht verschlossen und bei 80

°C für 60 Minuten im Thermoblock erhitzt. Hierbei erfolgte die Umsetzung der Fettsäuren zu Fettsäuremethylester.

Extraktion der Fettsäuremethylester: Nach ausreichender Abkühlungsphase (ca. 30 Minuten) wurde zum Gemisch 2 ml aqua dest. schrittweise zugegeben, anschließend das Reagenz geschüttelt (verschlossen) und zentrifugiert. Nun wurde die Hexan-Phase vollständig in ein weiteres 4-ml-Braungläschen überführt. Um eventuell vorhandene Spuren der wässrigen Phase zu binden, wurde noch etwas Natriumsulfat zu dem Extrakt gegeben. Aus der Hexan-Phase wurde schließlich 200 µl in ein 2-ml-Braungläschen pipettiert und die mit Bördelkappen verschlossenen Proben bis zur GC-Analytik bei –20 °C aufbewahrt.

► Plasma-Phospholipide

Synthese der Fettsäuremethylester: Zur Phospholipidfraktion wurde 1,5 ml methanolischer HCl gegeben, die Probe gut geschüttelt und bei 85 °C im Thermoblock 45 Minuten lang erhitzt. Dabei werden die Fettsäuren zu Fettsäuremethylestern umgesetzt.

Extraktion der Fettsäuremethylester: Nach einer 30 minütigen Abkühlungsphase wurde der Ansatz mit einer Mischung von Natriumsulfat/ Natriumhydrogencarbonat/ Natriumcarbonat (2/2/1, w/w/w) neutralisiert. Zum Erstellen des Puffers wurden die Einzelsubstanzen des Puffers mittels einer Analysenwaage abgewogen und anschließend vermischt. Die Extraktion der Fettsäuremethylester erfolgte zweimal mit jeweils 1 ml Hexan, die Extrakte wurden vereinigt (in einem 2-ml-Braungläschen) und die Hexanphase unter Stickstoff zur Trocknung gebracht. Schließlich wurden die Extrakte in 50 µl Hexan mit BHT (2 g/l) als Antioxidans wieder aufgenommen. Die Proben wurden gut geschüttelt und in ein Microvial überführt. Die mit Bördelkappen verschlossenen Proben wurden bis zur GC-Analytik bei –20 °C aufbewahrt.

2.4.3.3 Erythrozyten-Phospholipide

Vorbereitung der Erythrozytenproben: Das Erythrozytensediment wurde bei Raumtemperatur aufgetaut und dann mit der dreifachen Menge einer 0,9%-igen NaCl-Lösung gewaschen, zentrifugiert (5 min, 1000 rpm) und der Überstand verworfen. Dieser Waschvorgang erfolgte dreimal. Anschließend wurden die Erythro-

zyten mit 300 µl Aqua dest. zur Hämolyse gebracht. Nach Zugabe von einigen Glasperlen wurden in 100 µl-Schritten unter ständigem Rühren 2,0 ml Isopropanol (+BHT, 50 mg/l) zugegeben.

Extraktion: Unter ständigem Mischen wurden 5 ml Isopropanol und außerdem noch 4 ml Chloroform zugegeben. Daraufhin wurden die Proben 10 Minuten stehen gelassen und anschließend bei 3000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen angefeuchteten Filter in einen Spitzkolben filtriert. Unter ständigem Mischen wurden weitere 4 ml Chloroform zum Rückstand gegeben, die Probe nochmals 10 Minuten stehen gelassen und filtriert. Hierbei wurden die Filtrate vereinigt. Das Isopropanol/ Chloroform – Verhältnis lag durch das Anfeuchten des Filters und Nachwaschen insgesamt bei knapp 1:1, v/v. Diese Extraktionsmethode entspricht in modifizierter Form der von Folch vorgeschlagenen Extraktion mit Chloroform unter Verwendung eines polaren Lösungsmittels (69). Die Probe wurde dann mit dem Rotationsverdampfer bei 35°C zur Trocknung gebracht.

Trennung der Phosphatidylcholin-Fraktion und Phosphatidylethanolamin-

Fraktion: Das trockene Lipidextrakt wurde in 400 µl eines Gemisches von Chloroform/Methanol (1/1, v/v) aufgenommen und auf eine DC-Platte aufgetragen. Pro Platte wurden vier Proben aufgetragen, sowie für die Identifikation der Fraktionen als Standard jeweils 10µl Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin. Alle Auftragsstellen wurden zweimal mit Chloroform (ca. 20 µl) nachgewaschen. Für die Entwicklung der Platten wurde ein Laufmittel folgender Zusammensetzung verwendet: Chloroform:Methanol:NH₃:Aqua dest (73:27:2,2:2,8). Die Kammer wurde nach dem Hineinstellen der DC-Platte verschlossen. Die Platten wurden im Laufe von etwa 110 Minuten bis zu einer Laufhöhe 1 cm unter dem oberen Rand entwickelt. Die anschließende Trocknung erfolgte auf der Thermoplatte über 20 Minuten bei einer Temperatur von ca. 30 °C.

Die entwickelte und getrocknete Platte wurde mit 2,7 Dichlorfluorescein, gelöst in Ethanol, besprüht. Die Lipidfraktionen wurden unter einer UV-Lampe sichtbar gemacht und mit einer Spatelspitze markiert. Die entsprechenden Stellen mit Fluoreszenz-Markierung für die Phosphatidylcholin-Fraktion und die Phosphatidylethanolamin-Fraktion wurden ausgekratzt und mittels eines Trichters in ein 4 ml Braunglas überführt.

Synthese der Fettsäuremethylester: Die aus der Dünnschichtchromatographie gewonnenen Lipidfraktionen wurden mit 1 ml methanolischer HCl versetzt, in 4 ml

Braunglasbehältern dicht verschlossen und bei 85 °C für 45 Minuten im Thermo- block erhitzt.

Extraktion der Fettsäuremethylester: Nach einer 30 minütigen Abkühlungspha- se wurde der Ansatz mit einer Mischung (ca. 0,5 g) von Natriumsul- fat/Natriumhydrogencarbonat/Natriumcarbonat (2/2/1, w/w/w) neutralisiert. An- schließend wurde zweimal mit jeweils 1 ml Hexan extrahiert, die Extrakte vereinigt und die Hexanphase, die die Fettsäurenmethylester enthielt, unter Stickstoff zur Trocknung gebracht. Die Aufnahme des Extraktes erfolgte in 50 µl Hexan mit BHT (2g/l). Die Proben wurden gut geschüttelt und in ein Microvial überführt. Die mit Bördelkappen verschlossenen Proben wurden bis zur GC-Analytik bei –20 °C auf- bewahrt.

2.4.3.4 Gaschromatographie

Plasma-PL, Ery-PC und -PE

Zur Auftrennung und Detektion der Fettsäurenmethylester diente ein Gaschroma- tograph Modell HP 5890 Serie II. Der Gaschromatograph war mit einem automati- schen Probenaufgeber versehen. Die Einspritzung erfolgte im Splitmodus mit ei- nem Verhältnis von 1:15, das Einspritzvolumen betrug 3 µl. Zur Trennung diente eine Kapillarsäule (BPX70, SGE, Weidenstadt, Deutschland) mit einem Innen- durchmesser von 0,32 mm und einer Länge von 60 m. Zur quantitativen Detektion kam ein Flammenionisationsdetektor (FID) zum Einsatz. Die Temperatur im Ein- spritzblock betrug 250 °C, die Temperatur im FID betrug ebenfalls 250 °C. Das Temperaturprogramm für die analytische Säule startete bei 130 °C und ging mit einer Steigerungsrate mit 3 °K pro Minute bis zu einem Endpunkt von 210 °C, wel- cher dann noch über 7 Minuten gehalten wurde. Die Fettsäuren wurden durch Vergleich der Retentionszeiten mit denen eines bekannten Standards identifiziert. Dieses Standard-Gemisch (Zusammensetzung s. Anhang) wurde aus Methyles- tern bekannter Fettsäuren in unserem Labor hergestellt [die Fettsäuremethylester stammten von den Firmen Nu-Chek (Elysian, Minnesota, USA) und Sigma (Tauf- kirchen, Deutschland)]. Für die Quantifizierung der Fettsäuren wurde bei der Chromatographie-Methode mit sogenannten Response Faktoren (Korrekturfakto- ren) gerechnet. Durch Analyse eines weiteren Standardgemisches mit bekannten Fettsäurekonzentrationen (GLC-85, Nu-Chek Inc., Elysian, Minnesota, USA) konn- ten diese Response Faktoren der einzelnen Fettsäuren ermittelt werden.

Sämtliche Chromatogramme wurden nochmals im einzelnen überprüft. Dabei konnten fehlenden Einordnungen oder vom Programm nicht eindeutig identifizierte Peaks mit Hilfe der Auswertungssoftware (Easy Chrome Elite 2.1) korrigiert werden.

Plasma-TG

Die gaschromatographische Analyse der Plasma-TGs erfolgte über ein Splitless-Verfahren. Die Temperatur des Säulenofens wurde von einer Ausgangstemperatur von 45°C mit 6°C/min auf 150°C, mit 3°C/min auf 190°C und mit 0,5°C/min auf 201°C erhöht.

2.4.3.5 Berechnung der Fettsäuregehalte in den Proben

Absolutkonzentrationen der Fettsäuren (bei PL und TG): Mittels der zugegebenen Fettsäuren C15:0 bzw. C9:0 im Inneren Standard konnten die absoluten Fettsäurekonzentrationen in den Plasma-PL und -TG berechnet werden. Dabei wurden die Peakflächen der analysierten Fettsäuren in Beziehung zur Peakfläche der Pentadecansäure (C15:0), bzw. die mittelkettigen Fettsäuren in Beziehung zur Nonansäure (C9:0) gesetzt. Die Mengen an C9:0 und C15:0 waren so zugesetzt, daß schließlich ihre Peakfläche einer Konzentration von 40 mg/l entsprach. Die von der Chromatographie-Software ausgegebenen Fettsäureangaben stellen die sog. Response-Faktoren dar. Hierbei wurden die Peakflächen bereits in Beziehung zur Standardfettsäure gesetzt. Um die Absolutkonzentrationen der einzelnen Fettsäuren in mg/l zu erhalten, müssen jeweils die Response-Faktoren mit dem Faktor 40 multipliziert werden.

Relativangaben der Fettsäuren (PC, PE, PL, TG): Da bei der Analyse der Fettsäuremuster in Erythrozyten-Phospholipide Probenmaterial mit unterschiedlichem Volumen eingesetzt wurde, konnten die Absolutkonzentrationen nicht berechnet werden. Für diese beiden Fraktionen und auch für die Plasma-PL und -TG, wurden Gewichtsprozentage errechnet. Hierfür wurde die Peakfläche der jeweiligen analysierten Fettsäure in Beziehung zur Summe aller integrierten und identifizierten Peakflächen gesetzt und mit dem Faktor 100 multipliziert (Angaben entsprechen dann Gew-%).

2.4.4 Methode zur Analyse der Plasma-Vitamine (Vitamin E und A)

Die Messung von Plasma-Tocopherol und Retinol erfolgte nach der Methode von Göbel et al. (81).

2.4.4.1 Herstellung des Standard-Gemisches

Herstellung der Vitamin-Stamm- und -Gebrauchslösungen: Für die Herstellung der Stammlösungen des Retinols und der Tocopherole wurden 10 mg Retinol bzw. 50 mg der verschiedenen Tocopherol-Isomere (α -, γ - und δ -Tocopherol) in 10 ml Ethanol aufgelöst. Für die Carotinoid-Stammlösungen wurden jeweils 1 mg α - bzw. β -Carotin in 500 μ l Chloroform gelöst und auf 10 ml Gesamtvolumen mit Hexan/BHT (5 mg/100 ml) aufgefüllt.

Für die Herstellung der Gebrauchslösungen wurden die Stammlösungen mit Ethanol verdünnt. Dies geschah in einem Verhältnis bei Retinol von 1:50, bei α -Tocopherol von 1:10 und bei γ - und δ -Tocopherol von 1:100. Bei α - und β -Carotin wurden jeweils 1000 μ l des Konzentrates auf das Gesamtvolumen von 10 ml Hexan/BHT (5 mg/100 ml) aufgefüllt.

Die Gebrauchslösungen wurden vor jeder Messung neu hergestellt. Da sich die Vitamine in Lösung auch unter optimalen Bedingungen (-80 °C) mit der Zeit abbauen, wurden auch die Stammlösungen jeweils vor den Messungen neu ange-setzt.

Photometrische Konzentrationsmessung der Standard-Verdünnungen: Die tatsächlichen Konzentrationen der Vitamine in den Gebrauchslösungen wurden vor jeder Messung photometrisch bestimmt. Die γ - und δ - Tocopherol Gebrauchslösungen konnten direkt für die photometrische Konzentrationsmessung eingesetzt werden. Die Gebrauchslösungen für Retinol, α -Tocopherol und die beiden Carotinoide mußten für die photometrische Messung verdünnt werden, da sonst die Extinktion zu hoch gewesen wäre. Dazu wurde jeweils 1 ml der Gebrauchslösung (abimed-Pipette) mit 2 ml des gleichen Lösungsmittels (Ethanol für Retinol und α -Tocopherol, Hexan mit BHT für die Carotine) in einem 4 ml Braungläschen mit Schraubdeckel gemischt. Diese Menge war ausreichend für eine Dreifach-Bestimmung im Photometer, da die Küvetten 750 μ l fassen. Nach der photometrischen Messung wurde der restliche Inhalt der 4 ml Braungläschen verworfen, da diese Verdünnungen nur für die photometrische Messungen gedacht waren.

Aus den bekannten Extinktionskoeffizienten (44;99;99;99) und der gemessenen Extinktion (Mittelwert aus jeweils vier Messungen) konnte dann die tatsächliche Konzentration der Gebrauchslösung berechnet werden (s. Tab. 2-3).

Tab. 2-3. Meßwellenlänge (in nm) und Extinktionskoeffizient für die photometrische Konzentrationsbestimmung der Vitamin-Gebrauchslösungen

Vitamine	Wellenlänge	Extinktionskoeffizient $E_{1cm}^{1\%}$
Retinol	325	1780
α -Tocopherol	292	75,8
γ -Tocopherol	298	92,8
δ -Tocopherol	298	91,2
α -Carotin	446	2725
β -Carotin	450	2590

Herstellung des Standard-Gemisches: Nach der photometrischen Konzentrationsmessung der Gebrauchslösungen konnte berechnet werden, welche Volumina der jeweiligen Gebrauchslösung für die Herstellung des Standard-Gemisches benötigt wurden. Die Volumina der Gebrauchslösungen wurden dann in einen 5 ml Meßkolben gegeben, unter Stickstoff eingedampft und anschließend bis zur Markierung mit Hexan aufgefüllt. Für die Kalibrierung wurden Verdünnungen des Standard-Gemisches erstellt. Dazu wurden 220 μ l bzw. 610 μ l bzw. 1000 μ l des Standard-Gemisches und 100 μ l Hexan/BHT (125 mg/25 ml) eingedampft und anschließend in 1000 μ l Tocol-Gebrauchslösung gelöst. Die Standard-Lösungen konnten direkt in die HPLC-Anlage eingespritzt werden.

Herstellung der Tocol-Stamm- und -Gebrauchslösung: Als innerer Standard wurde Tocol verwendet. Für die Herstellung der Tocol-Stammlösung wurden 12,5 μ l des Tocol-Konzentrates (gestiftet von der Firma Hoffmann-La-Roche in Basel bzw. Eisai, Tokyo, Japan) und 1 ml Ethanol/BHT (62,5 mg/100 ml) in einen 25-ml-Meßkolben mit Ethanol ohne BHT bis zur Meßmarke aufgefüllt.

Für die Tocol-Gebrauchslösung wurden 175 μ l der Tocol-Stammlösung und 1 ml Hexan/BHT (125 mg/25 ml) eingedampft und anschließend in 25 ml Fließmittel aufgelöst.

2.4.4.2 Probenaufbereitung

Jeweils 100 μ l Plasma und 100 μ l Ethanol/BHT (5 mg/100 ml) wurden in ein 1,5 ml Braunglaschen pipettiert (abimed Pipette), mit Schraubdeckel verschlossen und 15 sec mit dem Vortexer geschüttelt. Für die erste Extraktion wurden 1 ml He-

xan/BHT (5 mg/100 ml) zugegeben und die Proben für 10 Minuten in den Rüttler gestellt. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation bei 2000 rpm für 3 Minuten. Um die Phasentrennung noch zu verbessern wurden die zentrifugierten Proben auf Eis gestellt (für einige Minuten). Schließlich wurden viermal 225 µl mit der abimed-Pipette abgezogen, in ein weiteres 1,5 ml Braungläschen überführt und unter Stickstoff eingedampft. Für die zweite Extraktion wurde nochmals 1 ml Hexan/BHT (5 mg/100 ml) zu dem Unterstand gegeben, zehn Minuten gerüttelt und zentrifugiert. Diesmal wurden jedoch viermal 250 µl vom Überstand abgezogen und mit dem ersten Extrakt vereinigt. Für die dritte Extraktion wurde 1 ml reines Hexan (ohne BHT) zugegeben, gerüttelt, zentrifugiert und wieder viermal 250 µl der Hexanphase abgezogen. Das eingedampfte Hexan-Extrakt wurde dann in 100 µl der Tocol-Gebrauchslösung aufgelöst, 10 Minuten gerüttelt und die Lösung in ein Mikrovial umgefüllt. Die Mikrovials wurden wieder in das 1,5 ml Braungläschen gestellt und mit einer Schraubkappe mit Septum verschlossen. Bis zur HPLC-Analyse wurden die Proben bei -80°C gelagert.

2.4.4.3 HPLC-Bedingungen

Die Zusammensetzung des Laufmittels entsprach der von Hess et al. veröffentlichten Mischung (99): 684 ml Acetonitril, 220 ml Tetrahydrofuran, 68 ml Methanol und 28 ml wässriges Ammoniumacetat (1g/100 ml Aqua bidest.). Das Laufmittel wurde immer vor Gebrauch frisch hergestellt (sonst Gefahr von explosiven Peroxiden aus Tetrahydrofuran). Nach dem Mischen der Komponenten wurde das Laufmittel noch für 20 Minuten in das Ultraschallbad zum Entgasen gestellt.

Das Injektionsvolumen des Autosamplers betrug 20 µl. Die Temperatur des Säulenofens war auf 30 °C eingestellt. Die Flußrate in den ersten 9 Minuten betrug 0,65 ml/min. Diese Fließgeschwindigkeit ermöglichte eine optimale Trennung des Retinols und der Tocopherolisomere bei geringer Peakbreite. Während der folgenden vier Minuten wurde die Flußrate bis zu einem Wert von 1,2 ml/min erhöht und bis 20 Minuten nach Start des Programms beibehalten. Anschließend wurde die Flußrate über eine Zeitdauer von 10 Minuten wieder kontinuierlich auf das Startniveau von 0,65 ml/min reduziert.

Die Anfangsmeßwellenlänge des UV-VIS-Detektors betrug 325 nm für die Erfassung des Retinols. Die Wellenlänge wurde nach 4,05 Minuten auf 292 nm gestellt, nach 8,5 Minuten dann auf 450 nm.

2.4.4.4 Kalibriergerade und Konzentrationsberechnungen

Die Bearbeitung der Chromatogramme wurde mit Hilfe der Auswertungssoftware (Easy Chrome Elite 2.1) durchgeführt. Erstellt wurde zu Beginn der HPLC-Chromatographie eine Kalibriergerade. Für die Erstellung der Kalibriergerade mußten zunächst die bekannten Vitamin-Konzentrationen der eingesetzten Standardlösungen eingegeben werden. Über diese Kalibriergerade konnte dann das Programm die Vitaminkonzentrationen der Plasma-Proben über die gemessene Peakfläche berechnen.

2.4.5 Carnitin-Bestimmung

Die Probenaufbereitung und Durchführung der Messungen für freies Carnitin und Acylcarnitin wurde von Herrn Dr. W. Röschinger (Dr. von Haunersches Kinderspital München) und Herrn Dr. R. Arnecke (Labor Becker, Olgemöller&Kollegen, München) übernommen. Gemessen wurde mittels Elektronenspray Ionisation-Tandem Massenspektrometrie (ESI-MS/MS), nach Methode von Chace et al. (42) und Millington et al. (139) in modifizierter Form.

2.4.5.1 Probenaufbereitung

Einige µl Blutplasma wurde auf Filterpapier gegeben und getrocknet. Daraus wurden 3,2-mm Punkte ausgestanzt und auf eine Microtiterplatte überführt. Auf jeden Punkt wurde 50 µl der internen Standardlösung gegeben. Diese enthält 37,5 pmol L-[²H₃]-Carnitin und 7,5 pmol L-[²H₃]-Palmitoylcarnitin. Nach fünf Minuten wurden 150 µl Methanol zugegeben. Die Platte wurde dann bedeckt und bei Raumtemperatur für 30 Minuten geschüttelt. 150 µl dieses Methanol-Extraktes wurden dann auf eine weitere Microtiterplatte überführt und zur Trocknung gebracht. Die Acylcarnitine und freies Carnitin wurden mittels 50 µl gesättigter butanolischer Hydrochloresäure zu Butylestern derivatisiert. Die Platte wurde mit einer polystyrenbeschichteten Aluminiumfolie bedeckt und für 20 Minuten auf 65 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel zur Trocknung gebracht.

2.4.5.2 Elektronenspray Ionisation-Tandem Massenspektrometrie

Vor der Analyse wurde der Rückstand mit 100 µl einer Acetonitril-Wasser-Ameisensäure-Lösung (50:50:0,025; v:v:v) wieder aufgelöst. Ein 35-µl Aliquot von jeder Probe wurde mit einer Flußrate von 100 µl/Minute in die Ionisationskammer eingeführt. Freies Carnitin und Acylcarnitin wurden durch Positiv-Präkursor-Ionenskenkung von 85 Da (Skennungsbereich 200-500 Da) mit folgenden Einstellungen: Ionensprayspannung von 5500 V, Eintrittsspannung von 15 V, Kollisionsenergie 38 V. Das Kollisionsgas wurde festgesetzt auf einen Druck von $2,1 \times 10^{-5}$ Torr. Die Daten der Massenteilchen wurden in einem 2,5-Minuten Zeitfenster gesammelt. Die Masseneinstellung war vorgegeben mit 1 Atommassen-Einheit und einer Verweildauer von 20 ms.

2.4.6 Bestimmung der ^{13}C -Anreicherungen von Fettsäuren mittels GC-C-IRMS

Die ^{13}C -Anreicherungen der Fettsäuren der Plasma-PL wurden mittels Gaschromatography-Combustion-Isotope Ratio Mass Spectrometry (GC-C-IRMS) gemessen. Bei diesem Verfahren erfolgt eine gaschromatographische Auftrennung der in der Probensubstanz vorhandenen Fettsäuremethylester; diese werden zu CO_2 verbrannt, ionisiert und im Massenspektrum entsprechend dem Masse/Ladungsverhältnis aufgetrennt. Dadurch ist in diesem Fall die Bestimmung der Häufigkeit in dem $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Gemisch vorkommenden Atommassen möglich.

Im ersten Schritt wurden die Fettsäuremethylester gaschromatographisch aufgetrennt. Die Trennung erfolgt über eine BPX 70 Säule (50 m, 0,32 mm innerer Durchmesser). Die Ausgangstemperatur von 130 °C wurde mit 3 °C/min bis auf 200 °C und dann mit 1 °C/min bis auf 210 °C erhöht. Die Fettsäuremethylester traten in der Reihenfolge ihrer Elution in den Verbrennungsofen (Temperatur 900 °C; Kupfer-, Nickeloxid- und Platindrähte) ein. Unter der Reduktion von Kupfer- und Nickeloxid wurden die Fettsäuremethylester zu CO_2 und H_2O oxidiert. Im anschließenden Reduktionsofen wurde das O_2 unter der Oxidation von elementarem Kupfer entfernt. Die nun zu CO_2 umgewandelte Komponente wurden über das Trägergas (Helium) in die Ionenquelle des Massenspektrometers transportiert. Dort wurde CO_2 zu CO_2^+ ionisiert und gleichzeitig auch beschleunigt. Schließlich wurde CO_2^+ in ein Magnetfeld eingeleitet und dort entsprechend der Masse abgelenkt. Die Ablenkung sah folgendermaßen aus:

$^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$	->	Masse 44
$^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$	->	Masse 45
$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$	->	Masse 45
$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$	->	Masse 46

Sowohl $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ als auch $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$ weisen die Masse 45 auf. Die natürlich auftretenden Isotope ^{17}O und ^{18}O stehen in einem festen Verhältnis. So ist es möglich, über die Messung der Masse 46 und eine entsprechende Korrektur der Summe aus $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ und $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$, schließlich das $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ zu erhalten.

Die zur Detektion eingesetzte Faraday-Kollektoren wurden auf die Massen 44, 45 und 46 eingestellt. Entsprechend der Anzahl auftreffender Ionen wird Strom ausgelöst und registriert. Mit Hilfe der einer Komponente zugeordneten Intensität der verschiedenen Massen kann das Verhältnis CO_2^+ der Masse 45 zu CO_2^+ der Masse 44 bestimmt werden (Verhältnis $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$).

Angegeben werden die ^{13}C -Anreicherungen in $\delta^{13}\text{C}$ -Werten. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ist eine Relativangabe zum Isotopenverhältnis eines internationalen Standards (Pee Dee Belmite Gestein, $R_{\text{PDB}} = 0,0112372$) (209):

$$\delta^{13}\text{C} = (R_{\text{FS}} - R_{\text{PDB}}) / R_{\text{PDB}} \cdot 1000 [\text{‰}]. \quad (2-2)$$

R_{FS} entspricht dem Verhältnis $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ in der Probensubstanz:

$$R_{\text{FS}} = ^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}. \quad (2-3)$$

2.5 Berechnungen und Statistische Auswertung

2.5.1 Statistische Fallzahlberechnung

Eine biometrische Fallzahlabschätzung ist entfallen, da entsprechende Ausgangsdaten für die in dieser Untersuchung geplanten Fragestellungen bisher nicht vorgelegen hatten.

2.5.2 Statistische Methoden zur Auswertung der Ergebnisse

Der Großteil der statistischen Berechnungen wurde von dem Medizinischen Wirtschaftsinstitut (D. Osterkorn und K. Osterkorn, MWI, Medizinisches Wirtschaftsinstitut GmbH, München) berechnet. Verwendet wurde hier das Statistikprogramm SAS (SAS System for Windows, Release 6.12, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Die übrigen statistischen Berechnungen wurden mit SPSS für Windows, Vers. 10.0, durchgeführt.

Nichtparametrische Tests: Zur Beurteilung der Signifikanz von Änderungen im Periodenvergleich wurde wegen der kleinen Probandenzahl der U-Test von Mann-Whitney-Wilcoxon verwendet. Bei geeigneten Parametern wurde explorativ mit dem t-Test die Veränderung zwischen dem siebten und dem achten Studientag, bzw. die Veränderung vom ersten Tag zum siebten, respektive achten Tag, innerhalb der Gruppen getestet. Der Vorzeichen-Rangsummentest von Wilcoxon schied hier wegen des Stichprobenumfangs aus. Für die qualitativen Merkmale wurde der exakte Test von Fisher verwendet.

Korrelationen:

Fehlerwahrscheinlichkeit: Das Testniveau wurde mit $\alpha=0,05$ angenommen. Die niedrige Fallzahl konnte häufig zu nicht signifikanten Ergebnissen führen. Andererseits konnten durch die Vielzahl der Parameter und damit auch Vergleiche signifikante Testentscheidungen anfallen, die oft nur als zufällig zu erachten sind.

2.5.3 Berechnung zur Auswertung der Tracerdaten

Tracerdaten werden üblicherweise in APE-Werten und Tracerkonzentrationen dargestellt. Der APE-Wert gibt die Anzahl an Prozentpunkten an, um die sich die Anreicherung einer Substanz gegenüber ihrer natürlichen Anreicherung im gemessenen Zeitraum verändert. Errechnet wird der APE-Wert über Atomprozent (AP_{FS}) der Substanz. Atomprozent gibt den prozentualen Anteil der ^{13}C -Atome an allen C-Atomen der Substanz an.

$$AP_{FS} = R_{FS} / (1 + R_{FS}) \cdot 100. \quad (2-4)$$

Wobei sich R_{FS} (s. 2-2) darstellt, wie folgt:

$$R_{FS} = R_{PDB} + (R_{PDB} \cdot \delta^{13}C) / 1000. \quad (2-5)$$

Die Atomprozent der Substanz an Tag 8 abzüglich der an Tag 7 ergeben schließlich den APE-Wert.

$$APE_{FS} = AP_{FS \text{ Tag 8}} - AP_{FS \text{ Tag 7}} \quad (2-6)$$

Beim APE-Wert werden Plasmakonzentrationen der Fettsäuren nicht mit berücksichtigt. Um mögliche Verdünnungseffekte der Tracersubstanz in höheren Fettsäurekonzentrationen im Plasma zu vermeiden, wurden zusätzlich zum APE-Wert noch die Tracerkonzentrationen errechnet. Die Tracerkonzentration gibt an, wieviel aus dem Tracer stammenden ^{13}C in der jeweiligen Fettsäure im Plasma enthalten ist. Die Angabe erfolgt in $\mu\text{Mol Tracer } ^{13}\text{C}$ in der jeweiligen Fettsäure pro 1 Liter Plasma. Die Tracerkonzentration ($\text{Tracer-}^{13}\text{C}_{FS}$) ergibt sich aus dem Anteil der ^{13}C -Atome aus dem Tracer an den gesamten C-Atomen der Fettsäure:

$$\text{Tracer-}^{13}\text{C}_{FS} [\mu\text{Mol/l}] = C_{FS} [\mu\text{Mol/l}] \cdot APE_{FS}/100 \cdot 1000 \quad (2-7)$$

Die Anzahl der gesamten C-Atome der Fettsäuren erhält man durch die Berechnung der mMol der Fettsäure pro Liter Plasma :

$$\text{mMol}_{FS} [\text{mMol/l}] = \text{Plasmakonzentration}_{FS} [\text{mg/l}] / \text{Molekulargewicht}_{FS} [\text{mg/mMol}] . \quad (2-8)$$

Aus diesen mMol_{FS} erhält man die Anzahl der C-Atome (C_{FS}):

$$C_{FS} [\text{mMol/l}] = \text{mMol}_{FS} \cdot (n_{\text{C-Atome in FS}} + 1). \quad (2-9)$$

Es muß in diesem Fall noch ein C-Atom hinzugezählt werden, da bei der GC-C-IRMS Analyse Fettsäuremethylester gemessen werden.

Tab. 2-4. Symbolliste Tracerberechnung

AP_{FS}	Atomprozent der Fettsäure, prozentualer Anteil der ^{13}C -Atome an allen C-Atomen
APE_{FS}	Atom percent excess der Fettsäure, Unterschied der Anreicherung einer Fettsäure gegenüber der natürlichen Anreicherung in Anzahl an Prozentpunkten
C_{FS}	Anzahl der C-Atome einer Fettsäure (als Methylester) pro Liter Plasma, mMol/l
$\delta^{13}\text{C}$	^{13}C -Anreicherung einer Fettsäure in Relation zum Isotopenverhältnis eines internationalen Standards, ‰
$mMol_{FS}$	mMol der Fettsäure pro Liter Plasma
R_{FS}	Isotopenverhältnis einer Fettsäure ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)
R_{PDB}	Isotopenverhältnis des internationalen Standards, Pee Dee Belmitte-Gestein $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 0,0112372$
$Tracer\text{-}^{13}\text{C}_{FS}$	Anteil der ^{13}C -Atome aus dem Tracer an den gesamten C-Atomen der Fettsäure, $\mu\text{Mol/l}$

3 ERGEBNISSE

3.1 Methoden zur Fettsäureanalytik

Unter Punkt 2.4 wurden Methoden zur Fettsäureanalyse bereits beschrieben. Insgesamt konnten in der Fraktion der Triglyceride 37 Fettsäuren mit Kettenlängen zwischen C8 bis C24 detektiert werden. In der Phospholipid-Fraktion wurden 33 Fettsäuren gaschromatographisch getrennt, mit Kettenlängen von C14 bis C24. Folgende Fettsäuren konnten detektiert werden:

Gesättigte Fettsäuren: C8:0 (TG); C9:0 (TG); C10:0 (TG); C12:0 (TG); C14:0; C15:0; C16:0; C17:0; C18:0; C20:0; C22:0; C24:0

Einfach ungesättigte Fettsäuren: C14:1t; C14:1n-5; C15:1n-5; C16:1t; C16:1n-7; C18:1t; C18:1n-7; C18:1n-9; C20:1n-9; C22:1n-9; C24:1n-9

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren: C18:2t; C18:2n-6; C18:3n-6; C18:3n-3; C20:2n-6; C20:3n-6; C20:3n-9; C20:4n-6; C20:5n-3; C22:2n-6; C22:4n-6; C22:5n-3; C22:5n-6; C22:6n-3.

Ein Beispiel für ein Triglycerid-Chromatogramm ist in Abb. 3-1 dargestellt. Ausgangsbasis waren hierfür 250 µl Plasmavolumen eines Frühgeborenen.

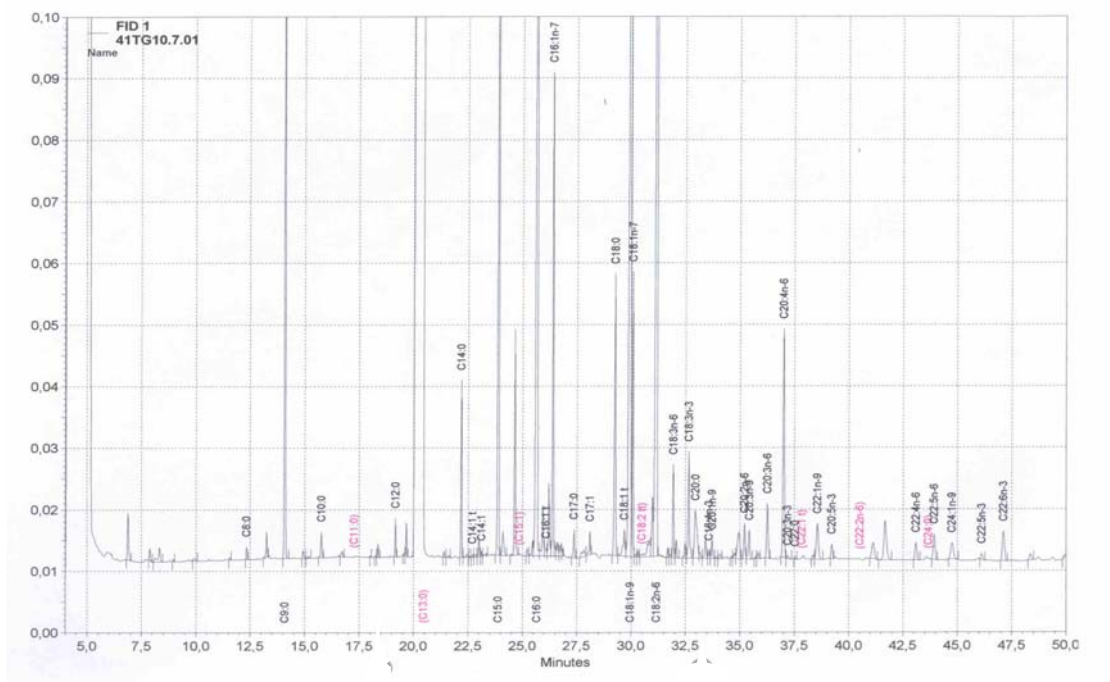


Abb. 3-1. Gaschromatische Auftrennung von Triglyceridfettsäuren aus der Plasmaprobe eines Frühgeborenen

Die Methoden der Fettsäureanalyse von Triglyceriden und Phospholipiden wurden über Intra- und Interassay überprüft. Bei dem Intraassay fand die Aufarbeitung der Proben aus einem Plasmapool an einem Versuchstag statt, bei dem Interassay an verschiedenen Tagen. Die Variationskoeffizienten sind in Tab.3-1 und 3-2 dargestellt (siehe auch Tab.7-1 und 7-2). In dem Intra- und Interassay erwies sich die Methode zur Bestimmung der Fettsäuregehalte in den Phospholipiden als gut reproduzierbar. Dagegen war die Reproduzierbarkeit der Methode zur Bestimmung der Triglyceridfettsäuren nicht immer zufriedenstellend. Insbesondere die Variationskoeffizienten der Absolutwerte lagen bei vielen Fettsäuren >5% und in einzelnen Fällen bei >10%. Aber auch bei den Phospholipiden lagen die Koeffizienten der Absolutwerte allgemein etwas höher, als die der Relativangaben. In dem Intraassay der Phospholipide lagen die Variationskoeffizienten unter dem Wert 5,80, mit Ausnahme der C18:3n-3. Die C18:3n-3 besitzt einen sehr geringen Anteil (von etwa 0,27 %) an den Gesamtfettsäuren. Aus diesem Grund machen sich minimale Meßwertänderungen in einem hohen Variationskoeffizienten bemerkbar. Auch in dem Phospholipid-Interassay fanden sich für C18:3n-3 die höchsten Variationskoeffizienten, mit einem Wert von 8,97 bzw. 8,83. In dem Triglycerid-Intraassay waren vor allem die Koeffizienten der Absolutwerte der mittelkettigen Fettsäuren sehr kritisch (Werte von 10-15). Die übrigen Werte bei den Relativangaben in dem Intraassay – mit Ausnahme der C20:3n-6 mit einem Variationskoeffizient von 8,44 – lagen zwischen eins und sieben. In dem Interassay lagen sämtliche Variationskoeffizienten der Relativangaben unter 11.

Tab. 3-1. Variationskoeffizienten der TG SFA, sowie n-6 PUFA und n-3 PUFA bei mehrmaliger Aufarbeitung von Poolproben an einem Versuchstag (Intraassay) und an verschiedenen Versuchstagen (Interassay)

	Intraassay (n=7)		Interassay (n=18)	
	mg/l (%)	Gew. % (%)	mg/l (%)	Gew. % (%)
<u>SFA</u>				
C8:0	9,62	8,72	11,11	10,34
C10:0	10,32	8,52	14,46	11,45
<u>n-6 PUFA</u>				
C18:2n-6	3,10	0,92	15,20	2,51
C20:2n-6	3,09	3,38	14,28	3,48
C20:3n-6	8,10	8,44	17,88	9,18
C20:4n-6	5,66	5,39	16,31	6,10
<u>n-3 PUFA</u>				
C18:3n-3	3,72	2,24	20,22	8,05
C20:5n-3	8,34	6,76	21,65	9,49
C22:5n-3	3,58	2,57	21,94	9,76
C22:6n-3	3,48	2,85	22,46	10,82

Tab. 3-2. Variationskoeffizienten der PL n-6 PUFA und n-3 PUFA bei mehrmaliger Aufarbeitung von Poolproben an einem Versuchstag (Intraassay) und an verschiedenen Versuchstagen (Interassay)

	Intraassay (n=7)		Interassay (n=18)	
	mg/l (%)	Gew. % (%)	mg/l (%)	Gew. % (%)
<u>n-6 PUFA</u>				
C18:2n-6	2,88	1,12	3,18	1,20
C20:2n-6	5,80	5,33	4,90	3,77
C20:3n-6	2,98	0,78	3,59	1,88
C20:4n-6	3,40	1,24	4,15	2,40
<u>n-3 PUFA</u>				
C18:3n-3	7,65	6,35	8,97	8,83
C20:5n-3	4,29	2,45	4,53	3,55
C22:5n-3	3,40	1,51	5,23	3,65
C22:6n-3	3,83	1,94	4,82	3,34

3.2 Methode zur Vitaminanalytik

Unter Punkt 2.4.4. wurde die Methode zur Vitaminanalyse bereits beschrieben. Bei δ - und β,γ -Tocopherol wurde – abweichend zur sonst üblichen Methode – im UV-VIS-Bereich gemessen. Nicht nur α -Tocopherol war im Laufe des Untersuchungszeitraumes stark angestiegen sondern eben auch δ - und β,γ -Tocopherol. Die Konzentrationen waren dann im Fluoreszenz-Bereich so hoch, daß sie praktisch nicht mehr gemessen werden konnten. Das β - und γ -Tocopherol eluieren als gemeinsamer Peak. Da die Konzentration von β -Tocopherol jedoch vernachlässigbar klein ist, wird hier die Summe der beiden Tocopherol-Isomere vereinfacht als γ -Tocopherol bezeichnet.

Ein Beispiel für ein HPLC-Chromatogramm ist in Abb. 3-2 dargestellt. Ausgangsbasis waren hierfür 100 μ l Plasmavolumen eines Frühgeborenen

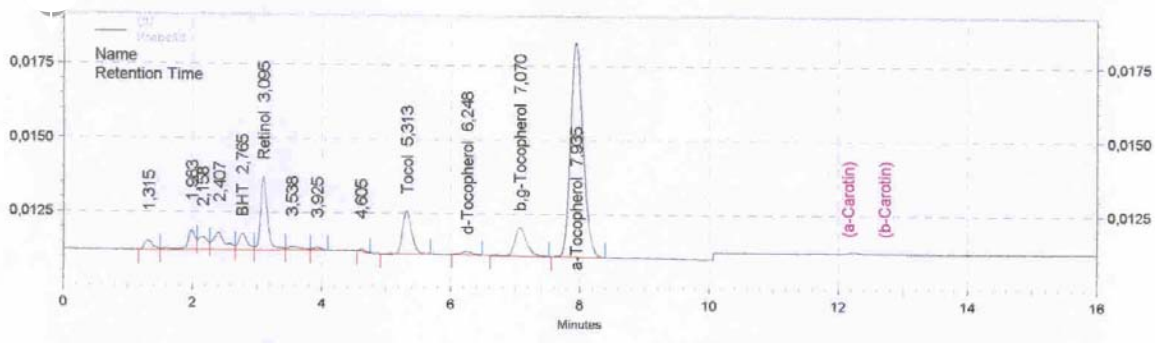


Abb. 3-2. Darstellung eines HPLC-Chromatogramms: Auftrennung von Retinol, Tocopherolisomere und Carotinisomere über UV/VIS-Detektion

3.3 Studienteilnehmer

3.3.1 Anzahl rekrutierter und ausgeschlossener Kinder

Für die Studie wurden insgesamt 15 Frühgeborenen rekrutiert. Der Zeitraum der Rekrutierung lag etwa bei einem Jahr (Februar 2000 bis Januar 2001). Von den 15 Kindern haben 12 die Studie vollständig durchlaufen. Drei wurden vorzeitig aus der Studie ausgeschlossen (Dropouts). Die Gründe hierfür sind Tabelle 3-3 zu entnehmen. Bei keinem der Kinder traten Nebenwirkungen bzw. Unverträglichkeiten gegen die getestete Fettemulsion auf. Die Auswertung erfolgte ohne die Dropouts.

Tab. 3-3. Anzahl der rekrutierten, sowie der aus der Studie ausgeschlossenen Kinder beider Gruppen

	Kontroll-Gruppe	MCT/LCT-Gruppe	Gesamt
Anzahl der rekrutierten Frühgeborenen	6	9	15
Dropout, wegen			
• Nichteinhaltung des Prüfplans	-	1	1
• Kontraindikation gg. weitere Verabreichung des Ernährungsregimes im Verlauf der Studie	-	1	1
• Falsche Randomisierung	-	1	1
Anzahl der abgeschlossenen Studienteilnehmer	6	6	12

3.3.2 Geburtsverlauf und demographische Daten der Studienteilnehmer

Die demographischen Daten und der Geburtsverlauf der Studienteilnehmer sind in Tab. 3-4 dargestellt. Es wurden keine signifikanten Gruppenunterschiede bei den untersuchten Parametern festgestellt. Keine der Mütter nahm regelmäßig Medikamente ein. Bei keiner der Schwangerschaften handelte es sich um Mehrlingsschwangerschaften. Weder traten Infektionen noch Präeklampsie bzw. Eklampsie während der Schwangerschaft auf.

Tab. 3-4. Klinische Charakteristika der Studienteilnehmer. Mittelwert \pm SD bzw. Anzahl der Patienten

	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Jungen/Mädchen	3/3	6/-
Entbindungsmodus (Vaginal/Seccio)	2/4	3/3
Vorzeitiger Blasensprung (ja/nein)	1/5	2/4
SGA/AGA/LGA	1/5/-	-/6/-
Geburtsanamnese:		
Gestationsalter (SSW)	33,2 \pm 1,0	31,4 \pm 1,7*
Gewicht (g)	1782 \pm 290	1573 \pm 170
Länge (cm)	41,3 \pm 2,9	39,8 \pm 1,0
Kopfumfang (cm)	29,8 \pm 1,0	28,7 \pm 1,8
Eingangsuntersuchung:		
Postnat. Alter (h)	32,2 \pm 12,6	37,0 \pm 6,9
Gewicht (g)	1780 \pm 298	1575 \pm 183
Länge (cm)	41,3 \pm 2,9	39,8 \pm 1,0
Kopfumfang (cm)	29,8 \pm 1,0	28,7 \pm 1,8

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen; * n=5

SGA=small for gestational age (<10.Perzentile); AGA=appropriate for gestational age (10.-90.Perzentile); LGA=large for gestational age (>90.Perzentile); SSW=Schwangerschaftswoche

3.3.3 Unerwünschte Ereignisse und Begleitmedikation

Als unerwünschte Ereignisse bezeichnet wurden alle im Rahmen dieser Studie beobachteten Befindlichkeitsstörungen, subjektiven und objektiven Krankheitssymptomen (einschließlich klinisch relevanter Laborwertveränderungen), interkurrenten Krankheiten und Unfällen und zwar unabhängig von einem möglichen ursächlichen Zusammenhang mit dem Prüfmuster. Zu den unerwünschten Ereignissen zählen unter anderem die sog. schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse. Diese wurden als solche Ereignisse definiert, bei denen Gewißheit oder der begründete Verdacht besteht, daß durch sie „das Leben bedroht oder die Gesundheit schwer oder dauernd geschädigt wird“. Das wären beispielsweise Ereignisse, bei denen die Möglichkeit besteht, daß sie den Tod zur Folge haben, lebensbedrohlich sind oder eine maligne Erkrankung verursachen, angeborene Mißbildungen hervorrufen, bleibende Schäden verursachen oder einer zusätzlichen ärztlichen Behandlung vorwiegend stationär bedürfen. Schwerwiegende unerwünschte

Ereignisse traten in keiner der beiden Gruppen auf. Sieben der Kinder hatten Gelbsucht. Bei fünf von ihnen wurde aus diesem Grund eine Fototherapie durchgeführt. Am Ende der Studie litten sechs unter einer mäßigen Anämie. Bei zwei Kindern trat eine Infektion auf, die in beiden Fällen mit Antibiotika behandelt wurde. Ein weiteres Kind erhielt ebenfalls Antibiotika; hier wurde jedoch eine prophylaktische Antibiotikatherapie wegen eines vorzeitigen Blasensprungs durchgeführt. Insgesamt mußten sechs der Kinder maschinell beatmet werden, drei in jeder Gruppe. Bei drei Kindern war die Ursache ein Atemnotsyndrom (IRDS). Die Beatmungsdauer lag zwischen eineinhalb und sieben Tagen. Ein Kind wurde wegen Apnoe (Ursache: hypnotische cerebrale Läsion) fünf Tage maschinell beatmet. Bei einem infektiösen Kinder verschlechterte sich der Zustand so, daß es ebenfalls beatmet werden mußte. Ein Kind litt unter rezidivierenden Apnoen und mußte sechs Tage lang beatmet werden. Die APGAR-Werte sind dem Anhang zu entnehmen (Tab. 7-3, siehe auch Tab. 7-4 bis 7-10).

3.3.4 Verträglichkeitskriterien

Hepatische Toleranz

Zur Überprüfung der hepatischen Toleranz war im Prüfplan die Messung verschiedener Leberwerte vorgesehen: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), γ -Glutamyl-Transferase (GGT), alkalische Phosphatase, gesamtes und konjugiertes Bilirubin. Ebenso sollten täglich ein Differenzialblutbild erstellt und das C-reaktive Protein (= CRP) bestimmt werden. Diese Parameter konnten nicht täglich bei allen Patienten überprüft werden. In den Tab. 7-11 und 7-12 sind die vorhandenen Meßergebnisse gezeigt. Die Datengrundlage ist lückenhaft, somit konnten keine weiteren statistischen Berechnungen durchgeführt werden.

Clearance der Lipidemulsion

Als Maß für die Clearance der Lipidemulsion wurden die Plasmalipidkonzentrationen (Triglyceride, Cholesterin, Phospholipide), freie Fettsäuren und β -Hydroxybutyrat zu Beginn und am Ende der Studie gemessen. Die Ergebnisse sind in Tab. 3-5 dargestellt.

Zu Studienbeginn unterschieden sich die beiden Gruppen nicht hinsichtlich ihrer Konzentrationen an Plasmalipiden, freien Fettsäuren und β -Hydroxybutyrat. Bis Studientag 8 stiegen die Konzentrationen der Triglyceride und Phospholipide ten-

denziell, die des Cholesterins signifikant in beiden Gruppen. Während die Gehalte an freien Fettsäuren in der Kontroll-Gruppe leicht stiegen, fielen sie in der MCT/LCT-Gruppe (beides nicht signifikant). Die Konzentrationen an β -Hydroxybutyrat waren an Studientag 8 signifikant niedriger in der Kontroll-Gruppe als zu Studienbeginn. Zu beiden Meßzeitpunkten gab es keine signifikant unterschiedlichen Gehalte zwischen den beiden Gruppen.

Tab. 3-5. Konzentrationen der Plasmalipide, freien Fettsäuren und β -Hydroxybutyrat der Studienteilnehmer an den Studientagen 1 und 8. Mittelwert (SA)

	Tag 1		Tag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Triglyceride [mmol/l]	0,68 (0,17)	0,72 (0,23)	1,18 (0,53)	0,67 (0,10)
Cholesterin [mmol/l]	2,12 (1,05)	2,30 (0,89)	3,37 (0,64) ^b	3,23 (0,83) ^a
Phosphlipide [mg/l]	1950,67 (352,60)	2084,67 (733,94)	2212,50 (329,92)	2240,83 (605,73)
Freie Fettsäuren [μ mol/l]	466,83 (118,51)	795,00 (446,61)	499,17 (145,23)	746,50 (337,48)
β -Hydroxybutyrat [mmol/l]	73,17 (14,16)	90,33 (63,46)	48,33 (8,24) ^b	53,00 (11,90)

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen; ^a $p \leq 0.01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b $p \leq 0.05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

3.4 Ernährung und Gewichtsentwicklung im Verlauf der Studie

3.4.1 Energie- und Nährstoffzufuhr während der Studienphase

Die parenterale und enterale Energie- und Nährstoffzufuhr wurde als Mittelwert über neun Studientage bezogen auf das Körpergewicht berechnet (Tab. 3-6). Die Einzeldaten sind dem Anhang zu entnehmen (Tab. 7-13). Sowohl in der Kontroll- als auch in der MCT/LCT-Gruppe wurden durchschnittlich 290 kJ/kg/d zugeführt. Der Anteil der enteralen Energiezufuhr an der Gesamtenergiezufuhr lag bei beiden Gruppen bei 14%. Die intravenöse Zufuhr an Energie, Aminosäuren, Fett und Glucose lag bei der Kontroll-Gruppe etwas höher, die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Die Nährstoffzufuhr unterschied sich nur unwesentlich, die beiden Gruppen waren in dieser Hinsicht gut vergleichbar.

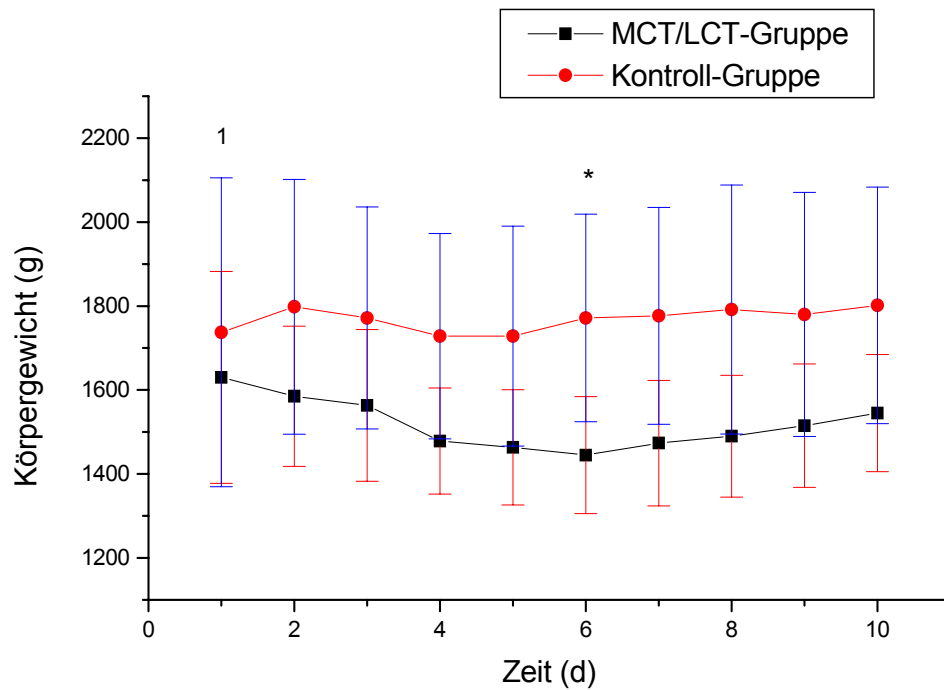
Tab. 3-6. Parenterale und enterale Ernährung der Studienteilnehmer gemittelt über die Tage (Studientag 1-9). Mittelwert \pm SA

	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Gesamte Energiezufuhr (kJ/kg/d)	289.64 \pm 115.24	289.57 \pm 120.42
Anteil enterale Energiezufuhr an Gesamtenergiezufuhr (%)	13.68 \pm 3.49	14.43 \pm 5.04
<u>Intravenöse Zufuhr</u>		
Energie (kJ/d)	453.95 \pm 164.78	378.90 \pm 137.11
Aminosäuren (ml/d)	47.80 \pm 22.36	39.57 \pm 18.57
Fett (ml/d)	19.13 \pm 9.67	15.76 \pm 7.94
Glucose (ml/d)	162.77 \pm 26.93	138.06 \pm 22.01
<u>Enterale Zufuhr</u>		
Energie (kJ/d)	69.89 \pm 30.40	62.03 \pm 29.72
Muttermilch (ml/d)	20.94 \pm 8.96	20.88 \pm 6.29
Zufuhr Gesamtfüssigkeit (ml/kg/d)	134.38 \pm 43.19	134.80 \pm 45.21

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen

3.4.2 Gewichtsverlauf während der Studienphase

Die Nährstoffzufuhr wurde bis einschließlich Studientag 9 komplett erfasst. Da sie möglicherweise das Gewicht von Tag 10 entscheidend mit beeinflusst, wurde der Gewichtsverlauf bis Tag 10 dargestellt. Zum Studieneintritt betrug bei der Kontroll-Gruppe das mittlere Körpergewicht 1780 g. Bei der MCT/LCT-Gruppe lag es bei 1575 g. Nach 10 Tagen betrug das durchschnittliche Gewicht der MCT/LCT-Gruppe 30 g weniger (1545 g), das der Kontroll-Gruppe stieg auf 1802 g. Der Gewichtsverlauf ist in Abbildung 3-3 graphisch dargestellt.

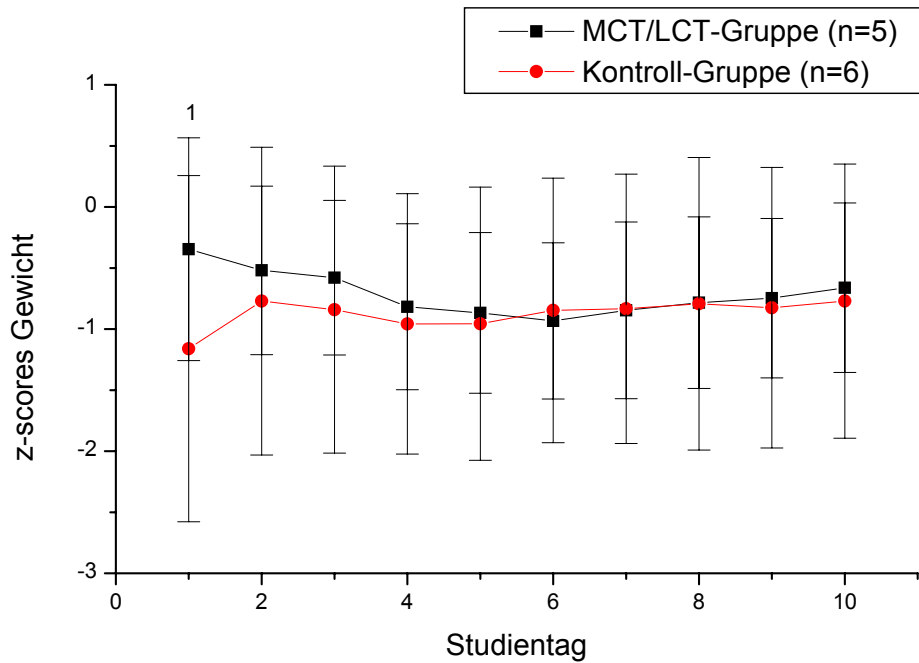


¹ MCT/LCT-Gruppe n=3, Kontroll-Gruppe n=4; * p<0.05

Abb. 3-3. Gewichtsverlauf der beiden Gruppen von Studientag 1 bis 10 (Mittelwerte und SA)

Tendenziell verliert die MCT/LCT-Gruppe mehr an Gewicht, lediglich an Tag 6 ist das Gewicht signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen.

Abbildung 3-4 zeigt die berechneten Z-Scores Gewicht im Verlauf der Studie. Die Werte gleichen sich allmählich an, es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.



¹ MCT/LCT-Gruppe n=3; Kontroll-Gruppe n=4

Abb. 3-4. Z-Scores Körpergewicht der zwei Gruppen zwischen Studientag 1 und 10 (Mittelwerte und SA)

3.5 Fettsäuregehalte der Präparate

Beide Emulsionen enthielten 20 % Fett. Während die Kontroll-Emulsion ausschließlich die in der Pädiatrie verwendeten LCT enthielten, bestand das Prüfpräparat aus einer Mischung von 50% LCT und 50% MCT. Aufgrund dieser Mischung war der Gehalt an langkettigen Fettsäuren in der MCT/LCT-Emulsion um die Hälfte geringer.

3.6 Fettsäurezusammensetzung von Plasma und Erythrozyten

3.6.1 Fettsäurekonzentrationen in den Plasmatriglyceriden

Die an den Tagen 1 und 8 ermittelten Fettsäurekonzentrationen in den Plasmatriglyceriden, sowie deren signifikanten Veränderungen während der einwöchigen Studienperiode sind in Tabelle 3-7 aufgeführt.

Tab. 3-7. Fettsäurekonzentrationen in den Plasmatriglyceriden an den Studientagen 1 und 8 [mg/l]. Mittelwert (SA)

	Tag 1		Tag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Σ SFA	105,07 (42,33)	101,06 (27,96)	151,69 (73,17)	87,36 (17,24)
C8:0	0,25 (0,14)	0,19 (0,03)	0,61 (0,97)	1,15 (1,21) ¹
C10:0	0,37 (0,21)	0,43 (0,14)	0,87 (1,36)	1,58 (0,98) ^b
C12:0	1,29 (0,56)	1,14 (0,17)	2,61 (1,28)	2,12 (0,75) ^b
C14:0	4,19 (1,70)	4,19 (0,92)	7,31 (4,72)	0,76 (3,80)
C16:0	83,11 (34,02)	83,24 (26,81)	120,63 (56,52)	66,44 (14,11)
C17:0	0,80 (0,18)	0,75 (0,24)	1,73 (0,73) ^b	0,95 (0,16) ¹
C18:0	14,92 (6,53)	11,01 (0,63)	16,95 (11,34)	9,37 (1,85)
C20:0	0,15 (0,05)	0,11 (0,02)	0,41 (0,76)	0,84 (1,76)
C22:0	n.d.	n.d.	0,27 (0,54)	0,02 (0,05)
C24:0	n.d.	n.d.	0,05 (0,13)	n.d.
Σ MUFA	113,37 (56,73)	121,69 (28,69)	159,57 (83,61)	91,17 (26,28)
C16:1n-7	20,79 (11,06)	25,02 (10,10)	15,85 (15,63)	11,91 (3,54) ^b
C18:1n-9	78,88 (39,44)	81,87 (17,52)	130,57 (69,60)	70,89 (19,00)
C18:1n-7	12,61 (6,91)	13,45 (3,45)	10,41 (5,05)	6,77 (2,11) ^b
C20:1n-9	0,60 (0,30)	0,66 (0,17)	0,81 (0,55)	0,51 (0,23)
C22:1n-9	0,11 (0,17)	0,05 (0,13)	0,11 (0,07)	0,58 (1,36)
C24:1n-9	n.d.	n.d.	0,02 (0,05)	0,31 (0,75)
Σ PUFA	21,17 (9,62)	23,85 (9,98)	195,65 (153,46)	81,73 (34,56)
C20:3n-9	0,82 (0,36)	1,01 (0,19)	0,94 (0,55)	0,85 (0,38)
n-6 PUFA				
C18:2n-6	10,11 (4,13)	10,78 (6,02)	167,33 (142,15) ^b	63,00 (26,28) ^a
C18:3n-6	0,26 (0,12)	0,30 (0,17)	4,15 (2,96) ^b	2,25 (0,87) ^a
C20:2n-6	0,39 (0,14)	0,39 (0,09)	1,25 (0,59) ^b	0,91 (0,47) ^b
C20:3n-6	1,95 (0,68)	1,87 (0,40)	2,93 (1,04)	2,33 (0,66)
C20:4n-6	3,85 (2,42)	4,23 (1,98)	6,59 (2,60)	6,25 (3,19)
C22:2n-6	n.d.	n.d.	0,01 (0,02)	n.d.
C22:4n-6	0,43 (0,33)	0,63 (0,24)	0,76 (0,38)	0,64 (0,31)
C22:5n-6	1,11 (0,78)	1,55 (0,51)	0,91 (0,49)	0,93 (0,49)
n-3 PUFA				
C18:3n-3	0,10 (0,07)	0,10 (0,09)	9,08 (11,78)	2,69 (1,50) ^a
C20:3n-3	n.d.	n.d.	0,07 (0,08)	0,07 (0,11)
C20:5n-3	0,04 (0,07)	0,08 (0,10)	0,44 (0,24) ^a	0,35 (0,22) ^b
C22:5n-3	0,05 (0,11)	0,07 (0,07)	0,25 (0,23)	0,16 (0,16)
C22:6n-3	2,07 (2,21)	2,85 (1,64)	1,11 (0,50)	1,31 (0,77)
Σ LCP	20,81 (9,49)	23,45 (9,74)	15,08 (5,45)	13,80 (6,52)
Σ n-6 LCP	7,07 (4,03)	8,35 (2,49)	11,82 (3,88)	10,99 (5,06)
Σ n-3 LCP	2,81 (2,09)	3,31 (2,25)	2,32 (1,16)	1,96 (1,18)
Σ FS alle	241,52 (113,76)	247,86 (72,73)	508,89 (338,65) ^a	262,29 (85,18) ^a

¹ p<0.05 MCT/LCT vs. Kontrolle; ^a p<0.01 Tag 8 vs.Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b p<0.05 Tag 8 vs.Tag 1 innerhalb einer Gruppe

Tabelle 3-8 zeigt die zwischen den beiden Gruppen signifikant unterschiedlichen Fettsäuren an Tag 1 und 8.

Tab. 3-8. Signifikante Unterschiede von Fettsäuregehalten in Plasma-PL, Plasma-TG, sowie Erythrozyten-PC und –PE zwischen den Gruppen an den Studientagen 1 und 8 (Mann-Whitney U Test, p<0.05)

		Tag 1	Tag 8
<u>Fettsäurekonzentrationen in Plasma-TG [mg/l]</u>	Kontrolle > MCT/LCT		C17:0
	MCT/LCT > Kontrolle		C8:0
<u>Prozentuale Fettsäuregehalte in Plasma-TG [%]</u>	Kontrolle > MCT/LCT	C20:0	
	MCT/LCT > Kontrolle		C8:0 C10:0 C20:2n-6 C22:6n-3
<u>Fettsäurekonzentrationen in Plasma-PL [mg/l]</u>	Kontrolle > MCT/LCT		C18:3n-6
	MCT/LCT > Kontrolle		
<u>Prozentuale Fettsäuregehalte in Plasma-PL [%]</u>	Kontrolle > MCT/LCT		C18:2n-6 C18:3n-6
	MCT/LCT > Kontrolle		Σ MUFA
<u>Prozentuale Fettsäuregehalte in Erythrozyten-PC [%]</u>	Kontrolle > MCT/LCT		C18:2n-6 C18:3n-6 C20:2n-6 C18:3n-3
	MCT/LCT > Kontrolle		
<u>Prozentuale Fettsäuregehalte in Erythrozyten-PE [%]</u>	Kontrolle > MCT/LCT		C18:2n-6 C18:3n-3
	MCT/LCT > Kontrolle		

In Tabelle 3-9 sind die Veränderungen über die einwöchige Studienphase dargestellt. Im Unterschied zu den Phospholipiden wurden bei den Triglyceriden auch die mittelkettigen Fettsäuren (C8:0, C10:0, C12:0) analysiert, um einen möglichen Einfluß der MCT/LCT-Emulsion feststellen zu können.

Tab. 3-9. Fettsäurekonzentrationen in Plasma-TG und PL: Veränderungen von Studientag 1-8 [mg/l]. Mittelwert (SA)

	Plasma-Triglyceride		Plasma-Phospholipide	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Summe SFA	+46,61 (89,18)	-13,70 (35,39)	+272,62 (124,93)	+216,99 (63,56)
Summe MUFA	+46,20 (108,77)	-30,27 (43,21)	+112,13 (61,40)	+104,33 (30,13)
Summe PUFA	+174,48 (158,67)	+57,89 (35,39)	+214,15 (72,81)	+173,05 (50,50)
C20:3n-9	+0,12 (0,60)	-0,15 (0,31)	-2,71 (1,74)	-3,34 (2,76)
<u>n-6 PUFA</u>				
C18:2n-6	+157,23 (143,89)	+52,22 (26,38)	+199,53 (56,84)	+165,84 (33,36)
C18:3n-6	+3,89 (2,99)	+1,95 (0,86)	+2,20 (0,93)	+1,11 (0,30) ¹
C20:2n-6	+0,85 (0,59)	+0,52 (0,45)	+3,37 (0,94)	+3,35 (0,78)
C20:3n-6	+0,98 (1,35)	+0,46 (0,92)	+2,99 (5,72)	+3,45 (3,52)
C20:4n-6	+2,74 (3,90)	+2,02 (3,88)	-8,40 (22,70)	-11,90 (32,76)
C22:2n-6	+0,01 (0,02)	0 (0)	+0,68 (0,75)	+0,91 (0,24)
C22:4n-6	+0,16 (0,59)	+0,01 (0,43)	+1,35 (1,24)	+0,68 (1,27)
C22:5n-6	-0,20 (0,97)	-0,63 (0,70)	+2,59 (3,07)	+2,27 (1,86)
<u>n-3 PUFA</u>				
C18:3n-3	+8,98 (11,83)	+2,59 (1,49)	+1,74 (0,80)	+1,55 (0,57)
C20:5n-3	+0,40 (0,24)	+0,27 (0,26)	+1,79 (0,61)	+1,13 (0,40)
C22:5n3	+0,21 (0,26)	+0,09 (0,18)	+2,67 (0,74)	+2,41 (0,36)
C22:6n-3	-0,95 (2,25)	-1,53 (1,84)	+6,27 (5,70)	+5,77 (6,66)
Summe LCP	-5,73 (11,19)	-9,65 (12,14)	+10,67 (36,13)	+4,56 (38,60)
Summe n-6 LCP	+4,75 (6,29)	+2,64 (5,64)	+2,58 (29,69)	-1,25 (33,38)
Summe n-3 LCP	-0,49 (2,45)	-1,35 (2,61)	+10,81 (6,38)	+9,15 (7,16)
Summe Fettsäuren	+267,38 (341,31)	+14,43 (108,81)	+602,25 (254,00)	+497,16 (134,78)

¹ p≤0,05 MCT/LCT-Gruppe vs. Kontrolle

Die Konzentrationen ausgewählter Fettsäuren der n-6 und n-3 PUFA sind für die Studientage 1 und 8 in Abb. 3-5 und 3-6 grafisch dargestellt.

Studienbeginn

An Studientag 1 unterschieden sich die gemessenen Fettsäuren in den Plasmatriglyceriden zwischen den Gruppen nicht. Die Summe der SFA lagen in sehr ähnlichen Bereichen. Die Summe der MUFA lagen in der MCT/LCT-Gruppe höher (nicht signifikant), was hauptsächlich in den höheren Werten der C18:1n-9 begründet lag. Sowohl die Summe der PUFA, als auch der LCT waren in der Kontroll-Gruppe tendenziell niedriger.

Veränderungen während der Studienperiode

Die Summe der SFA sank in der MCT/LCT-Gruppe, während sie in der Kontroll-Gruppe stieg (nicht signifikant). Zwar stiegen die MCFS in der MCT/LCT-Gruppe, aber lediglich der Anstieg der C10:0 und der C12:0 waren signifikant. Die C14:0, C16:0, C17:0 und C18:0 stiegen tendenziell stärker in der Kontroll-Gruppe. Hier war aber lediglich der Anstieg der C17:0 signifikant. An Studientag 8 waren in der MCT/LCT-Gruppe die Konzentrationen der C8:0 signifikant höher, die der C17:0 signifikant niedriger. Ähnlich den SFA, stieg auch die Summe der MUFA in der Kontroll-Gruppe, während sie in der MCT/LCT-Gruppe sank (nichts signifikant).

Die Abnahme der Konzentrationen an C16:1n-7 und C18:1n-7 waren statistisch signifikant in der MCT/LCT-Gruppe. Die Summe der PUFA stieg in der Kontroll-Gruppe tendenziell stärker als in der MCT/LCT-Gruppe. Bei den n-6 PUFA stiegen die C18:2n-6, die C18:3n-6 und die C20:2n-6 in beiden Gruppen signifikant an. In der Gruppe der n-3 PUFA stieg die C18:3n-3 in der MCT/LCT-Gruppe signifikant an. Bei den n-3 LCP stieg die C20:5n-3 in beiden Gruppen signifikant an. Die C22:6n-3 sank in beiden Gruppen tendenziell.

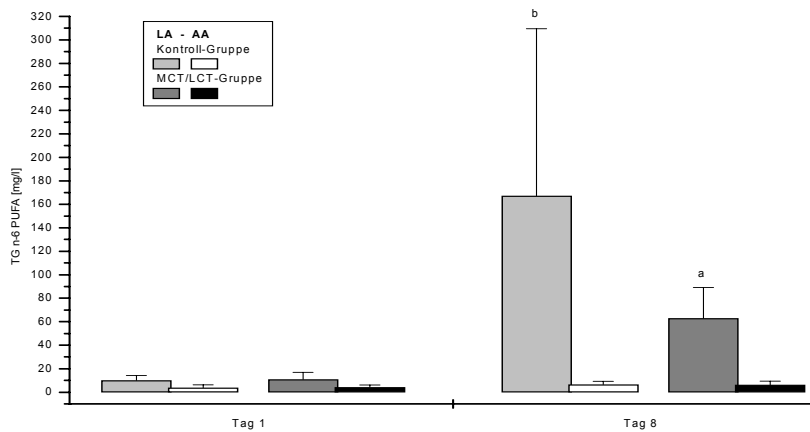


Abb. 3-5 Konzentrationen an LA und AA in den Plasma-TG an den Studientagen 1 und 8 [mg/l].
a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; b: $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

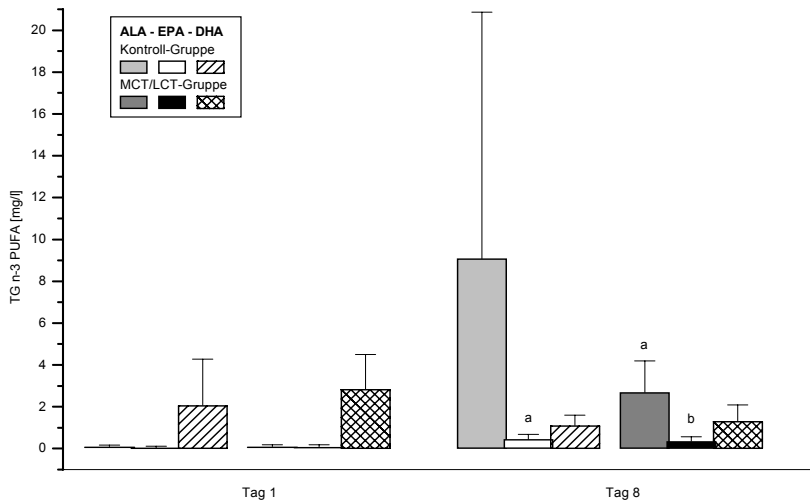


Abb. 3-6. Konzentrationen an ALA, EPA und DHA in den Plasma-TG an den Studientagen 1 und 8 [mg/l].
a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; b: $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

3.6.2 Prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Plasmatriglyceride

Die prozentuale Fettsäuregehalte in den Plasmatriglyceriden sind in Tab. 3-10 dargestellt.

Tab. 3-10. Prozentuale Fettsäurezusammensetzung in den Plasmatriglyceriden an den Studientagen 1 und 8 [Gew. %]. Mittelwert (SA)

	Tag 1		Tag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Σ SFA	43,86 (4,02)	40,68 (2,70)	31,45 (4,27) ^a	34,09 (3,52) ^a
C8:0	0,11 (0,03)	0,08 (0,03)	0,10 (0,12)	0,50 (0,60) ^{1,b}
C10:0	0,15 (0,06)	0,19 (0,09)	0,15 (0,17)	0,66 (0,51) ^{1,b}
C12:0	0,56 (0,13)	0,48 (0,10)	0,61 (0,27) ^b	0,89 (0,43)
C14:0	1,76 (0,22)	1,71 (0,24)	1,58 (0,62)	1,94 (0,34)
C16:0	34,69 (4,61)	33,21 (3,21)	25,21 (3,71) ^b	25,84 (2,31) ^a
C17:0	0,36 (0,10)	0,31 (0,07)	0,37 (0,07)	0,37 (0,05)
C18:0	6,16 (1,33)	4,66 (1,14)	3,34 (0,54) ^a	3,65 (0,37)
C20:0	0,06 (0,01)	0,04 (0,01) ¹	0,06 (0,07)	0,23 (0,45)
C22:0	n.d.	n.d.	0,03 (0,06)	0,01 (0,01)
C24:0	n.d.	n.d.	0,01 (0,01)	n.d.
Σ MUFA	46,22 (7,62)	49,32 (4,67)	32,39 (4,96) ^a	34,88 (2,57) ^a
C16:1n-7	8,55 (1,74)	9,84 (2,02)	3,02 (2,26) ^b	4,55 (0,33) ^a
C18:1n-9	32,13 (5,90)	33,56 (4,84)	26,43 (3,02) ^b	27,24 (2,33) ^b
C18:1n-7	5,07 (1,12)	5,47 (0,72)	2,18 (0,43) ^a	2,57 (0,27) ^a
C20:1n-9	0,25 (0,07)	0,28 (0,09)	0,16 (0,04) ^a	0,19 (0,05) ^b
C22:1n-9	0,05 (0,08)	0,02 (0,05)	0,02 (0,02)	0,16 (0,35)
Σ PUFA	9,07 (3,48)	9,39 (2,83)	35,63 (8,36) ^b	30,27 (3,97) ^a
C20:3n-9	0,35 (0,12)	0,42 (0,11)	0,25 (0,19)	0,32 (0,10) ^a
n-6 PUFA				
C18:2n-6	4,37 (1,85)	4,12 (1,67)	29,57 (9,22) ^a	23,37 (3,29) ^a
C18:3n-6	0,12 (0,06)	0,11 (0,06)	1,0 (0,57) ^b	0,85 (0,13) ^a
C20:2n-6	0,17 (0,02)	0,16 (0,02)	0,26 (0,06) ^b	0,33 (0,07) ^{1,a}
C20:3n-6	0,84 (0,22)	0,79 (0,27)	0,69 (0,28)	0,89 (0,09)
C20:4n-6	1,68 (1,10)	1,69 (0,73)	1,64 (0,87)	2,28 (0,49)
C22:2n-6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4n-6	0,20 (0,13)	0,25 (0,07)	0,18 (0,08)	0,24 (0,05)
C22:5n-6	0,47 (0,24)	0,62 (0,12)	0,23 (0,15)	0,34 (0,09) ^a
n-3 PUFA				
C18:3n-3	0,04 (0,03)	0,04 (0,03)	1,39 (1,11) ^b	0,97 (0,25) ^a
C20:3n-3	n.d.	n.d.	0,01 (0,01)	0,03 (0,03)
C20:5n-3	0,02 (0,02)	0,03 (0,04)	0,11 (0,05) ^b	0,13 (0,04) ^b
C22:5n-3	0,01 (0,03)	0,03 (0,03)	0,04 (0,03)	0,05 (0,04)
C22:6n-3	0,78 (0,56)	1,13 (0,64)	0,27 (0,14)	0,47 (0,13) ¹
Σ LCP	4,59 (1,94)	5,33 (1,55)	3,68 (1,71)	5,08 (0,87)
Σ n-6 LCP	3,03 (1,45)	3,39 (0,79)	2,88 (1,28)	4,05 (0,68)
Σ n-3 LCP	1,20 (0,52)	1,35 (0,90)	0,55 (0,27)	0,71 (0,20)

¹ p<0.05 MCT/LCT vs. Kontrolle; ^a p<0.01 Tag 8 vs.Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b p<0.05 Tag 8 vs.Tag 1 innerhalb einer Gruppe

Die signifikanten Unterschiede der Fettsäuregehalte im Überblick sind Tab. 3-8 (Seite 48) zu entnehmen. Die Veränderungen zwischen Studientag 1 und 8 sind in der Tab. 3-11 dargestellt.

**Tab. 3-11. Prozentuale Fettsäurezusammensetzung in Plasma-TG und PL:
Veränderungen von Studientag 1-8 [Gew. %]. Mittelwert (SA)**

	Plasma-Triglyceride		Plasma-Phospholipide	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Summe SFA	-12,40 (7,59)	-6,59 (3,27)	-2,22 (1,37)	-1,98 (0,91)
C8:0	0 (0,12)	0,42 (0,62) ¹	n.d.	n.d.
C10:0	0 (0,22)	0,47 (0,46) ¹	n.d.	n.d.
Summe MUFA	-13,83 (7,62)	-14,44 (4,57)	+0,77 (3,14)	+0,84 (2,12)
Summe PUFA	+26,57 (8,98)	+20,88 (3,65)	+1,31 (2,71)	+1,07 (2,89)
C20:3n-9	-0,10 (0,11)	-0,10 (0,06)	-0,45 (0,24)	-0,59 (0,42)
<u>n-6 PUFA</u>				
C18:2n-6	+25,20 (8,99)	+19,26 (2,60)	+11,92 (1,55)	+11,05 (1,16)
C18:3n-6	+0,88 (0,58)	+0,74 (0,13)	+0,15 (0,07)	+0,06 (0,02) ¹
C20:2n-6	+0,09 (0,06)	+0,17 (0,06)	+0,14 (0,03)	+0,17 (0,07)
C20:3n-6	-0,16 (0,22)	+0,10 (0,28)	-0,92 (0,72)	-0,77 (0,48)
C20:4n-6	-0,05 (1,48)	+0,59 (0,94)	-8,53 (2,97)	-7,98 (3,15)
C22:2n-6	0 (0)	0 (0)	+0,01 (0,09)	+0,06 (0,03)
C22:4n-6	-0,02 (0,18)	-0,01 (0,09)	-0,16 (0,09)	-0,19 (0,12)
C22:5n-6	-0,24 (0,23)	0,28 (0,14)	-0,12 (0,26)	-0,14 (0,20)
<u>n-3 PUFA</u>				
C18:3n-3	+1,34 (1,12)	+0,93 (0,24)	+0,12 (0,07)	+0,13 (0,05)
C20:5n-3	+0,09 (0,05)	+0,10 (0,07)	+0,10 (0,05)	+0,05 (0,06)
C22:5n3	+0,03 (0,04)	+0,03 (0,05)	+0,17 (0,05)	+0,16 (0,03)
C22:6n-3	-0,51 (0,57)	-0,66 (0,14)	-1,08 (0,63)	-0,87 (0,61)
Summe LCP	-0,91 (2,48)	-0,24 (1,89)	-10,88 (3,89)	-10,17 (3,27)
Summe n-6 LCP	-0,64 (0,57)	-0,64 (0,88)	-9,58 (3,36)	-8,84 (3,02)
Summe n-3 LCP	-0,16 (1,92)	-0,66 (1,09)	-0,85 (0,69)	-0,73 (0,69)

¹ p<0,05 MCT/LCT-Gruppe vs. Kontrolle

Studienbeginn

Lediglich die Gehalte an C22:0 waren zu Studienbeginn unterschiedlich in den beiden Gruppen. Alle übrigen Fettsäuren wiesen vergleichbare Werte auf.

Veränderungen während der Studienperiode

Die Summe der SFA fiel in beiden Gruppen signifikant ab, was wohl durch den starken Abfall der C16:0 verursacht wurde (Tab. 3-10). In der Kontroll-Gruppe konnten wir zudem einen Abfall der C18:0 feststellen. Die Gehalte an C8:0 und C10:0 stiegen in der MCT/LCT-Gruppe signifikant an und unterschieden sich zu Studienende auch signifikant von denen der Kontroll-Gruppe. In der Kontroll-Gruppe war ein Anstieg der C12:0 feststellbar. Die Gehalte der MUFAs, mit Ausnahme der C22:1n-9, fielen bis Studienende ab. Auch bei den prozentualen Gehalten der Triglyceridfettsäuren stiegen die Summe der PUFAs und bei den n-6 PUFA die C18:2n-6 (s. Abb. 3-7), die C18:3n-6 und die C20:2n-6 in beiden Gruppen signifikant an. Dieser Trend entsprach den Ergebnissen bei den absoluten Konzentrationen. Die Gehalte an C20:2n-6 lagen zu Studienende in der MCT/LCT-Gruppe signifikant höher als in der Kontroll-Gruppe. In der Gruppe der n-3 PUFA stieg die C18:3n-3, analog zu den Ergebnissen der Absolutangaben, in beiden Gruppen signifikant an (s. Abb. 3-8). Die prozentualen Gehalte der C20:5n-3 stie-

gen signifikant an, die Gehalte der C22:6n-3 fielen tendenziell. Zu Studienende lagen die Gehalte der DHA in der MCT/LCT-Gruppe signifikant höher. Die Gehalte der LCP fielen in beiden Gruppen tendenziell ab, bei der Summe der n-3 LCP war der Abfall in der Kontroll-Gruppe signifikant.

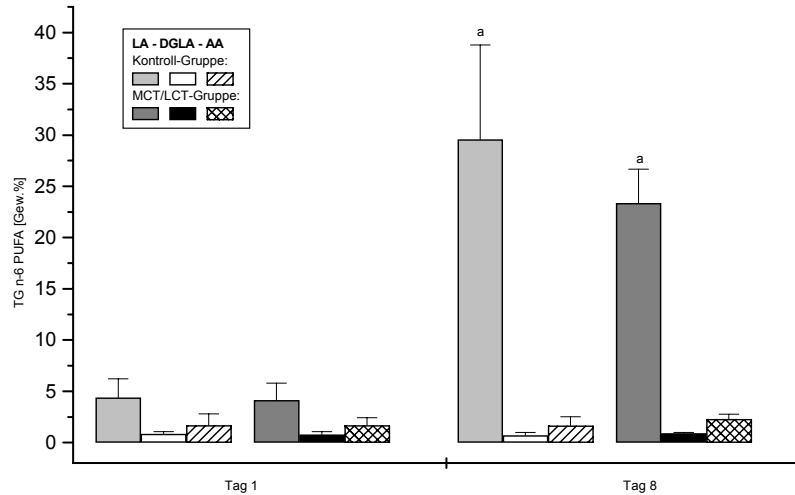


Abb. 3-7. Prozentuale Gehalte an LA, DGLA und AA in den Plasma-TG an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].
a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

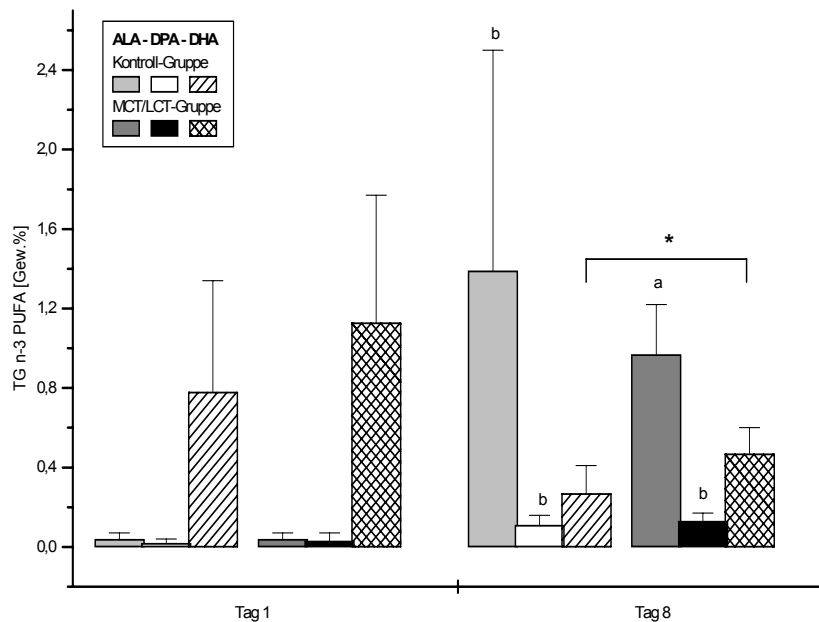


Abb. 3-8. Prozentuale Gehalte an ALA, DPA und DHA in den Plasma-TG an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].
a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe
b: $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe
*: $p \leq 0,05$ MCT/LCT vs. Kontrolle

3.6.3 Fettsäurekonzentrationen in den Plasmaphospholipiden

Die ermittelten Fettsäurekonzentrationen in den Plasmaphospholipiden für Tag 1 und Tag 8 der beiden Gruppen sind in Tab. 3-12 aufgeführt. Hieraus ersichtlich sind die signifikanten Veränderungen über die einwöchige Studienphase hinweg, sowie die Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tab. 3-12. Fettsäurekonzentrationen in den Plasmaphospholipiden an den Studientagen 1 und 8 [mg/l]. Mittelwert (SA)

	Tag 1		Tag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Σ SFA	351,86 (106,74)	365,11 (67,09)	624,49 (113,52) ^a	582,10 (72,06) ^a
C14:0	1,73 (0,52)	2,02 (0,37)	3,15 (0,81) ^a	3,29 (0,42) ^a
C16:0	219,92 (64,42)	229,10 (34,31)	382,61 (69,27) ^a	349,73 (42,94) ^a
C17:0	1,95 (0,45)	2,00 (0,47)	3,57 (0,53) ^a	3,37 (0,44) ^a
C18:0	101,75 (32,75)	105,23 (25,91)	196,15 (35,83) ^a	192,54 (24,79) ^a
C20:0	5,65 (2,24)	6,09 (1,50)	7,15 (2,77)	6,81 (1,00)
C22:0	10,90 (4,24)	10,69 (3,00)	17,56 (6,77)	13,99 (2,39) ^b
C24:0	9,93 (3,98)	9,97 (3,20)	14,29 (5,38)	12,37 (2,46) ^a
Σ MUFA	125,25 (47,04)	136,71 (17,24)	237,37 (44,41) ^a	241,03 (29,38) ^a
C16:1n-7	9,74 (4,66)	10,51 (1,47)	7,90 (1,72)	6,94 (1,13)
C18:1n-9	73,26 (28,89)	77,10 (13,44)	177,73 (37,48) ^a	178,16 (20,33) ^a
C18:1n-7	21,31 (7,10)	24,56 (3,95)	22,12 (3,45)	23,69 (5,42)
C20:1n-9	0,69 (0,38)	0,80 (0,15)	1,94 (0,43) ^a	2,04 (0,24) ^a
C22:1n-9	1,72 (1,07)	1,41 (0,88)	2,89 (0,95) ^b	3,05 (1,03) ^a
C24:1n-9	18,50 (6,62)	22,26 (4,42)	24,55 (9,94)	27,01 (5,02) ^b
Σ PUFA	231,59 (70,63)	245,81 (70,26)	445,74 (78,43) ^a	418,87 (68,14) ^a
C20:3n-9	4,73 (2,45)	5,71 (3,16)	2,01 (0,83) ^b	2,37 (0,54) ^b
n-6 PUFA				
C18:2n-6	46,84 (15,85)	40,64 (11,87)	246,37 (59,87) ^a	206,48 (37,83) ^a
C18:3n-6	0,43 (0,35)	0,53 (0,17)	2,63 (0,78) ^a	1,64 (0,33) ^{1,a}
C20:2n-6	1,89 (0,71)	1,74 (0,29)	5,26 (1,13) ^a	5,09 (0,81) ^a
C20:3n-6	19,90 (7,92)	20,05 (5,93)	22,89 (6,67)	23,50 (4,71)
C20:4n-6	121,31 (34,49)	136,63 (44,97)	112,91 (20,12)	124,73 (21,55) ^a
C22:2n-6	0,85 (0,82)	0,32 (0,07)	1,53 (0,46)	1,23 (0,24) ^a
C22:4n-6	3,91 (1,09)	4,70 (1,40)	5,26 (1,18) ^b	5,38 (0,69) ^b
C22:5n-6	5,04 (2,26)	5,85 (1,44)	7,63 (1,53)	8,12 (0,78)
n-3 PUFA				
C18:3n-3	0,21 (0,45)	0,00 (0,00)	1,95 (0,54) ^a	1,55 (0,57) ^a
C20:5n-3	0,77 (0,50)	0,94 (0,61)	2,57 (0,90) ^a	2,07 (0,38) ^a
C22:5n-3	0,54 (0,24)	0,66 (0,45)	3,21 (0,92) ^a	3,07 (0,64) ^a
C22:6n-3	24,29 (8,63)	26,91 (11,73)	30,56 (8,15) ^b	32,67 (6,37) ^b
Σ LCP	184,11 (56,37)	204,64 (62,53)	194,78 (38,24)	209,20 (34,35)
Σ n-6 LCP	152,90 (45,50)	169,29 (51,04)	155,48 (28,69)	168,05 (27,74)
Σ n-3 LCP	26,48 (9,63)	29,63 (12,81)	37,29 (10,08) ^a	38,78 (7,19) ^b
Σ FS alle	710,82 (219,71)	750,56 (143,31)	1313,10 (280,11)^a	1247,72 (184,71)^a

¹ p<0.05 MCT vs. Kontrolle; ^a p<0.01 Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b p<0.05 Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

Tab 3-8 (Seite 48) stellt die signifikant unterschiedlichen Fettsäuren zwischen den Gruppen an den beiden gemessenen Tagen im Überblick dar. Der Tabelle 3-9 (Seite 49) sind die Differenzen ausgewählter Fettsäuren zwischen Tag 1 und Tag 8 zu entnehmen. Die Abb. 3-9 und 3-10 zeigen wichtige Vertreter der n-6 und n-3 PUFAs für die Studientage 1 und 8 grafisch.

Studienbeginn

Zwischen den beiden Gruppen gab es zu Beginn der Studie keine signifikanten Unterschiede der Fettsäurekonzentrationen in den Plasmaphospholipiden.

Veränderungen während der Studienperiode

Die Summen der SFA bzw. MUFA stiegen in beiden Gruppen signifikant an, in der Kontroll-Gruppe tendenziell etwas höher als in der MCT/LCT-Gruppe. Dies war offenbar auf einen stärkeren Zuwachs der C16:0 bzw. C18:1n-9 zurückzuführen. Die Konzentrationen der SFA und MUFA unterschieden sich jedoch nicht signifikant an Tag 8.

Von den PUFA nahmen in beiden Gruppen die Konzentrationen an C20:3n-9 ab. Bei den PUFAs der n-6 Reihe stiegen die C18:2n-6, C18:3n-6 und C20:2n-6 in beiden Gruppen an. An Studientag 8 unterschieden sich die Konzentrationen an C18:3n-6 zwischen den beiden Gruppen. Während die C22:2n-6 und die C22:5n-6 lediglich in der MCT/LCT-Gruppe anstieg, nahm die Konzentration der C22:4n-6 in der Kontroll-Gruppe zu. Die C20:4n-6 nahm in beiden Gruppen tendenziell ab. Bei der C18:3n-3 war ein hoch signifikanter Anstieg in beiden Gruppen meßbar. Auf Seiten der n-3 LCP stiegen die C20:5n-3 und die C22:5n-3 ebenfalls hoch signifikant an. In der Kontroll-Gruppe nahm die C22:6n-3 signifikant zu. Die Summe der n-3 LCP stieg in beiden Gruppen signifikant an.

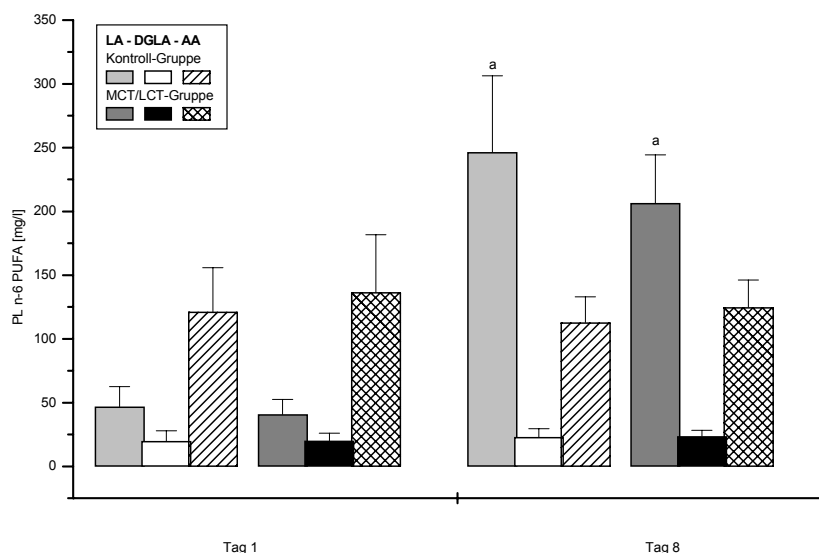


Abb. 3-9. Konzentrationen an LA, DGLA und AA in den Plasma-PL an den Studientagen 1 und 8 [mg/l].

a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

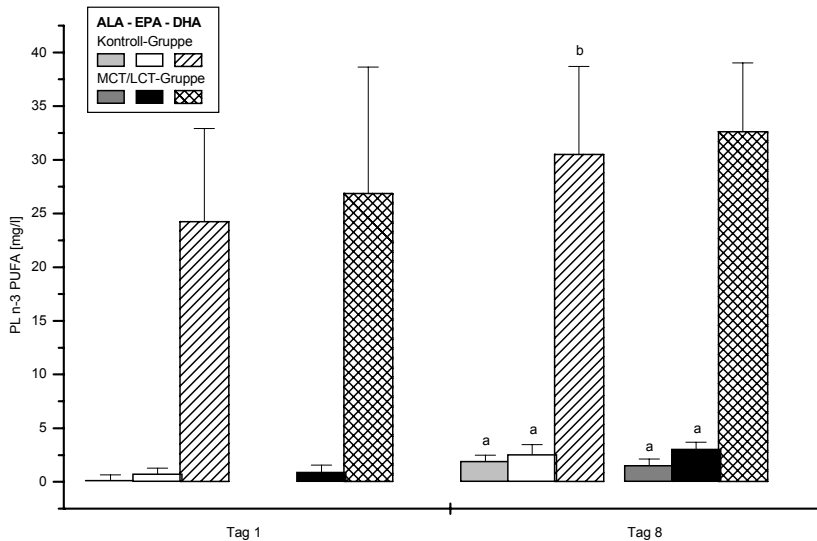


Abb. 3-10. Konzentrationen an ALA, EPA und DHA in den Plasma-PL an den Studientagen 1 und 8 [mg/l].
 a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; b: $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

3.6.4 Prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Plasma-phospholipide

Zusätzlich zu den absoluten wurden auch die prozentualen Fettsäuregehalte der Plasma-PL berechnet. Dadurch war ein Vergleich mit der prozentualen Fettsäurezusammensetzung der Plasma-TG und der Ery-PL möglich. Die ermittelten prozentualen Fettsäuregehalte in Plasma-PL sind in Tabelle 3-13 angegeben, deren signifikanten Veränderungen über die Zeit in Tabelle 3-11 (Seite 52).

Tab. 3-13. Prozentuale Fettsäurezusammensetzung in den Plasma-phospholipiden an den Studientagen 1 und 8 [Gew. %]. Mittelwert (SA)

	Tag 1		Tag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Σ SFA	49,74 (1,52)	48,67 (0,95)	47,52 (0,71) ^b	46,69 (0,91) ^a
C14:0	0,25 (0,04)	0,28 (0,06)	0,24 (0,03)	0,26 (0,02)
C16:0	31,30 (1,76)	30,70 (1,14)	29,13 (1,17) ^b	28,06 (0,56) ^a
C17:0	0,29 (0,05)	0,27 (0,05)	0,27 (0,02)	0,27 (0,01)
C18:0	14,28 (1,00)	13,92 (0,79)	14,93 (0,49)	15,45 (0,55) ^a
C20:0	0,77 (0,16)	0,81 (0,12)	0,54 (0,17) ^b	0,55 (0,08) ^a
C22:0	1,50 (0,19)	1,41 (0,24)	1,33 (0,41)	1,12 (0,15) ^b
C24:0	1,37 (0,18)	1,31 (0,25)	1,08 (0,32)	0,99 (0,12) ^b
Σ MUFA	17,27 (2,70)	18,50 (2,70)	18,04 (0,71)	19,34 (0,72) ¹
C16:1n-7	1,35 (0,37)	1,46 (0,37)	0,60 (0,08) ^a	0,56 (0,08)
C18:1n-9	10,06 (1,90)	10,49 (2,27)	13,48 (1,46) ^b	14,32 (0,73) ^a
C18:1n-7	2,97 (0,32)	3,30 (0,31)	1,71 (0,28) ^a	1,89 (0,23) ^a
C20:1n-9	0,09 (0,05)	0,11 (0,01)	0,15 (0,01) ^b	0,16 (0,02) ^a
C22:1n-9	0,26 (0,15)	0,18 (0,08)	0,22 (0,06)	0,25 (0,09)
C24:1n-9	2,54 (0,38)	2,97 (0,28)	1,87 (0,64) ^b	2,16 (0,27) ^a
Σ PUFA	32,68 (1,96)	32,40 (3,42)	33,99 (1,14)	33,47 (1,09)
n-6 PUFA	0,62 (0,31)	0,79 (0,46)	0,16 (0,10) ^a	0,19 (0,06) ^b
C18:2n-6	6,64 (0,86)	5,41 (1,24)	18,57 (2,09) ^a	16,47 (1,16) ^{2,a}
C18:3n-6	0,05 (0,04)	0,07 (0,03)	0,20 (0,04) ^a	0,13 (0,02) ^{2,a}
C20:2n-6	0,26 (0,05)	0,24 (0,05)	0,40 (0,04) ^a	0,41 (0,04) ^a
C20:3n-6	2,7 (0,56)	2,64 (0,44)	1,78 (0,56) ^b	1,88 (0,23) ^b
C20:4n-6	17,34 (1,72)	17,97 (2,89)	8,81 (2,10) ^a	9,99 (0,85) ^a
C22:2n-6	0,10 (0,09)	0,04 (0,01)	0,11 (0,02)	0,10 (0,02) ^a
C22:4n-6	0,56 (0,10)	0,62 (0,11)	0,40 (0,06) ^a	0,43 (0,02) ^b
C22:5n-6	0,71 (0,28)	0,79 (0,20)	0,59 (0,09)	0,65 (0,04)
n-3 PUFA				
C18:3n-3	0,02 (0,05)	0,00 (0,00)	0,15 (0,03) ^a	0,13 (0,05) ^a
C20:3n-3	0,11 (0,06)	0,15 (0,04)	0,07 (0,03) ^b	0,08 (0,02) ^a
C20:5n-3	0,10 (0,06)	0,12 (0,06)	0,20 (0,06) ^a	0,17 (0,02) ^a
C22:5n-3	0,08 (0,03)	0,08 (0,04)	0,24 (0,04) ^a	0,25 (0,03) ^a
C22:6n-3	3,39 (0,50)	3,48 (0,86)	2,32 (0,36) ^a	2,61 (0,28) ^b
Σ LCP	25,96 (2,05)	26,92 (3,33)	15,08 (3,09) ^a	16,75 (1,24) ^a
Σ n-6 LCP	21,66 (1,82)	22,30 (2,77)	12,09 (2,68) ^a	13,45 (1,02) ^a
Σ n-3 LCP	3,68 (0,56)	3,84 (0,95)	2,83 (0,47) ^b	3,10 (0,32) ^b

¹ p≤0,01 MCT vs. Kontrolle; ² p≤0,05 MCT vs. Kontrolle; ^a p<0,01 Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b p<0,05 Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

In Tabelle 3-8 (Seite 48) sind die Fettsäuren aufgeführt, die sich an Studientag 1 bzw. 8 signifikant zwischen den beiden Gruppen unterscheiden. Die Abb. 3-11 und 3-12 zeigen wichtige Vertreter der n-6 und n-3 PUFAs für die Studientage 1 und 8 grafisch.

Studienbeginn

Es gab keine statistischen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen zu Beginn der Studie. Sämtliche Fettsäuren lagen in sehr ähnlichen Bereichen.

Veränderungen während der Studienperiode

Die Summe der SFA fiel in beiden Gruppen während der Studie ab. Die Summe der MUFA stieg dagegen leicht an (nicht signifikant). An Studientag 8 unterschieden sich die Gehalte der MUFAs signifikant zwischen den Gruppen. C18:1n-9 und C20:1n-9 stiegen signifikant in beiden Gruppen an. Dagegen sanken C16:1n-7,

C18:1n-7 und C24:1n-9 in beiden Gruppen signifikant ab. Von den PUFAs fiel die C20:3n-9 ab, während C18:2n-6, C18:3n-6 und C20:2n-6 signifikant anstiegen. An Tag 8 waren die prozentualen Gehalte der C18:2n-6 und der C18:3n-6 signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen. Tendenziell verhielten sich die prozentualen Gehalte der C18-PUFA wie die absoluten Konzentrationen. Bei den n-6 LCP nahmen die C20:3n-6, C20:4n-6 und C22:4n-6 in beiden Gruppen ab. Die C22:2n-6 stieg in der MCT/LCT-Gruppe signifikant an. Unterschiedlich zu den absoluten Konzentrationen war jedoch die Summe der n-6 LCP der MCT/LCT-Gruppe. Die prozentualen Gehalte dieser Summe fielen, die Absolutwerte dagegen blieben in etwa gleich. Bei den n-3 LCP stiegen die C20:5n-3 (in der MCT/LCT-Gruppe) und die C22:5n-3 (beide Gruppen). Die C20:3n-3 und die C22:6n-3 fielen in beiden Gruppen ab. Die Summe der n-3 LCP sank ebenfalls in beiden Gruppen. Somit waren hier die prozentualen Gehalte vom Trend genau entgegengesetzt zu den absoluten Werten. An Studientag 8 gab es zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede bei den prozentualen Gehalten der n-3 LCP.

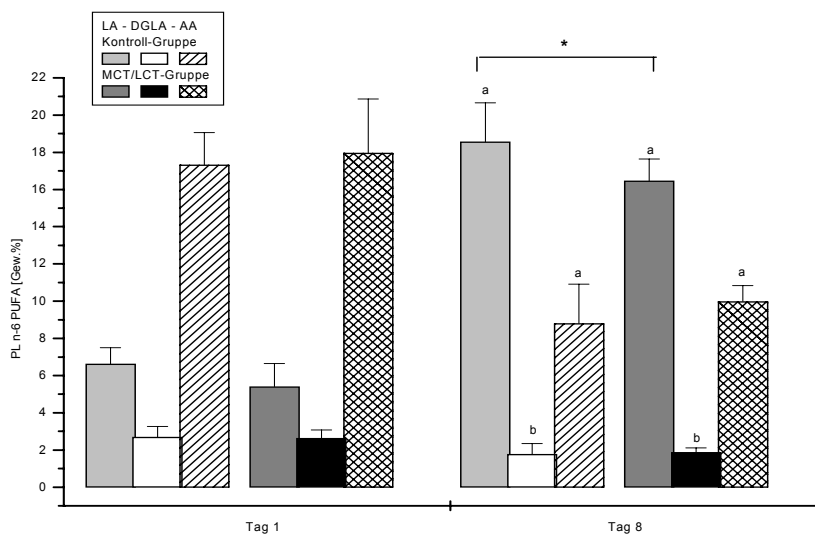


Abb. 3-11. Prozentuale Gehalte an LA, DGLA und AA in den Plasma-PL an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].

a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; b: $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; *: $p \leq 0,05$ MCT/LCT-Gruppe vs. Kontrolle

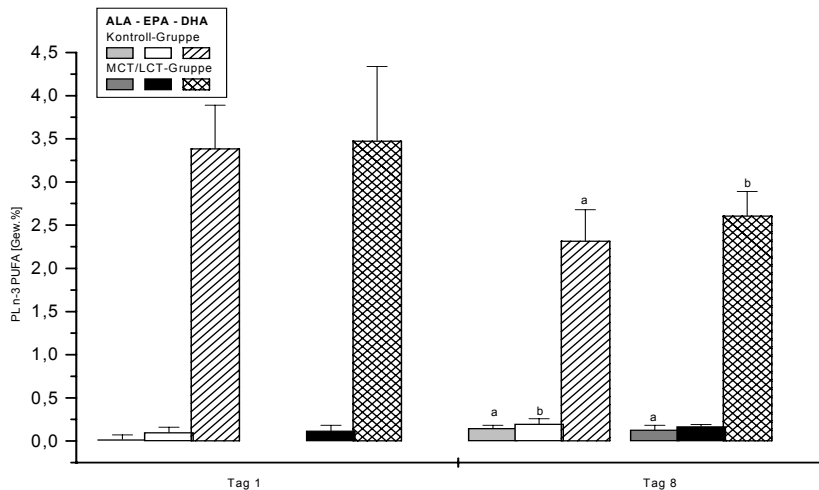


Abb. 3-12. Prozentuale Gehalte an ALA, EPA und DHA in den Plasma-PL an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].
a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; b: $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

3.6.5 Erythrozyten-Phosphatidylcholin

Die prozentualen Fettsäuregehalte in der PC-Fraktion der Erythrozyten und ihre Veränderungen über die Studienperiode sind in den Tab. 3-14 und 3-15 dargestellt.

Tab. 3-8 (Seite 48) gibt einen Überblick über die signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen an Studientag 1 und 8. Die Abb. 3-13 und 3-14 zeigen die Gehalte einzelner PUFAs der n-3- und n-6-Reihe zu Beginn und Ende der Studie.

Studienbeginn

Zu Beginn der Studie lagen die Gehalte sämtlicher Fettsäuren in sehr engen Bereichen, es wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

Veränderungen während der Studienperiode

In beiden Gruppen war ein Abfall der SFAs feststellbar, der jedoch nur in der Kontroll-Gruppe signifikant war. Die Gehalte an C14:0 und C17:0 fielen in beiden Gruppen signifikant ab, bei den Gehalten an C20:0 war ein signifikanter Anstieg feststellbar. Die Summe der MUFAs veränderte sich kaum. In der Kontroll-Gruppe fielen die Gehalte an C16:1n-7 und C18:1n-7, die Gehalte an C20:1n-9 stiegen bis zum Studientag 8. In der MCT/LCT-Gruppe war ebenfalls ein signifikanter Abfall an C16:1n-7 und C18:1n-7 feststellbar, außerdem stiegen die Gehalte an C18:1n-9.

Tab. 3-14. Prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Erythrozyten-PC an den Studientagen 1 und 8 [Gew. %]. Mittelwert (SA)

	Tag 1		Tag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=5)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Σ SFA	49,51 (1,97)	49,40 (2,27)	47,21 (0,94) ^a	47,86 (1,50)
C14:0	0,52 (0,09)	0,49 (0,11)	0,38 (0,02) ^b	0,41 (0,11) ^a
C16:0	39,89 (2,03)	39,29 (1,72)	37,21 (1,16) ^a	36,95 (1,58) ^a
C17:0	0,27 (0,04)	0,29 (0,06)	0,27 (0,06)	0,28 (0,02)
C18:0	7,94 (0,60)	7,99 (0,44)	8,28 (0,73)	8,63 (0,32)
C20:0	0,10 (0,03)	0,09 (0,01)	0,13 (0,04) ^b	0,16 (0,05) ^b
C22:0	0,33 (0,32)	0,40 (0,29)	0,30 (0,22)	0,41 (0,34)
C24:0	0,47 (0,11)	0,86 (0,91)	0,65 (0,59)	1,02 (0,72)
Σ MUFA	21,68 (2,30)	21,65 (1,10)	20,23 (0,92)	21,64 (1,22)
C16:1n-7	1,57 (0,37)	1,56 (0,23)	0,85 (0,14) ^b	0,81 (0,15) ^a
C18:1n-9	15,50 (1,92)	15,59 (1,21)	15,50 (0,73)	16,71 (1,22) ^b
C18:1n-7	3,49 (0,25)	3,43 (0,43)	2,73 (0,23) ^a	2,98 (0,20) ^b
C20:1n-9	0,14 (0,04)	0,09 (0,10)	0,21 (0,05) ^a	0,12 (0,09)
C22:1n-9	0,04 (0,02)	0,03 (0,02)	0,04 (0,01)	0,05 (0,04)
C24:1n-9	0,88 (0,75)	0,92 (0,77)	0,86 (0,55)	0,95 (0,74)
Σ PUFA	28,25 (3,32)	28,26 (2,80)	32,01 (1,35) ^a	29,87 (2,51) ^b
C20:3n-9	0,35 (0,12)	0,25 (0,04)	0,24 (0,07) ^b	0,25 (0,09)
n-6 PUFA				
C18:2n-6	5,53 (2,81)	6,20 (0,97)	17,59 (1,25) ^a	14,42 (1,07) ^{2,a}
C18:3n-6	0,11 (0,01)	0,10 (0,02)	0,22 (0,04) ^a	0,14 (0,02) ^{2,b}
C20:2n-6	0,23 (0,04)	0,21 (0,05)	0,50 (0,10) ^a	0,38 (0,08) ^{1,a}
C20:3n-6	2,43 (0,14)	2,28 (0,47)	1,63 (0,14) ^a	1,81 hhh(0,36) ^a
C20:4n-6	15,67 (1,25)	11,66 (6,53)	9,09 (0,63) ^a	9,73 (1,08)
C22:2n-6	0,04 (0,01)	0,03 (0,03)	0,07 (0,02) ^a	0,03 (0,03)
C22:4n-6	0,79 (0,08)	0,79 (0,16)	0,56 (0,07) ^a	0,50 (0,27) ^b
C22:5n-6	0,81 (0,77)	1,22 (1,74)	0,35 (0,11)	0,92 (1,42)
n-3 PUFA				
C18:3n-3	0,01 (0,01)	0,01 (0,01)	0,15 (0,05) ^a	0,10 (0,01) ^{1,a}
C20:3n-3	0,13 (0,03)	3,55 (7,66)	0,11 (0,01) ^a	0,07 (0,06)
C20:5n-3	0,10 (0,03)	0,07 (0,05)	0,17 (0,03) ^a	0,14 (0,03)
C22:5n-3	0,10 (0,04)	0,08 (0,05)	0,15 (0,01) ^b	0,13 (0,03) ^b
C22:6n-3	1,93 (0,39)	1,83 (0,48)	1,16 (0,14) ^a	1,22 (0,34) ^a
Σ LCP	22,59 (1,72)	21,96 (2,43)	14,05 (0,64) ^a	15,20 (2,35) ^a
Σ n-6 LCP	19,98 (1,51)	19,63 (1,99)	12,21 (0,63) ^a	13,39 (2,09) ^a
Σ n-3 LCP	2,27 (0,46)	2,08 (0,53)	1,59 (0,14) ^a	1,56 (0,34) ^b

¹ p<0.05 MCT/LCT vs. Kontrolle; ² p<0.01 MCT/LCT vs. Kontrolle; ^a p<0.01 Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b p<0.05 Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

Tab. 3-15. Prozentuale Fettsäurezusammensetzung in Erythrozyten-PC und -PE: Veränderungen von Studientag 1-8 [Gew. %]. Mittelwert (SA)

	Erythrozyten-PC		Erythrozyten-PE	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=5)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=5)
Summe SFA	-2,30 (1,33)	-1,67 (1,91)	+0,13 (0,58)	-0,43 (2,41)
Summe MUFA	-1,45 (1,41)	-0,32 (1,10)	+0,98 (0,61)	+1,24 (0,74)
Summe PUFA	+3,76 (2,24)	+2,05 (1,49)	-1,27 (0,62)	-0,49 (3,47)
C20:3n-9	-0,10 (0,07)	-0,03 (0,06)	-0,25 (0,11)	-0,14 (0,10)
<u>n-6 PUFA</u>				
C18:2n-6	+12,05 (2,49)	+8,44 (1,42) ¹	+2,27 (0,39)	+1,44 (0,37) ¹
C18:3n-6	+0,12 (0,05)	+0,04 (0,03) ¹	+0,03 (0,03)	-0,04 (0,09)
C20:2n-6	+0,28 (0,13)	+0,19 (0,08)	+0,18 (0,08)	+0,10 (0,03)
C20:3n-6	-0,80 (0,18)	-0,43 (0,20) ¹	-0,14 (0,10)	-0,02 (0,13)
C20:4n-6	-6,58 (1,10)	-5,32 (1,30)	-2,14 (0,50)	-1,13 (1,74)
C22:2n-6	+0,03 (0,01)	+0,02 (0,02)	+0,03 (0,03)	-0,02 (0,04)
C22:4n-6	-0,24 (0,12)	-0,31 (0,24)	-0,55 (0,19)	-0,34 (0,70)
C22:5n-6	-0,46 (0,85)	-0,19 (0,21)	-0,29 (0,18)	-0,11 (0,28)
<u>n-3 PUFA</u>				
C18:3n-3	+0,14 (0,04)	+0,10 (0,01)	+0,07 (0,01)	+0,05 (0,01)
C20:5n-3	+0,08 (0,04)	+0,07 (0,06)	+0,08 (0,04)	+0,03 (0,07)
C22:5n3	+0,05 (0,03)	+0,06 (0,05)	+0,17 (0,07)	+0,09 (0,10)
C22:6n-3	-0,78 (0,27)	-0,55 (0,21)	-0,74 (0,42)	-0,49 (0,91)
Summe LCP	-8,55 (1,69)	-6,54 (1,27)	-3,65 (0,61)	-1,95 (3,68)
Summe n-6 LCP	-7,77 (1,49)	-6,05 (1,01)	-2,92 (0,31)	-1,52 (2,56)
Summe n-3 LCP	-0,67 (0,34)	-0,46 (0,27)	-0,49 (0,43)	-0,28 (1,07)

¹ p≤0,01 MCT/LCT-Gruppe vs. Kontrolle

Die Summe der PUFAs stieg in beiden Gruppen signifikant an. Die C20:3n-9 fiel in der Kontroll-Gruppe signifikant ab, während sie in der MCT/LCT-Gruppe unverändert blieb. Aus der Reihe der n-6 PUFAs waren an Studientag 8 die Gehalte an C18:2n-6 (s. Abb. 3-13), C18:3n-6 und C20:2n-6 in beiden Gruppen signifikant höher als zu Beginn der Studie. Zudem waren die Gehalte der n-6-FS in der Kontroll-Gruppe signifikant höher als in der MCT/LCT-Gruppe. Der Abfall der Gehalte an C20:3n-6 und C22:4n-6 war in beiden Gruppen signifikant, an C20:4n-6 nur in der Kontroll-Gruppe. Während in der MCT/LCT-Gruppe die Gehalte an C22:2n-6 unverändert blieben, stiegen sie in der Kontroll-Gruppe signifikant an. Bei den n-3 PUFAs stiegen die Gehalte an C18:3n-3 signifikant an, an Studientag 8 wies die Kontroll-Gruppe signifikant höhere Gehalte auf als die MCT/LCT-Gruppe (s. Abb. 3-14). Das Ansteigen bei der C20:5n-3 war lediglich in der Kontroll-Gruppe, im Falle der C22:5n-3 bei beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. Die Gehalte der C22:6n-3 fielen hingegen in beiden Gruppen signifikant ab. Bei der Summe der LCP, sowohl der n-6 als auch der n-3 Reihe, war ein signifikantes Absinken in beiden Gruppen feststellbar.

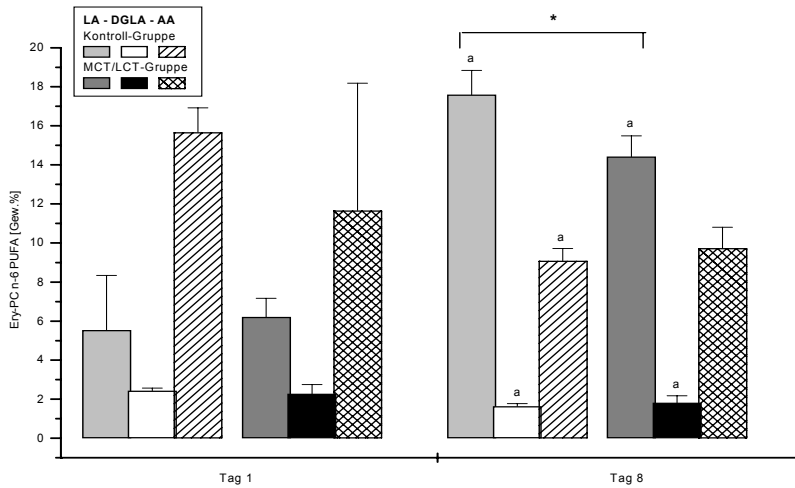


Abb. 3-13. Prozentuale Gehalte an LA, DGLA und AA in der PC-Fraktion der Erythrozyten an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].
 a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; * $p \leq 0,01$ MCT/LCT vs. Kontrolle

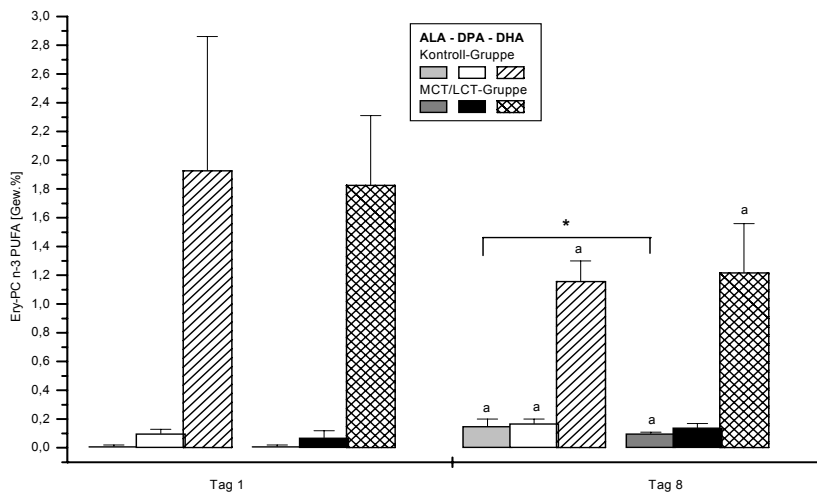


Abb. 3-14. Prozentuale Gehalte an ALA, DPA und DHA in der PC-Fraktion der Erythrozyten an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].
 a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; * $p \leq 0,05$ MCT/LCT vs. Kontrolle

3.6.6 Erythrozyten-Phosphatidylethanolamin

Die prozentualen Fettsäuregehalte in der PE-Fraktion der Erythrozyten sind in Tab. 3-16 dargestellt.

Tab. 3-16. Prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Erythrozyten-PE der beiden Gruppen an den Studientagen 1 und 8 [Gew. %].
Mittelwert (SA)

	Tag 1		Tag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Σ SFA	28,82 (1,23)	28,99 (2,37)	28,95 (1,23)	29,02 (2,34)
C14:0	0,19 (0,04)	0,21 (0,09)	0,24 (0,07)	0,27 (0,16)
C16:0	20,70 (1,34)	20,65 (1,98)	19,96 (1,30) ^b	20,38 (2,17)
C17:0	0,22 (0,03)	0,25 (0,09)	0,24 (0,05)	0,24 (0,03)
C18:0	7,45 (0,45)	7,59 (0,86)	8,13 (0,52)	7,76 (0,44)
C20:0	0,10 (0,01)	0,10 (0,02)	0,15 (0,03) ^a	0,17 (0,05)
C22:0	0,06 (0,03)	0,15 (0,21)	0,09 (0,09)	0,12 (0,10)
C24:0	0,10 (0,07)	0,04 (0,04)	0,14 (0,16)	0,08 (0,09)
Σ MUFA	14,98 (1,36)	12,43 (6,17)	15,95 (1,12) ^b	16,35 (1,53) ^b
C16:1n-7	0,42 (0,07)	0,43 (0,10)	0,33 (0,03)	0,36 (0,04)
C18:1n-9	12,62 (1,30)	12,57 (1,23)	13,64 (1,01) ^a	14,07 (1,46) ^a
C18:1n-7	1,42 (0,11)	1,30 (0,11)	1,33 (0,11) ^b	1,30 (0,15)
C20:1n-9	0,33 (0,05)	0,19 (0,19)	0,40 (0,09) ^a	0,26 (0,22)
C22:1n-9	0,07 (0,02)	0,07 (0,03)	0,06 (0,03)	0,08 (0,06)
C24:1n-9	0,10 (0,09)	0,35 (0,59)	0,18 (0,26)	0,27 (0,38)
Σ PUFA	55,23 (1,06)	54,62 (3,44)	53,96 (0,83) ^a	53,39 (3,06)
C20:3n-9	1,33 (0,26)	1,06 (0,26)	1,09 (0,18) ^a	1,08 (0,45)
Σ n-6 PUFA				
C18:2n-6	1,96 (0,24)	2,10 (0,47)	4,24 (0,35) ^a	3,43 (0,34) ^{1,a}
C18:3n-6	0,10 (0,02)	0,15 (0,06)	0,13 (0,02) ^b	0,11 (0,06)
C20:2n-6	0,17 (0,04)	0,19 (0,06)	0,35 (0,06) ^a	0,28 (0,07) ^a
C20:3n-6	1,86 (0,29)	1,85 (0,53)	1,72 (0,28) ^b	1,77 (0,57)
C20:4n-6	28,48 (1,43)	28,79 (1,70)	26,35 (1,15) ^a	27,29 (1,69)
C22:2n-6	0,06 (0,03)	0,08 (0,02)	0,10 (0,06)	0,06 (0,04)
C22:4n-6	9,40 (0,83)	9,13 (1,07)	8,85 (0,87) ^a	8,71 (0,49)
C22:5n-6	2,87 (0,56)	2,46 (0,20)	2,58 (0,47) ^a	2,36 (0,21)
Σ n-3 PUFA				
C18:3n-3	0,01 (0,00)	0,01 (0,01)	0,08 (0,01) ^a	0,06 (0,01) ^{2,a}
C20:3n-3	0,16 (0,08)	0,08 (0,09)	0,17 (0,05)	0,18 (0,09)
C20:5n-3	0,09 (0,03)	0,13 (0,09)	0,17 (0,05) ^b	0,15 (0,05)
C22:5n-3	0,57 (0,14)	0,60 (0,17)	0,73 (0,14) ^a	0,66 (0,11)
C22:6n-3	8,16 (1,25)	7,99 (1,56)	7,42 (0,98) ^a	7,26 (1,02)
Σ LCP	53,16 (0,94)	52,36 (3,70)	49,52 (0,83) ^a	49,79 (2,75)
Σ n-6 LCP	41,15 (1,64)	42,51 (1,98)	39,94 (1,52) ^a	40,46 (2,27)
Σ n-3 LCP	8,98 (1,31)	8,80 (1,76)	8,49 (1,12) ^b	8,25 (1,11)

1 p≤0,01 MCT/LCT-Gruppe vs. Kontrolle; 2 p≤0,05 MCT/LCT-Gruppe vs. Kontrolle; ^a p<0,01 Tag 8 vs.Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b p<0,05 Tag 8 vs.Tag 1 innerhalb einer Gruppe

Tab. 3-8 (Seite 48) zeigt die signifikanten Unterschiede der beiden Gruppen im Überblick. In Tab. 3-15 (Seite 61) sind die Veränderungen der einzelnen Fettsäuren zwischen Tag 1 und 8, sowie deren signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, zu sehen. Die Gehalte an LA, DGLA, AA, sowie ALA und EPA zeigen die Abb. 3-15 und 3-16.

Studienbeginn

Zu Beginn der Studien wurden keine statistischen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt.

Veränderungen während der Studienperiode

Die Summe der SFA blieb in beiden Gruppen etwa unverändert. In der Kontroll-Gruppe kam es zu einem signifikanten Abfall der C16:0 und einem Anstieg der C20:0. Die Summe der MUFAs stieg in beiden Gruppen leicht an, was wohl in

dem signifikanten Anstieg der C18:1n-9 begründet lag. In der Kontroll-Gruppe stieg auch die C20:1n-9 an, die C16:1n-9 und C18:1n-7 fielen dagegen. Bei der Summe der PUFA war in der MCT/LCT-Gruppe ein tendenzieller, in der Kontroll-Gruppe ein signifikanter Abfall feststellbar. Die C20:3n-9 fiel während der 8-tägigen Studienperiode in der Kontroll-Gruppe signifikant ab, in der MCT/LCT-Gruppe nur tendenziell. Die Gehalte an C18:2n-6 stiegen in beiden Gruppen signifikant an, in der Kontroll-Gruppe jedoch stärker. An Tag 8 waren die Gehalte an LA zwischen den Gruppen signifikant unterschiedlich. Ein Anstieg der Gehalte von C18:3n-6 war in der Kontroll-Gruppe, von C20:2n-6 in beiden Gruppen feststellbar. Bei C20:3n-6 und C20:4n-6 kam es zu einem Abfall, der jedoch lediglich in der Kontroll-Gruppe signifikant war. Wiederum in der Kontroll-Gruppe war ein signifikanter Abfall an C22:4n-6 und C22:5n-6 feststellbar. Bei den n-3 PUFA stieg die C18:3n-3 in beiden Gruppen signifikant an, in der Kontroll-Gruppe jedoch stärker. Wie auch bei der LA waren die Gehalte der ALA an Tag 8 zwischen den beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. In der MCT/LCT-Gruppe war ein Anstieg der C20:3n-3 feststellbar. In der Kontroll-Gruppe stiegen die Gehalte an C20:5n-3 und C22:5n-3. Die C22:6n-3 fiel bis zum Tag 8 in beiden Gruppen ab, in der Kontroll-Gruppe war der Abfall signifikant zu Tag 1. Die LCP fielen in der MCT/LCT-Gruppe tendenziell ab. In der Kontroll-Gruppe sanken sie signifikant, wobei sowohl bei den n-6 als auch bei den n-3 LCP ein signifikantes Abfallen bis Tag 8 feststellbar war.

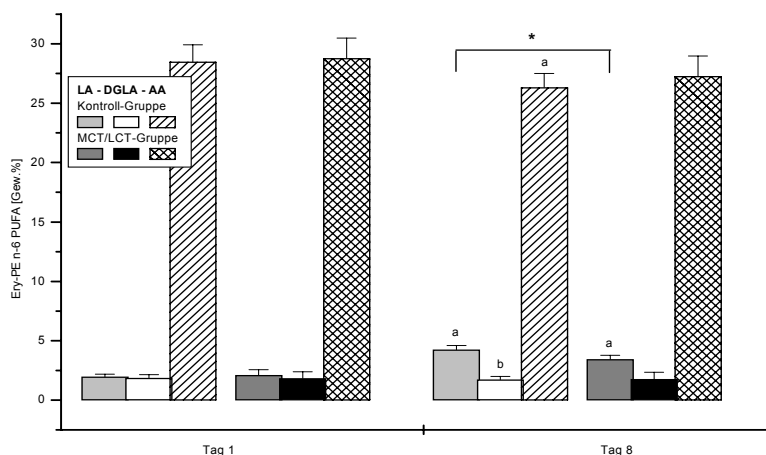


Abb. 3-15. Prozentuale Gehalte an LA, DGLA und AA in der PE-Fraktion der Erythrozyten an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].

a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; b: $p \leq 0,05$ Tag 8

vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe * $p \leq 0,01$ MCT/LCT vs Kontrolle

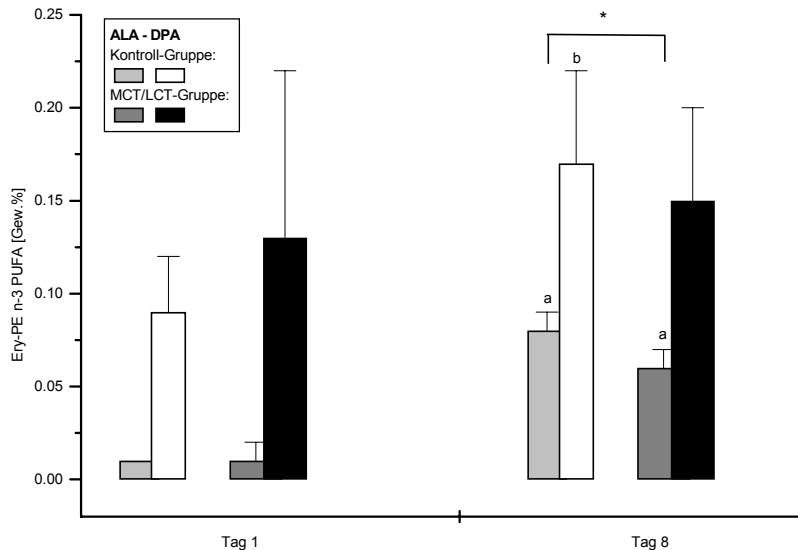


Abb. 3-16. Prozentuale Gehalte an ALA und DPA in der PE-Fraktion der Erythrozyten an den Studientagen 1 und 8 [Gew.%].
 a: $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; b: $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe * $p \leq 0,05$ MCT/LCT vs. Kontrolle

3.6.7 Korrelation der Fettsäuregehalte in den Plasma-TG , Plasma-PL und Erythrozyten-PL bei Studienende

Für die an Studientag 8 ermittelten prozentualen Gehalte ausgewählter FS der verschiedenen Fraktionen (Plasma-TG, Plasma-PL, Ery-PC, Ery-PE) wurden Spearman-Korrelationskoeffizienten errechnet. Die Koeffizienten sind in Tab.3-17 dargestellt.

In der Gruppe der n-6 PUFA bestand bei den n-6 LCP eine signifikante Korrelation zwischen den Plasma-TG und -PL, den Plasma-TG und Ery-PC, sowie zwischen Plasma-PC und Ery-PE. Der Zusammenhang zwischen Plasma-TG und -PL war sowohl bezüglich der LA, DGLA, als auch AA signifikant. Dagegen ließ sich zwischen Plasma-TG und Ery-PC und auch zwischen Plasma-PL und Ery-PE lediglich eine signifikante Korrelation für LA und AA finden. Bei der Betrachtung Plasma-TG vs. Ery-PE ergab sich für die AA eine signifikante Korrelation, bei Plasma-PL vs. Ery-PE für die LA. Zwischen Ery-PC und -PE korrelierten die Fettsäuren LA und DGLA sehr stark.

In der Gruppe der n-3 PUFA war der Zusammenhang einzelner Fettsäuren zwischen den Fraktionen erheblich schwächer. Zwischen Plasma-TG und -PL ließ sich für die DHA eine signifikante Korrelation finden, während zwischen den Frak-

tionen Plasma-TG und Ery-PC, sowie auch Plasma-TG und Ery-PE keine signifikanten Zusammenhänge feststellbar waren. Für ALA und EPA bestanden Korrelationen zwischen Plasma-PL und Ery-PC, zwischen Plasma-PI und Ery-PE korrelierte lediglich die ALA. Der stärkste Zusammenhang fand sich zwischen Ery-PC und Ery-PE, nämlich für ALA, DHA und n-3 LCP.

Tab. 3-17. Spearman-Korrelationskoeffizienten einzelner Fettsäuren für die Korrelationen zwischen Plasma-TG, Plasma-PL, Ery-PC und Ery-PE. Korrelationskoeffizient (Signifikanzniveau)

	Plasma-TG vs. Plasma-PL	Plasma-TG vs. Ery-PC	Plasma-TG vs. Ery-PE	Plasma-PL vs. Ery-PC	Plasma-PL vs. Ery-PE	Ery-PC vs. Ery-PE
<u>n-6 PUFA</u>						
LA	0,734 (0,007)	0,722 (0,008)	0,536 (0,073)	0,830 (0,001)	0,708 (0,010)	0,807 (0,002)
DGLA	0,606 (0,037)	0,238 (0,457)	-0,035 (0,914)	0,168 (0,601)	0,004 (0,991)	0,818 (0,001)
AA	0,911 (0,000)	0,681 (0,015)	0,613 (0,034)	0,501 (0,097)	0,580 (0,048)	0,427 (0,166)
n-6 LCP	0,867 (0,000)	0,627 (0,029)	0,459 (0,134)	0,504 (0,094)	0,469 (0,124)	0,818 (0,001)
<u>n-3 PUFA</u>						
ALA	0,211 (0,511)	0,349 (0,266)	0,037 (0,908)	0,648 (0,023)	0,737 (0,006)	0,838 (0,001)
EPA	0,319 (0,312)	0,206 (0,521)	-0,258 (0,417)	0,827 (0,001)	0,290 (0,361)	0,394 (0,205)
DHA	0,601 (0,039)	0,144 (0,656)	-0,238 (0,457)	0,460 (0,133)	0,469 (0,124)	0,604 (0,038)
n-3 LCP	0,368 (0,240)	-0,053 (0,871)	-0,364 (0,245)	0,437 (0,156)	0,361 (0,249)	0,690 (0,013)

Die Zusammenhänge zwischen Plasma-TG, Plasma-PL, Ery-PC und Ery-PE sind für AA und DHA als Streudiagramm-Matrixen graphisch dargestellt (Abb. 3-17 und 3-18). Deutlich erkennbar ist hinsichtlich der AA der enge Zusammenhang zwischen Plasma-TG und Plasma-PL. Abb. 3-18 zeigt, daß lediglich zwischen Plasma-TG und –PI, sowie zwischen Ery-PC und –PE ein schwache Korrelation besteht, während bei allen anderen ein fehlender Zusammenhang deutlich wird.

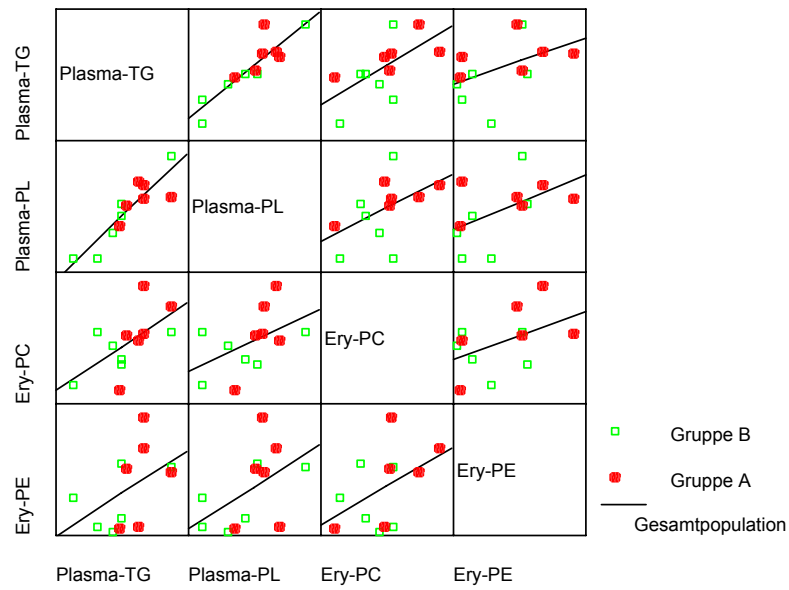


Abb. 3-17. Prozentuale AA-Gehalte an Studientag 8 [Gew.%]: Zusammenhang zwischen Plasma-TG, Plasma-PL, Ery-PC und Ery-PE. Gruppe B = Kontroll-Gruppe, Gruppe A = MCT/LCT-Gruppe

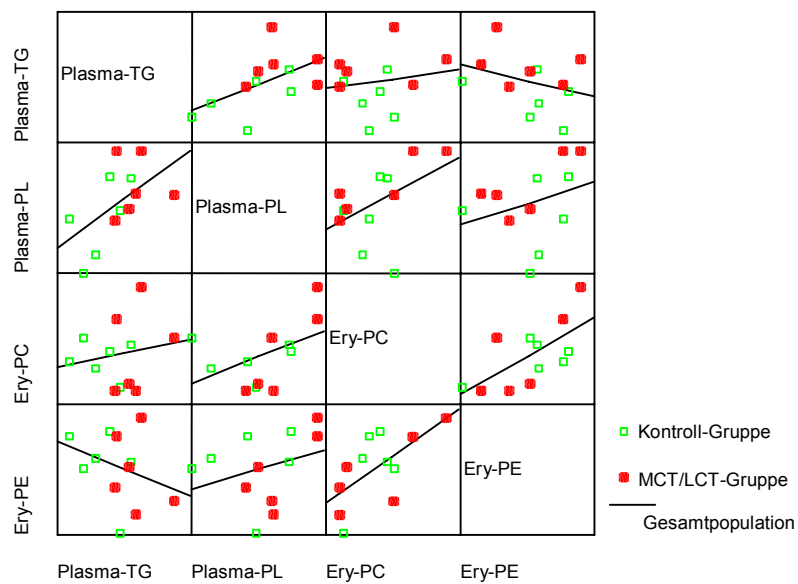


Abb. 3-18. Prozentuale DHA-Gehalte an Studientag 8 [Gew.%]: Zusammenhang zwischen Plasma-TG, Plasma-PL, Ery-PC und Ery-PE.

3.6.8 Korrelation zwischen anthropometrischen Daten und Fettsäurekonzentrationen in Plasma-Phospholipiden bei Studienende

Zwischen den Plasmakonzentrationen an AA, EPA, DHA, der Summen von n-6 und n-3 LCP und dem Gewicht, sowie den Z-Scores von Gewicht an Tag 8 konnten keine signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden.

3.7 Vitaminkonzentrationen im Plasma

Die an den Studientagen 1 und 8 ermittelten Plasmakonzentrationen an Tocopherol, Retinol und Carotin, sowie deren signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen während der Studienphase sind in Tab. 3-18 dargestellt. Tab. 3-19 zeigt die Differenzen der Konzentrationen zwischen Tag 1 und 8.

Studienbeginn

Zu Beginn der Studie waren in der MCT/LCT-Gruppe keine Gehalte an δ -Tocopherol messbar. Dagegen konnten in der Kontroll-Gruppe keine Gehalte an β,γ -Tocopherol nachgewiesen werden. Im Vergleich hierzu zeigte die MCT/LCT-Gruppe signifikant höhere Werte. Die Gehalte an α -Tocopherol lagen in der Kontroll-Gruppe tendenziell etwas höher, während sich die Retinol-Konzentrationen kaum unterschieden. Die Konzentrationen an α -Carotin konnten in beiden Gruppen nicht nachgewiesen werden, die an β -Carotin lagen auf gleichem Niveau.

Veränderungen während der Studienperiode

An Studientag 8 lagen die Konzentrationen sämtlicher Tocopherolisomere signifikant höher als an Tag 1. Die Retinol-Konzentrationen stiegen in beiden Gruppen tendenziell. Weder α - noch β -Carotin konnte an Studientag 8 nachgewiesen werden. Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht am Ende der Studie bzgl. Ihrer Vitamin-Konzentrationen.

Tab. 3-18. Plasmakonzentrationen an δ -, β , γ - und α -Tocopherol, Retinol, sowie α - und β -Carotin an den Studientagen 1 und 8 [$\mu\text{mol/l}$]. Mittelwert (SA)

	Studientag 1		Studientag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
δ -Tocopherol	0,12 (0)	n.d.	2,94 (1,44) ^b	1,49 (0,69) ^a
β , γ -Tocopherol	n.d.	0,57 (0,48) ¹	17,13 (8,63) ^a	9,55 (2,87) ^a
α -Tocopherol	11,00 (3,22)	8,65 (3,78)	54,16 (17,25) ^a	49,48 (5,08) ^a
Retinol	0,55 (0,17)	0,51 (0,33)	0,75 (0,54)	0,58 (0,28)
α -Carotin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β -Carotin	0,02 (0,02)	0,02 (0,03)	n.d.	n.d.

¹ $p \leq 0,05$ MCT/LCT-Gruppe vs. Kontrolle; ^a $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

Tab. 3-19. Plasmakonzentrationen an δ -, β , γ - und α -Tocopherol, Retinol, sowie α - und β -Carotin: Veränderungen von Studientag 1-8 [$\mu\text{mol/l}$]. Mittelwert (SA)

	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
δ -Tocopherol	+2,82 (2,07)	+1,49 (0,69)
β , γ -Tocopherol	+17,13 (9,57)	+8,98 (2,98)
α -Tocopherol	+43,17 (19,76)	+40,83 (4,74)
Retinol	+0,19 (0,51)	+0,07 (0,19)
α -Carotin	n.d.	n.d.
β -Carotin	-0,02 (0,02)	-0,02 (0,03)

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

3.8 Carnitinkonzentrationen im Plasma

Die ermittelten Konzentrationen an freiem Carnitin (CO), den einzelnen Acylcarnitinen, sowie deren Summen (AC), sind für den Tag 1 und Tag 8 in Tab. 3-20 dargestellt. Zwischen den beiden Gruppen gab es zu den gemessenen Zeitpunkten keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 3-20. Freies Carnitin und Acylcarnitine im Plasma der beiden Gruppen an den Studientagen 1 und 8 [$\mu\text{mol/l}$]. Mittelwert (SA) und Spannweite Min-Max

	Kontroll-Gruppe (n=4)		MCT/LCT-Gruppe (n=6)	
Studientag 1				
Freies Carnitin	18,90 (6,39)	11,33-26,96	14,62 (9,71)	6,23-33,16
Σ Acylcarnitine	12,79 (5,44)	8,67-20,69	11,95 (4,52)	7,09-19,85
Σ kurzkettige	5,94 (2,58)	3,83-9,69	4,61 (1,85)	2,99-8,18
C2	5,04 (2,22)	3,26-8,27	3,89 (1,43)	2,58-6,6
C3	0,49 (0,17)	0,3-0,67	0,39 (0,23)	0,19-0,83
C4	0,30 (0,21)	0,18-0,61	0,20 (0,15)	0,08-0,49
C5	0,11 (0,03)	0,08-0,14	0,14 (0,08)	0,03-0,26
Σ mittelkettige	0,30 (0,20)	0,19-0,86	0,59 (0,46)	0,31-1,51
C6	0,03 (0,02)	0,01-0,06	0,04 (0,01)	0,02-0,06
C8	0,19 (0,12)	0,05-0,35	0,20 (0,15)	0,07-0,49
C10	0,13 (0,07)	0,03-0,18	0,14 (0,15)	0,05-0,44
C12	0,06 (0,05)	0,02-0,13	0,09 (0,12)	0,03-0,33
Σ langkettige	0,30 (0,20)	0,13-0,56	0,32 (0,21)	0,14-0,71
C14	0,05 (0,04)	0,02-0,1	0,08 (0,08)	0,03-0,24
C16	0,20 (0,14)	0,08-0,37	0,19 (0,12)	0,08-0,4
C18	0,05 (0,03)	0,02-0,09	0,06 (0,02)	0,03-0,07
Quotienten				
AC/CO	0,68 (0,12)	0,52-0,77	1,13 (1,02)	0,42-3,18
$\Sigma\text{C6-12}/\Sigma\text{C14-18}$	1,91 (1,43)	1,36-5,54	1,83 (2,21)	1,05-3,43
CO/(C16+18)	76,35 (37,44)	58,61-172,45	60,92 (73,54)	13,26-157,92
$\Sigma\text{C6-12}/\text{CO}$	0,03 (0,05)	0,01-0,06	0,04 (0,05)	0,01-0,24
$\Sigma\text{C6-12}/\text{AC}$	0,04 (0,05)	0,02-0,08	0,05 (0,10)	0,03-0,08
Studientag 8				
Freies Carnitin	9,94 (3,11)	6,86-14,54	10,63 (3,48)	7,07-16,96
Σ Acylcarnitine	9,60 (3,39)	6,14-15,25	8,45 (1,59)	6,59-11,14
Σ kurzkettige	2,77 (1,04)	1,85-4,53	2,90 (0,78) ^b	1,93-4,32
C2	2,26 (0,96)	1,5-3,94	2,42 (0,69) ^a	1,54-3,65
C3	0,22 (0,08)	0,13-0,33	0,22 (0,06)	0,13-0,3
C4	0,18 (0,08)	0,08-0,22	0,16 (0,05)	0,12-0,24
C5	0,12 (0,03)	0,08-0,16	0,11 (0,02)	0,08-0,14
Σ mittelkettige	0,53 (0,25)	0,22-0,96	0,50 (0,14)	0,32-0,64
C6	0,03 (0,01)	0,01-0,04	0,03 (0,01)	0,02-0,05
C8	0,17 (0,07)	0,08-0,24	0,21 (0,07)	0,13-0,26
C10	0,07 (0,04)	0,02-0,13	0,08 (0,02)	0,05-0,1
C12	0,03 (0,01)	0,01-0,05	0,03 (0,01)	0,01-0,04
Σ langkettige	0,14 (0,04)	0,1-0,21	0,15 (0,02)	0,13-0,17
C14	0,02 (0,01)	0,02-0,03	0,03 (0,01)	0,02-0,04
C16	0,08 (0,02)	0,05-0,11	0,08 (0,01)	0,08-0,1
C18	0,04 (0,02)	0,03-0,07	0,04 (0,01)	0,02-0,05
Quotienten				
AC/CO	1,00 (0,34)	0,72-1,6	0,84 (0,24)	0,6-1,24
$\Sigma\text{C6-12}/\Sigma\text{C14-18}$	3,72 (6,80)	2,20-4,57	3,41 (7,25) ^a	2,46-4,0
CO/(C16+18)	82,86 (90,35)	57,42-132,18	89,79 (186,31)	54,38-141,33
$\Sigma\text{C6-12}/\text{CO}$	0,05 (0,08)	0,03-0,08	0,05 (0,04)	0,03-0,09
$\Sigma\text{C6-12}/\text{AC}$	0,06 (0,07)	0,04-0,08	0,06 (0,09)	0,05-0,08

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen; ^a $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe; ^b $p \leq 0,05$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

Studienbeginn

Tendenziell lagen in der Kontroll-Gruppe die Werte für freies Carnitin und die Summe der Acylcarnitine höher. Der Gesamtgehalte der kurzkettigen Acylcarnitine war in der Kontroll-Gruppe etwas höher, der Gesamtgehalt der mittelkettigen und auch der langkettigen etwas niedriger als in der MCT/LCT-Gruppe (nicht signifikant). Der Quotient der Summe der AC zu freiem Carnitin (AC/CO) lag in der MCT/LCT-Gruppe mit 1,13 deutlich höher als in der Kontroll-Gruppe bei 0,68, unterschied sich aber auch hier nicht signifikant (s. Tab.3-21). Der Quotient aus CO/(C16+18) lag in der Kontroll-Gruppe tendenziell höher, die übrigen errechneten Quotienten lagen in sehr ähnlichen Bereichen.

Veränderungen während der Studienperiode

In beiden Gruppen kam es zu einem tendenziellen Abfall von freiem Carnitin und der Summe aller gemessenen Acylcarnitine. Im Vergleich zu Tag 1 unterschied sich der Gehalt an kurzkettigen Acylcarnitinen in der MCT/LCT-Gruppe signifikant, was hauptsächlich auf ein Sinken des Acetylcarnitins zurückzuführen ist. In der Kontroll-Gruppe war ein tendenzieller Anstieg der mittelkettigen Acylcarnitine feststellbar, in der MCT/LCT-Gruppe hingegen ein Abfall. Die Gehalte der langkettigen Acylcarnitine fiel in beiden Gruppen tendenziell stark ab, was hauptsächlich auf einen Rückgang des C16-Acylcarnitins zurückzuführen war. Der Quotient $\Sigma C6-12/\Sigma C14-18$ stieg in der MCT/LCT-Gruppe im Verlauf der 8 Tage signifikant an. In der Kontroll-Gruppe stieg er ebenfalls an, jedoch nicht signifikant. Auch bei dem Quotienten aus CO/(C16+18) war ein tendenzieller Anstieg in beiden Gruppen feststellbar.

Tab. 3-21. Quotienten aus freiem Carnitin und verschiedenen Acylcarnitinen [$\mu\text{mol/l}$] im Plasma an den Studientagen 1 und 8. Mittelwert (SA)

	Studientag 1		Studientag 8	
	Kontroll-Gruppe (n=4)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
Quotienten				
AC/CO	0,68 (0,12)	1,13 (1,02)	1,00 (0,34)	0,84 (0,24)
$\Sigma C6-12/\Sigma C14-18$	1,91 (1,43)	1,83 (2,21)	3,72 (6,80)	3,41 (7,25) ^a
CO/(C16+18)	76,35 (37,44)	60,92 (73,54)	82,86 (90,35)	89,79 (186,31)
$\Sigma C6-12/CO$	0,03 (0,05)	0,04 (0,05)	0,05 (0,08)	0,05 (0,04)
$\Sigma C6-12/AC$	0,04 (0,05)	0,05 (0,10)	0,06 (0,07)	0,06 (0,09)

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen; ^a $p \leq 0,01$ Tag 8 vs. Tag 1 innerhalb einer Gruppe

3.9 ¹³C-Anreicherung in den langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren nach oraler Gabe ¹³C-markierter Linolsäure und α-Linolensäure

3.9.1 ¹³C-Anreicherung in den PUFAs der Plasmaphospholipiden

Die ¹³C-Anreicherungen wurden in ausgewählten Fettsäuren der n-6 und n-3 Reihe gemessen.

n-6 PUFA: C18:2n-6, C20:2n-6, C20:3n-6, C20:4n-6, C22:4n-6

n-3 PUFA: C18:3n-3, C20:5n-3, C22:5n-3, C22:6n-3

Aus den gemessenen Anreicherungen (R_{FS}) wurden die APE-Werte und die Tracerkonzentrationen berechnet.

Atom Percent ¹³C Excess (APE)

Der APE-Wert gibt die Prozentpunkte an, um die sich die gemessene Anreicherung einer Substanz gegenüber der natürlichen Anreicherung ändert (Berechnung der Tracerkonzentrationen, s. Formeln 2-2 bis 2-8, Punkt 2.5.3). Die einzelnen APE-Werte, sowie signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, sind in Tab. 3-22 zu sehen. Die APE-Werte hier geben die ¹³C-Anreicherung 24 Stunden nach der Tracergabe an. In den meisten gemessenen Präkursor- und Produktfettsäuren war eine ¹³C-Anreicherung gegenüber der natürlichen Anreicherung zu sehen. Die natürliche Anreicherung entspricht der an Tag 7 gemessenen Anreicherung. Lediglich bei C22:4n-6 in der Kontroll-Gruppe war keine Anreicherung zu finden.

Die C18-Präkursor-Fettsäuren, C18:2n-6 und C18:3n-3, waren in der MCT/LCT-Gruppe mehr als doppelt so groß, wie in der Kontroll-Gruppe. Auch bei allen höheren Homologen der n-6 und der n-3 Reihe, waren die Werte in der MCT/LCT-Gruppe signifikant höher. Die Ratios für Präkursor- und Produkt-Fettsäuren sind in den Abb. 3-19 und 3-20 und zu sehen. Die Quotienten waren für beide Gruppen sehr ähnlich, es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tab. 3-22. APE_{FS}-Werte (%) der n-6 und n-3 PUFA der Plasma-PL in den beiden Gruppen. Mittelwert (SA)

	APE _{FS} (%)	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
n-6 PUFA		
C18:2n-6	0.06 (0.02)	0.13 (0.02) ¹
C20:2n-6	0.05 (0.02)	0.08 (0.01) ²
C20:3n-6	0.04 (0.02)	0.09 (0.02) ²
C20:4n-6	0.02 (0.01)	0.03 (0.01) ²
C22:4n-6	0.00 (0.00)	0.01 (0.00) ²
n-3 PUFA		
C18:3n-3	0.05 (0.03)	0.11 (0.02) ¹
C20:5n-3	0.10 (0.05)	0.25 (0.04) ¹
C22:5n-3	0.07 (0.04)	0.14 (0.03) ¹
C22:6n-3	0.02 (0.02)	0.04 (0.01) ²

¹p<0.01, ²p<0.05 MCT/LCT-Gruppe vs. Kontroll-Gruppe

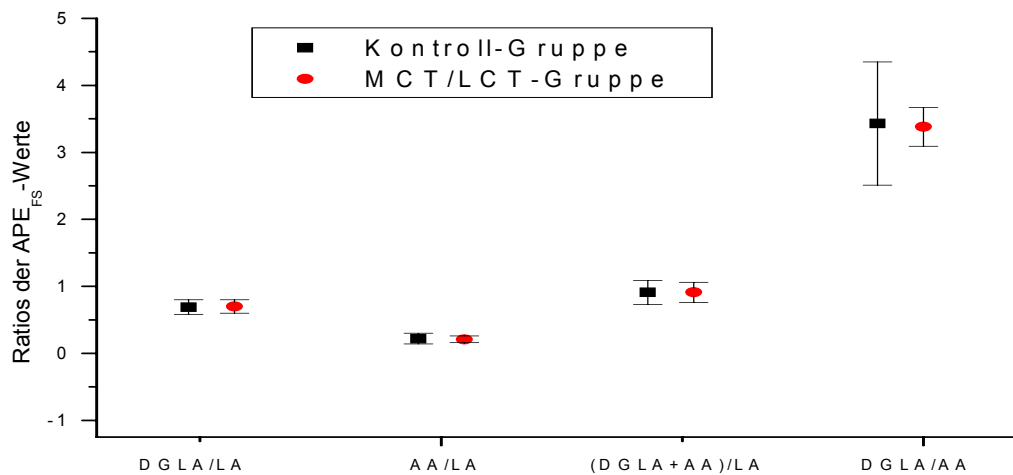


Abb. 3-19. Ratios aus den APE-Werten von DGLA, AA, den Summen dieser Fettsäuren und dem APE-Wert von LA, sowie den APE-Werten von DGLA und AA, in den beiden Gruppen. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

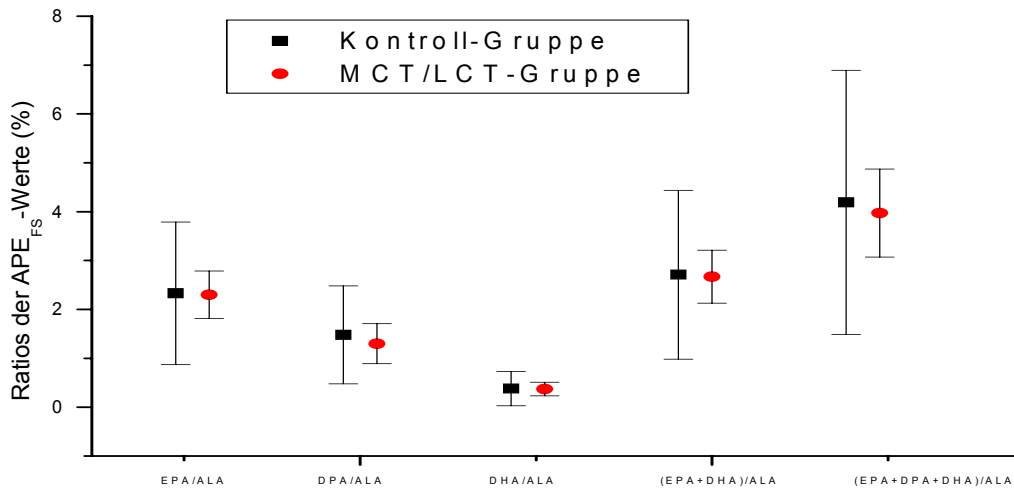


Abb. 3-20. Ratios aus den APE-Werten von EPA, DPA, DHA, den Summen dieser Fettsäuren und dem APE-Wert von ALA in den beiden Gruppen. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen

Tracerkonzentrationen

Im Gegensatz zu den APE-Werten werden bei den Tracerkonzentrationen die Fettsäurekonzentrationen in den Plasmaphospholipiden mit berücksichtigt. Die Tracerkonzentration gibt an, wieviel $\mu\text{Mol } ^{13}\text{C}$, das aus dem Tracer stammt, in einem Liter Plasma der jeweiligen Fettsäure enthalten sind (Berechnung s. 2.5.3). Die Tracerkonzentrationen der Fettsäuren, sowie die signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, sind in Tab. 3-23 aufgeführt.

Der Tracer wurde in einem Verhältnis $^{13}\text{C}18:2n-6: ^{13}\text{C}18:3n-3 = 10:2$ verabreicht. Trotzdem fand sich in der Kontroll-Gruppe ein 27 mal höhere Tracerkonzentration in C18:2n-6 als in C18:3n-3. In der MCT/LCT-Gruppe war das Verhältnis sogar 37 mal höher. Während sich die Tracerkonzentrationen von C18:2n-6, C20:2n-6 und C20:3n-6 signifikant zwischen den Gruppen unterschieden, lagen die Werte der MCT/LCT-Gruppe bei AA zwar deutlich höher, waren aber statistisch nicht unterschiedlich zur Kontroll-Gruppe. Die Tracerkonzentrationen der n-3 PUFA lagen bei der MCT/LCT-Gruppe deutlich über denen der Kontroll-Gruppe und waren im Falle der EPA, DPA und DHA signifikant unterschiedlich.

Bis auf zwei Ausnahmen lagen auch hier die Quotienten sehr nahe zusammen (Abb. 3-21 und 3-22). Lediglich bei den Quotienten DPA/ALA und (DPA+EPA+DHA)/ALA lag die Kontroll-Gruppe weit über der MCT/LCT-Gruppe.

Bei diesen beiden Werten ist die Streubreite der Kontroll-Gruppe auch auffallend groß (s. Abb. 3-22).

Tab. 3-23. Tracer- $^{13}\text{C}_{\text{FS}}$ -Werte ($\mu\text{Mol } ^{13}\text{C}/\text{l Plasma}$) der n-6 und n-3 PUFA der Plasma-PL in den beiden Gruppen. Mittelwert (SA)

	Tracer- $^{13}\text{C}_{\text{FS}}$ ($\mu\text{Mol } ^{13}\text{C}/\text{l Plasma}$)	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
n-6 PUFA		
C18:2n-6	9.88 (2.01)	18.58 (6.01) ¹
C20:2n-6	0.17 (0.05)	0.29 (0.10) ²
C20:3n-6	0.72 (0.38)	1.52 (0.64) ²
C20:4n-6	1.20 (0.83)	2.45 (1.03)
C22:4n-6	0.02 (0.01)	0.02 (0.01)
n-3 PUFA		
C18:3n-3	0.07 (0.05)	0.12 (0.04)
C20:5n-3	0.16 (0.07)	0.36 (0.09) ¹
C22:5n-3	0.15 (0.09)	0.31 (0.13) ²
C22:6n-3	0.36 (0.27)	0.91 (0.39) ²

¹ $p \leq 0.01$, ² $p \leq 0.05$ MCT/LCT-Gruppe vs. Kontroll-Gruppe

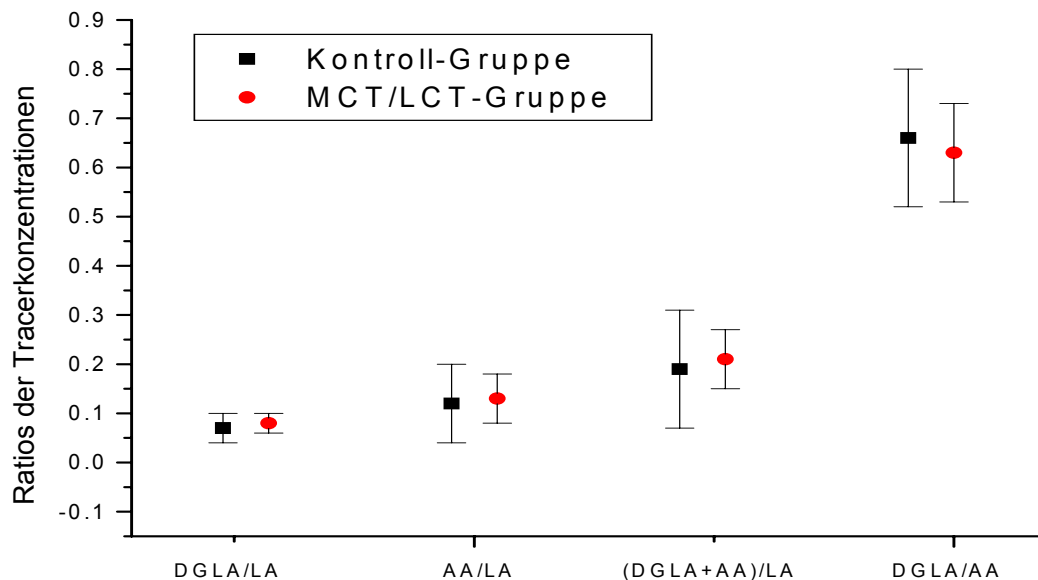


Abb. 3-21. Ratios aus den Tracerkonzentrationen ($\mu\text{Mol Tracer-}^{13}\text{C}/\text{l Plasma}$) in DGLA, AA, der Summe dieser und in LA in den beiden Gruppen. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen

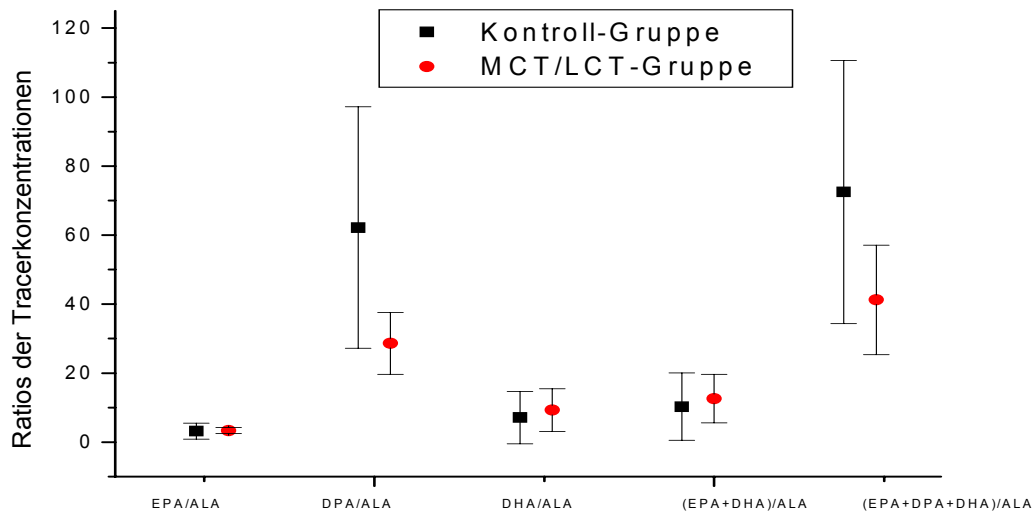


Abb. 3-22. Ratios aus den Tracerkonzentrationen ($\mu\text{Mol Tracer-}^{13}\text{C/l Plasma}$) in EPA, DPA, DHA, der Summe dieser und in ALA in den beiden Gruppen. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen

3.9.2 Zusammenhang zwischen den ^{13}C -Anreicherungen in den Fettsäuren der n-6 und der n-3 Reihe

Quotienten zu den C18- bzw. C20-Vorläuferfettsäuren wurden sowohl für die APE-Werte als auch die Tracerkonzentrationen berechnet und sind in Tab. 3-24 dargestellt.

Tab. 3-24. APE_{FS}-Werte [%] und Tracerkonzentrationen [$\mu\text{Mol Tracer-}^{13}\text{C/l Plasma}$] in den n-6 und n-3 PUFA der Plasmaphospholipiden: Quotienten zu den C18- bzw. C20-Vorläuferfettsäuren. Mittelwert (SA)

	APE _{FA} (%)		Tracer- $^{13}\text{C}_{\text{FA}}$ ($\mu\text{mol }^{13}\text{C/l}$)	
	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)	Kontroll-Gruppe (n=6)	MCT/LCT-Gruppe (n=6)
n-6 PUFA				
C20:3n-6/C18:2n-6	0.69 (0.11)	0.70 (0.10)	0.07 (0.03)	0.08 (0.02)
C20:4n-6/C18:2n-6	0.22 (0.08)	0.21 (0.05)	0.12 (0.08)	0.13 (0.05)
C20:3n-6/C20:4n-6	3.43 (0.92)	3.38 (0.29)	0.66 (0.14)	0.63 (0.10)
n-6 LCP/ C18:2n-6	0.91 (0.18)	0.91 (0.15)	0.19 (0.12)	0.21 (0.06)
n-3 PUFA				
C20:5n-3/C18:3n-3	2.33 (1.46)	2.30 (0.49)	3.20 (2.32)	3.31 (0.88)
C22:5n-3/C18:3n-3	1.48 (1.00)	1.30 (0.41)	62.20 (34.98)	28.63 (8.95)
C22:6n-3/C18:3n-3	0.38 (0.35)	0.37 (0.14)	7.08 (7.58)	9.29 (6.18)
(C20:5n-3+C22:6n-3)/ C18:3n-3	2.71 (1.73)	2.67 (0.54)	10.28 (9.79)	12.61 (7.01)
n-3 LCP/ C18:3n-3	4.19 (2.70)	3.97 (0.90)	72.49 (38.12)	41.24 (15.88)

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen

Die Quotienten der Tracerkonzentrationen der n-6 PUFAs unterschieden sich erheblich von denen der n-3 PUFAs. Zwischen den Gruppen wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden. Für die Tracerkonzentrationen wurden verschie-

dene Quotienten der n-6 und n-3 PUFAs berechnet und für beide Reihen starke Korrelationen gefunden (Tab. 3-25 und Abb.3-23).

Tab. 3-25. Korrelationen der Quotienten der Tracerkonzentrationen von Produkt- und Vorläuferfettsäuren für das Gesamtkollektiv. Korrelationskoeffizient (Signifikanzniveau)

	$^{13}\text{C}_{20:3n-6}/$ $^{13}\text{C}_{18:2n-6}$	$^{13}\text{C}_{20:4n-6}/$ $^{13}\text{C}_{18:2n-6}$	$^{13}\text{C}_{20:5n-3}/$ $^{13}\text{C}_{18:3n-3}$	$^{13}\text{C}_{22:5n-3}/$ $^{13}\text{C}_{18:3n-3}$	$^{13}\text{C}_{22:6n-3}/$ $^{13}\text{C}_{18:3n-3}$
$^{13}\text{C}_{20:3n-6}/$ $^{13}\text{C}_{18:2n-6}$	1,000 (,)	0,923 (0,000)	0,706 (0,010)	0,825 (0,001)	0,874 (0,000)
$^{13}\text{C}_{20:4n-6}/$ $^{13}\text{C}_{18:2n-6}$	0,923 (0,000)	1,000 (,)	0,636 (0,026)	0,776 (0,003)	0,860 (0,000)
$^{13}\text{C}_{20:5n-3}/$ $^{13}\text{C}_{18:3n-3}$	0,706 (0,010)	0,636 (0,026)	1,000 (,)	0,832 (0,001)	0,860 (0,000)
$^{13}\text{C}_{22:5n-3}/$ $^{13}\text{C}_{18:3n-3}$	0,825 (0,001)	0,776 (0,003)	0,832 (0,001)	1,000 (,)	0,944 (0,000)
$^{13}\text{C}_{22:6n-3}/$ $^{13}\text{C}_{18:3n-3}$	0,874 (0,000)	0,860 (0,000)	0,860 (0,000)	0,944 (0,000)	1,000 (,)

Die Quotienten aus den Summen der Tracerkonzentrationen von Produkt- und Vorläuferfettsäuren sind in Abb. 3-24 dargestellt.

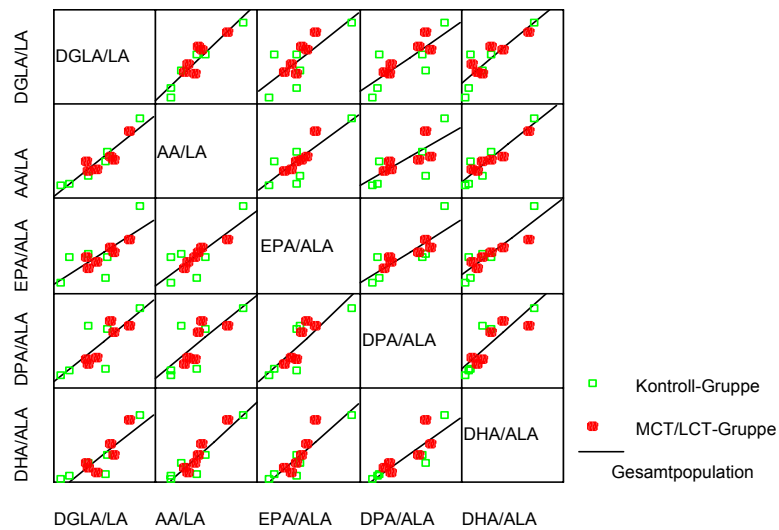


Abb. 3-23. Korrelationen der Quotienten Tracerkonzentrationen von Produkt – und Vorläuferfettsäuren

$(^{13}\text{C}20:5\text{n}-3+^{13}\text{C}22:5\text{n}-3+^{13}\text{C}22:6\text{n}-3)/^{13}\text{C}18:3\text{n}-3$

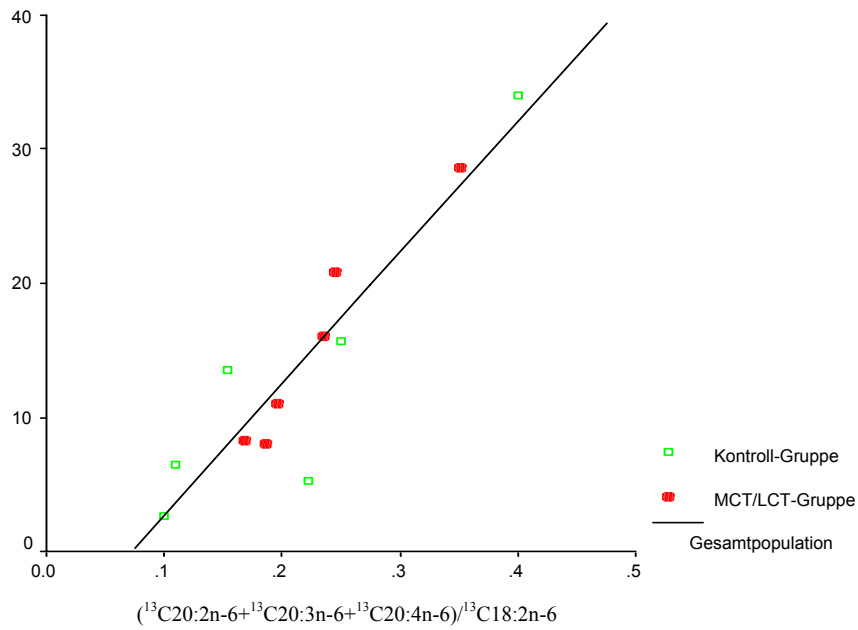


Abb. 3-24. Korrelationen zwischen Quotienten der n-3 und n-6 LCP (Summe der Produktfettsäuren/Vorläuferfettsäure). $r=0,825$; $p=0,001$

4 DISKUSSION

Bei der Behandlung von Frühgeborenen spielt die totale parenterale Ernährung eine große Rolle. Wegen der großen Häufigkeit von Atemwegserkrankungen und gastrointestinalen Störungen bei kleinen Frühgeborenen kann oft nur parenteral ernährt werden. Ein optimales parenterales Ernährungsprogramm sollte den Energie- und Nährstoffbedarf decken, eine gute Körperzusammensetzung erhalten bzw. aufbauen und für gesundes Wachstum und eine angemessene Entwicklung sorgen, ohne daß es zu Stoffwechselstörungen oder anderen physiologischen Komplikationen kommt (64). Intravenöse Fettemulsionen haben dabei die Aufgabe, die Versorgung von Energie und essentiellen Fettsäuren sicher zu stellen. Lipofundin N[®], eine in der Neonatologie routinemäßig eingesetzte Lipidemulsion, basiert auf Sojaöl. Sie enthält einen sehr hohen Anteil an den essentiellen Fettsäuren Linol- und α -Linolensäure, der jedoch den Bedarf von Frühgeborenen übersteigt.

Die Fettsäurezusammensetzung von verabreichten Emulsionen beeinflusst die endogene Synthese höherer Homologe aus LA und ALA, sowie deren Einbau in Strukturlipide. Sie hat somit Auswirkung auf Funktion der Membrane, Membranenzyme und die Eicosanoidsynthese (71;118;168).

Um die parenterale Ernährung von Frühgeborenen zu optimieren, wurde eine MCT/LCT-Fettemulsion, die sich bei erwachsenen Patienten bereits gut etabliert hat, getestet. Lipofundin MCT enthält zu gleichen Teilen mittel- und langkettige Triglyceride. Somit ist der Anteil an Linol- und α -Linolensäure in der MCT/LCT-Emulsion gegenüber der herkömmlichen LCT-Emulsion um die Hälfte reduziert. Beide Emulsionen sind mit dem biologisch sehr aktiven α -Tocopherol versetzt. Trotz des vergleichsweise geringen Gehalts an längerkettigen Triglyceriden enthält Lipofundin MCT jedoch um lediglich 9% weniger α -Tocopherol als Lipofundin N[®]. Wichtige Aspekte bei der Untersuchung der Wirksamkeit von Lipofundin MCT waren, die essentiellen Fettsäuren dem Bedarf für Frühgeborene adäquat, nicht jedoch übermäßig zuzuführen, sowie die bei Infusion von ungesättigten Fettsäuren auftretende Lipidperoxidation zu reduzieren. Gleichzeitig war eine gute klinische Verträglichkeit vorausgesetzt. Der Schwerpunkt unserer Studie lag darin, die Veränderung der Fettsäurezusammensetzung von Plasma-Fractionen und Erythrozyten, besonders im Hinblick auf die endogene Synthese langkettiger Polyenfettsäuren zu untersuchen.

4.1 Demographische Daten und Geburtsverlauf

Um die Vergleichbarkeit der Studienkinder beurteilen zu können, wurden demographische Daten und der Geburtsverlauf erfaßt. Während in der Kontroll-Gruppe Jungen und Mädchen zu gleichen Teilen vertreten waren, wurden – zufallsbedingt – in der MCT/LCT-Gruppe ausschließlich Jungen randomisiert. Prä- und postnatale Komplikationen, die den essentiellen Fettsäurestatus hätten beeinflussen können, traten bei keinem der Studienteilnehmer auf.

4.2 Ernährung und Gewichtsentwicklung der Studienteilnehmer

Die Ernährungsweise, wie beispielsweise Anteil der parenteralen Ernährung oder Energiezufuhr, war über die Studienperiode hinweg gut vergleichbar zwischen den beiden Gruppen.

Die Kinder der Kontroll-Gruppe waren tendenziell etwas älter. Während die Studienteilnehmer der MCT/LCT-Gruppe ein Gestationsalter zwischen 30 bis 34 Wochen hatten, lag es bei denen der Kontroll-Gruppe zwischen 32 und 35 Wochen. Damit ging auch ein tendenziell höheres Geburtsgewicht einher. Es lag in der Kontroll-Gruppe zwischen 1260 g und 2100 g (1782 ± 290 g), während es in der MCT/LCT-Gruppe zwischen 1390 g bis 1850 g (1573 ± 170 g) variierte. Um die Gewichtsentwicklung der beiden Gruppen trotz unterschiedlichem Gestationsalter und Geschlecht vergleichen zu können, wurden die Absolutwerte in die alterskorrigierten Z-Scores umgerechnet. Dies hat sich gerade bei kurzfristiger Betrachtung von Gewichtsveränderungen als sinnvoll erwiesen. Der Gewichtsverlust in der ersten Lebenswoche wird durch verschiedene Faktoren mitbeeinflusst, wie beispielsweise foetaler Ernährungszustand, Hydratation, Wasser- und Elektrolythaushalt (184). Erst später reflektiert die Gewichtsveränderung des Säuglings Veränderungen hinsichtlich Wachstum und Ernährung (38;39;51;73;85;185). Aus diesem Grund wird auch ein vergleichsweise größerer Gewichtsverlust bei Neugeborenen mit niedrigem Geburtsgewicht erwartet. Auch in dieser Studie zeigten die Kinder der MCT/LCT-Gruppe einen größeren Gewichtsverlust während der Studienperiode und sie erreichten ihr ursprüngliches Geburtsgewicht später als Kinder der Kontroll-Gruppe. Dancis et al. konnte zeigen, daß bei Neugeborenen mit niedri-

gem Geburtsgewicht die anfängliche Gewichtsabnahme umgekehrt proportional zum Geburtsgewicht auftritt (54). Auch die Dauer des Gewichtsverlustes und die Zeit bis zum Wiedererreichen des Geburtsgewichtes sind bei niedriggewichtigen Kindern stärker ausgeprägt (Hammett'sche Regel). In vorliegender Studie trat der maximale Gewichtsverlust zwischen dem fünften (Kontroll-Gruppe) und dem sechsten (MCT/LCT-Gruppe) Tag auf, was gut mit den Daten von Pauls und Shaffer übereinstimmt (150;184). Der postnatale Gewichtsverlust lag bei der MCT/LCT-Gruppe (11,4%) innerhalb des zitierten Bereiches von 7,3 - 14,5%, der der Kontroll-Gruppe lag weit darunter (0,5%) (184).

4.3 Zusammensetzung der eingesetzten Präparate

Die Gehalte an Linol- und α -Linolensäure bzw. Ölsäure waren in der MCT/LCT-Emulsion mit 27% und 4% bzw. 12% gegenüber der LCT-Emulsion mit 54% und 7% bzw. 24% vermindert. Statt dessen enthielt Lipofundin MCT die mittelkettigen Fettsäuren C8:0, C10:0 und C12:0 mit einem Anteil von 27%, 21% und 1,5%.

Das Verhältnis von α -Tocopherol zu Linolsäure betrug 2,27 mg/g in der LCT-Fettemulsion und 3,8 mg/g in der MCT/LCT-Emulsion. Greene et al. empfehlen als tägliche Vitamin-E Zufuhr unter parenteraler Ernährung eine Dosis von 2,8 mg/kg KG/d (86). Aus unseren Daten wurde errechnet, daß bei einer durchschnittlichen Zufuhr von 2,4 g Fett/kg KG/d während der Studienphase in der Kontroll-Gruppe 2,7 mg Vitamin E/kg KG/d und in der MCT/LCT-Gruppe 2,5 mg Vitamin E/kg KG/d zugeführt wurden. Damit weichen beide Gruppen etwas von der empfohlenen Dosis ab.

Möchte man die Vitamin- und Fettsäuregehalte der eingesetzten Präparate mit denen von Muttermilch vergleichen, muß darauf hingewiesen werden, dass sich die Muttermilch von Müttern frühgeborener Kinder von der Reifgeborener unterscheidet. Nach einer Frühgeburt enthält die Muttermilch einen höheren α -Tocopherolgehalt und ein höheres Verhältnis α -Tocopherol/Linolsäure (0,5-2 mg/g in MM bei Frühgeburt; 0,27 mg/g in MM bei termingerechter Geburt) (91). Frühgeborenen-Milch weist insgesamt einen niedrigeren Fettgehalt auf und unterscheidet sich zudem auch im Fettsäuremuster (geringere Linolsäuregehalt). Im Einzelnen setzt sich die Frühgeborenen-Milch aus 41 – 48% gesättigten FS, aus 35 – 40% Ölsäure, aus 9 – 16% Linolsäure, aus 0,6 – 0,9% α -Linolensäure, aus 0,6 – 0,8%

Arachidonsäure und aus 0,2 – 0,5% Docosahexaensäure zusammen, neben Spuren von Eicosadien-, Eicosatrien- und Docosapentaensäure (30;106;119). Daraus geht hervor, daß Lipofundin MCT in ihrer Zusammensetzung einer Frühgeborenen-Milch ähnlicher ist, als Lipofundin N[®].

4.4 Verträglichkeit

Hepatische Toleranz

Der Zusammenhang zwischen Lebererkrankungen und totaler parenteraler Ernährung wurde durch zahlreiche Studien belegt (17;53;57). Dabei ist das Risiko hepatischer Komplikationen für Frühgeborene und Neugeborene größer als für Kinder und Erwachsene. In vorliegender Studie wurden die Leberenzyme als Kriterium für die hepatische Verträglichkeit der Studienpräparate gemessen. Wie schon im Ergebnisteil berichtet ist jedoch die Datengrundlage lückenhaft, daß weder ein Vergleich mit Daten anderer Studien, noch ein Vergleich zwischen den beiden Gruppen möglich ist. Ähnlich sieht es mit dem Parameter CRP aus, über den sich ev. vorhandene Infektionen feststellen lassen könnten. Die unzureichende Datengrundlage des Differenzial-Blutbildes läßt keinen Vergleich mit Referenzwerten zu.

Clearance der Lipidemulsion

Über die Serumtriglyceride kann festgestellt werden, wie rasch die infundierte Lipidemulsion aus dem Blutkreislauf entfernt wurde. In zahlreichen Studien wurde über Hypertriglyceridämien nach parenteral verabreichten Fettemulsionen berichtet (7;8;70;82;96;97;145). Die Hydrolysekapazität steigt mit zunehmendem Gestationsalter und ist darüber hinaus bei „appropriate for gestational age“-Kindern größer als bei „small for gestational age“-Kindern (7). Eine Reihe klinischer Faktoren, wie beispielsweise Infektion, Operation oder Malnutrition, beeinflußt ebenfalls die Hydrolyse (98). Entspricht die Infusionsrate der Lipidemulsion in etwa der Hydrolyserate oder liegt sogar darunter, sind keine entscheidenden Veränderungen bei den Triglyceridkonzentrationen zu erwarten. Überschreitet die Infusionsrate jedoch die Hydrolysekapazität, steigen die Triglyceridkonzentrationen an, die sich dann nachteilig auf die pulmonare Diffusion und Leukozytenfunktion auswirken (50;87;127;154). Die freien Fettsäuren steigen an, falls die Hydrolyserate die Oxidationsrate der freigesetzten freien Fettsäuren übersteigt.

Die Triglycerid-Konzentrationen lagen zu Beginn der Studie mit 0,68 mmol/l für die Kontroll-Gruppe und 0,72 mmol/l für die MCT/LCT-Gruppe gut im Referenzbereich von 0,35 – 1,12 mmol/l (1). Lediglich in der Kontroll-Gruppe stiegen die Konzentrationen auf 1,18 mmol/l (n.s.), ohne Auftreten von Hypertriglyceridämien. Im Unterschied zu den Ergebnissen von Rubin et al. stiegen in vorliegender Studie weder die Konzentrationen der Triglyceride noch die der freien Fettsäuren an (169). Daraus läßt sich erschließen, daß in der MCT/LCT-Gruppe die Infusionsrate die Oxidationsrate nicht übersteigt.

Die Phospholipid-Konzentrationen stiegen in beiden Gruppen über die Studienperiode leicht an (n.s.). Haumont et al. berichtete ebenfalls von einem Anstieg der Phospholipide nach Verabreichung einer 20%-igen Soja-Emulsion (96;97).

Die Ausgangswerte der Serum-Cholesterin-Konzentrationen lagen mit 2,12 mmol/l bei der Kontroll-Gruppe und mit 2,30 mmol/l bei der MCT/LCT-Gruppe im Normbereich von 1,16-4,71 mmol/l (1). Bis Studientag 8 stiegen in beiden Gruppen die Werte signifikant an. Obwohl beide Studienpräparate kein Cholesterin enthielten, handelt es sich hierbei um ein bekanntes Phänomen (70;82;169). Es wird diskutiert, daß die infundierten Partikel Cholesterin aus dem Gewebe übernehmen. Entweder findet ein Austausch des Cholesterins über HDL gegen Phospholipide der Partikel statt, oder aber nach Cholesterin-Veresterung ein Austausch gegen Triglyceride (170), wobei Lipoprotein X Partikel entstehen (195).

4.5 Fettsäurespiegel in Plasma und Erythrozyten

4.5.1 Plasma-Triglyceride (Konzentrationen)

Das TG-Fettsäuremuster erschien ein geeigneter Parameter, um die Metabolisierung der zugeführten mittelkettigen FS näher zu untersuchen. Die Messung von Fettsäuren in Plasma-TG weist gegenüber den Plasma-PL den entscheidenden Vorteil auf, daß die mittelkettigen Fettsäuren gemessen werden können. Denn die TG-Fraktion enthält gegenüber der PL-Fraktion einen weitaus größeren Anteil an MCFA.

Gesättigte Fettsäuren. Obwohl sich die Summe der gesättigten Fettsäuren in keiner der beiden Gruppen signifikant veränderte, waren gegenläufige Tendenzen feststellbar. Während bei der Kontroll-Gruppe ein Anstieg nachweisbar war, nahm die Konzentration der SFA in der MCT/LCT-Gruppe ab. Begründet lag dies offenbar in Konzentrationsveränderungen der beiden Hauptvertreter der SFA, nämlich

der C16:0 und der C18:0, die im Falle der Kontroll-Gruppe zunahmen und in der MCT/LCT-Gruppe abnahmen. Dies spiegelt sehr deutlich die unterschiedliche Zufuhr der beiden FS wider. In der Kontroll-Emulsion waren die Gehalte der beiden Fettsäuren mehr als doppelt so hoch wie in der MCT/LCT-Emulsion. Hingegen waren in der MCT/LCT-Emulsion vorwiegend C8:0, C10:0 und C12:0 enthalten. Diese vergleichsweise höhere Zufuhr spiegelt sich auch in einem stärkeren Anstieg dieser Fettsäuren wider. Bemerkenswert ist, daß trotz der insgesamt wesentlich höheren Zufuhr an gesättigten Fettsäuren in der MCT/LCT-Gruppe, die Summe der SFA in den Plasma-TG nicht ansteigt, sondern tendenziell abnimmt.

Fettsäureoxidation. Die Vielfalt bei den Fettsäurestrukturen bzgl. Kettenlänge, Sättigungsgrad und Position der Doppelbindungen spiegelt sich in unterschiedlichen Fettsäureoxidationsraten wider. Von zum Teil unterschiedlichen Ergebnissen mit ¹⁴C-markierten Fettsäuren bei Tieren wurde berichtet. Cenedella et al. konnte an Ratten zeigen, daß LA gegenüber Palmitinsäure bevorzugt oxidiert wurde (40). Lynn et al. zeigte in seiner Versuchsreihe mit Rattenleber folgendes Gefälle in der Fettsäureoxidation: C18:2n-6 > C4:0 > C18:3n-3 > C2:0 > C18:0 (129). In Studien mit Mäusen lag die Oxidationsrate von Ölsäure über der von Linolsäure, und diese wiederum über der von Stearinsäure (135). Leyton konnte nachweisen, daß die Oxidation bei gesättigten Fettsäuren mit steigender C-Atom-Länge abnimmt (Laurinsäure > Myristinsäure > Palmitinsäure > Stearinsäure) (125). Bei ungesättigten Fettsäuren wurde folgende Reihenfolge gefunden: Linolensäure > Ölsäure > Linolsäure > Arachidonsäure, wobei in den ersten 7 Stunden die Oxidationsrate von Ölsäure über der von Linolensäure lag. Hier wurden die mittelkettigen Fettsäuren (C8-14) am schnellsten oxidiert, wobei Linolensäure und Ölsäure eine ähnlich hohe Oxidationsrate aufwiesen.

Bei Erwachsenen ergaben Atemtests mit ¹³C-markierten Fettsäuren, daß Octansäure schneller als Palmitinsäure oxidiert wurde (181). Bei Kindern wurden die Fettsäuren in folgender Reihenfolge bevorzugt oxidiert: Octansäure > Ölsäure > Palmitinsäure (204). Jones et al. zeigte in seiner Studie mit erwachsenen Männern, daß bei den ungesättigten Fettsäuren Ölsäure bevorzugt oxidiert wurde, gefolgt von Linolsäure und schließlich Stearinsäure (110). Nach parenteraler Verabreichung mittel- und langkettiger Triglyceride lag die Oxidation von Trioctanoin nach 7,5 h bei 34,7 %, während sie bei Triolein lediglich bei 25,3 % lag (136). Delany et al. konnte in seiner Studie mit erwachsenen Männern ebenfalls zeigen, daß

die Oxidation der SFA mit steigender C-Atom-Kettenlänge abnimmt (Laurinsäure > Palmitinsäure > Stearinsäure) (58). Bei den 18C-Fettsäuren konnte er einen positiv-signifikanten Zusammenhang zwischen Oxidationsrate und Zahl der Doppelbindungen aufzeigen. Zahlreiche Studien bestätigten in der Vergangenheit, daß kurz- und mittelkettige Fettsäuren, Öl- und Linolensäure schnell oxidiert werden, während die langkettigen Fettsäuren, Palmitin- und Stearinsäure langsamer oxidiert werden.

Analog zu den Studienergebnissen aus der Literatur, wäre in vorliegender Studie bei der Kontroll-Gruppe folgendes Gefälle bzgl. der Oxidationsraten zu erwarten: ALA > LA > Ölsäure > Stearinsäure > Palmitinsäure. Im Unterschied dazu würden in der MCT/LCT-Gruppe die mittelkettigen Fettsäuren an erster Stelle stehen. Würden die mittelkettigen Fettsäuren in der MCT/LCT-Gruppe oxidiert werden, stünden die anderen zugeführten Fettsäuren, wie Palmitinsäure, Stearinsäure, Ölsäure, LA und ALA als Ausgangsfettsäuren für eine de-novo-Synthese oder auch für einen Einbau in die Plasma-PL zur Verfügung. Dies würde gut erklären, weshalb trotz einer um die Hälfte reduzierten Zufuhr dieser Fettsäuren sich die Konzentration bis Studienende nicht zwischen den Gruppen unterscheidet. Beispielsweise ist anzunehmen, daß in der Kontroll-Gruppe vergleichsweise mehr Ölsäure oxidiert und somit weniger in die PL eingebaut wird.

4.5.2 Plasma-Triglyceride (% Fettsäuren)

Bei den Prozentangaben der Plasma-TG kam es zu Abweichungen gegenüber den Absolutwerten. In beiden Gruppen stieg die Gesamtsumme der Fettsäuren, bei den Summen von SFA, MUFA und PUFA war jedoch keine Signifikanz nachweisbar. Bei den Prozentangaben hingegen stieg die Summe der PUFA, die Summe von SFA und MUFA nahm signifikant ab. Ähnlich den Absolutwerten stiegen ALA und die höheren homologen dieser Reihe, EPA und DPA, zum Teil signifikant. Der relative Gehalt der DHA fiel in beiden Gruppen tendenziell ab. Bemerkenswert ist hier jedoch, daß am Ende der Studie bzgl. der Gehalte der DHA ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand.

4.5.3 Plasma-Phospholipide (Konzentrationen)

Bei der Fraktion der Phospholipide wurde das Lipidmuster lediglich ab den länger-kettigen Fettsäuren (C14) analysiert. Von früheren Untersuchungen ist jedoch be-

kannt, daß die mittelkettigen Fettsäuren einen äußerst geringen Anteil einnehmen und deshalb vernachlässigt werden können. In der vorliegenden Studie spiegeln die PL gut die Trends der TG wider.

Gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren. Die Summe der Gesamtfettsäuren, sowie die Summe der SFA und MUFA, stiegen über die Studienperiode in beiden Gruppen signifikant an. Bei Studienende hatten beide Gruppen höhere Konzentrationen an C14:0, C16:0, C17:0 und C18:0. Auch bei den MUFAs lagen die Konzentrationsangaben von C18:1n-9, C20:1n-9 und C22:1n-9 signifikant über den Ausgangswerten an Tag 1 (beide Gruppen). Bei den SFA und MUFA gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die unterschiedlichen Plasmakonzentrationen einzelner gesättigter und einfach ungesättigter Fettsäuren können nicht durch die unterschiedlichen Zufuhrmengen erklärt werden. Der Gehalt der Ölsäure in der LCT-Emulsion war doppelt, bzw. der von Palmitin- und Stearinsäure mehr als doppelt so hoch wie in der MCT/LCT-Emulsion. Dagegen war der Gesamtgehalt der SFA in der MCT/LCT-Emulsion mit ca. 57% mehr als dreifach so hoch, wie die in der Kontroll-Emulsion mit 16,5%.

Linolsäure und n-6 LCP. In beiden Gruppen kam es zu einem ausgeprägten Anstieg an Linolsäure. Wie andere Studien bereits zeigen konnten, führt die Umstellung von der plazentären Zufuhr von LA und ALA auf eine Ernährung nach der Geburt in den ersten Lebenswochen zu einem LA-Anstieg in den Plasmalipiden (112;146). Am Ende der Studie waren zwar in der Kontroll-Gruppe höhere Gehalte an LA meßbar, der Unterschied zwischen den Gruppen war jedoch nicht signifikant. Es gab keinen direkten Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung der infundierten Emulsionen (Gehalt an LA) und den Veränderungen dieser Fettsäuren in den Plasma-PL.

α -Linolensäure und n-3 LCP.

Die unterschiedliche Zufuhr an ALA zeigte kaum Effekt auf die Fettsäurekonzentrationen in den Plasma-PL. Bei beiden Gruppen stiegen die ALA-Konzentrationen signifikant an und unterschieden sich bei Studienende kaum voneinander (nicht signifikant). Ähnlich verhielt es sich mit der EPA. Zwar lag hier an Studientag 8 die Konzentration bei der Kontroll-Gruppe höher als bei der MCT/LCT-Gruppe, doch war die Streuung auch erheblich höher. Vermutlich war dies der Grund, weshalb der Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu keiner Signifikanz führte. Auch das Elongationsprodukt aus EPA, die DPA, stieg in beiden Gruppen signifikant an

und unterschied sich nicht. Über einen signifikanten Anstieg der C22:5n-3 wurde in anderen Studien ebenfalls berichtet (31;45;45). In diesem Zusammenhang wird diskutiert, inwieweit bei Frühgeborenen eine limitierte Kapazität der DHA-Synthese zu einer Akkumulation von C22:5n-3 führt. Die Ausgangswerte der DHA lagen sowohl bei der Kontroll-Gruppen (24,3 mg/l), als auch bei der MCT/LCT-Gruppe (26,9 mg/l) über dem mittleren Ausgangswert einer früheren Studie (15 mg/l) und auch über dem von Clandinin berichteten Wert (bei enteral ernährten Frühgeborenen (21,4 mg/l) (49;49;116). Bei enteraler Ernährung, gerade bei langsamen Nahrungsaufbau, kommt es während der ersten beiden Lebenswochen zum stärksten Abfall der DHA-Spiegel (77). Obwohl DHA in vorliegender Studie nicht supplementiert wurde, kam es zu einem Anstieg der DHA-Konzentrationen bis Studientag 8. In der Kontroll-Gruppe war der Anstieg signifikant, doch lagen die Werte bei beiden Gruppen in sehr engen Bereichen, bei der MCT/LCT-Gruppe tendenziell sogar etwas höher.

4.5.4 Plasma-Phospholipide (% Fettsäuren)

Prozentangaben der einzelnen Fettsäuren stehen in direktem Zusammenhang zur Gesamtsumme, die von der Anzahl der gemessenen Fettsäuren abhängt. Verändert sich der Prozentwert einer Fettsäure, beeinflusst dies zwangsausig auch die der anderen Fettsäuren. Erwartungsgemäß stieg in der ersten Lebenswoche die Konzentration der Gesamtfettsäuren in den PL. Dies führt wiederum zu Abweichungen zwischen Absolut- und Relativangaben. Während sich die Konzentration an C18:2n-6 an Tag 8 nicht zwischen den Gruppen unterschieden, hatte die Kontroll-Gruppe prozentual höhere Gehalte. Betrachtet man jedoch die Zufuhr an LA, die in der Kontroll-Gruppe doppelt so hoch lag wie in der MCT/LCT-Gruppe, erscheint dieser Unterschied vergleichsweise gering. Obwohl die Vorläufer-Fettsäuren in der LCT-Gruppe zum Teil signifikant höher lagen, war eine Suppression der Produkte AA bzw. DHA feststellbar. Diese Tendenz war auch in der Plasma-TG-Fraktion und in den gemessenen Erythrozyten-Fraktionen zu beobachten.

4.5.5 Erythrozyten-Phospholipide

Ery-PL und Fettsäurestatus. Von den Phospholipiden sind Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin die wichtigsten Bestandteile der Erythrocytenmembran. Zu den weiteren Hauptfraktionen gehören das Sphingomyelin und das Phosphatidylserin, sowie in äquimolaren Größenordnungen zu den Phospholipiden auch das Cholesterin. Die Verteilung der Phospholipiden über die Innen- und Außenseite der Membran ist unsymmetrisch: der cytoplasmatische Teil enthält nur 10-20 % Phosphatidylcholin und rund 10 % Sphingomyelin, dafür aber 40 – 50 % Phosphatidylethanolamin und 20 – 30 % Phosphatidylserin (182). Etwa 65% der PC-Fraktion ist in der Membran-Außenseite lokalisiert (162). Es ist daher anzunehmen, daß das Fettsäuremuster des PCs repräsentativ für die Außenseite der Erythrocytenmembran ist und das Fettsäuremuster des PEs mehr die cytoplasmatische, innere Membranzusammensetzung widerspiegelt. Während es bei der PC-Fraktion zu einem Austausch zu den Plasma-PL kommt, ist bei der PE-Fraktion ein Transfer mit den FFS des Plasmas bekannt (162). Letzlich stellt sich in der PC-Fraktion schneller ein Gleichgewicht zu den Plasma-FS ein, als in der PE-Fraktion.

Die Verteilung der Fettsäuren an Innen- und Außenseite der Erythrocytenmembran ist einem dynamischen Prozeß unterworfen, der vom Alter der Erythrocyten und der gesamten Stoffwechselsituation des Organismus abhängig ist (182). Bekannt ist auch ein Austausch der PC-Fraktion zwischen den beiden Seiten der Erythrocyten-Doppelmembran, sowie ein Transfer von Fettsäuren zwischen den beiden Hauptphospholipidklassen (11;162). Wie mehrfach berichtet wurde, kann eine veränderte Fettsäurezusammensetzung der Erythrocytenmembran durch zusätzliche Zufuhr von ω -3 Fettsäuren mit einer veränderten Phospholipidklassenverteilung einhergehen (63;80;159).

Die Fettsäuremuster der Erythrocyten-PL werden durch die exogene Fettsäurezufuhr im Vergleich zu Plasma-PL langsamer beeinflusst. Differenziert man bei den verschiedenen Lipidfraktionen der Erythrocyten, ist bei der PC-Fraktion eine Veränderung schneller feststellbar als in der PE-Fraktion (103). Allgemein gelten die Ery-PL als langfristige Marker für die Fettsäurezufuhr, wobei die Stoffwechsellvorgänge der Ery-PL jedoch sehr komplex sind. Für einen Vergleich von Ergebnissen muß zumindest eine Übereinstimmung der gemessenen Lipid-Fraktionen (Gesamt-PL, PC oder PE) und des Beobachtungszeitraumes gegeben sein.

Bei den meisten der bisher durchgeführten Studien mit parenteral verabreichten MCT/LCT-Emulsionen bei Frühgeborenen wurden Fettsäuregehalte im Plasma, nicht aber in den Erythrocyten-PL, gemessen (18;122;126;133;163;168). Rhodes und Mitarbeiter hatten zwar DHA-Konzentrationen in den Erythrocyten bestimmt, allerdings in den Gesamt-PL und nicht in der PC- oder PE-Fraktion (163). Zudem war der Beobachtungszeitraum von 6 Wochen wesentlich länger als in vorliegender Studie und läßt somit einen direkten Vergleich nicht zu.

Ery-PL im Vergleich zu Plasma-PL. In vorliegender Studie wurden bei den LA-Gehalten Übereinstimmungen zwischen den Plasma-PL und den Ery-PL gefunden. Die LA-Konzentrationen stiegen signifikant in beiden Gruppen, sowohl in den Plasma-PL, als auch in der PC- und PE-Fraktion, an. Während die AA-Konzentrationen in den Plasma-PL signifikant in beiden Gruppen abfielen, war die Abnahme in der PC- und der PE-Fraktion lediglich in der Kontroll-Gruppe signifikant. Die ALA-Gehalte stiegen, wie auch in den Plasma-PL, in den Erythrocyten Lipid-Fractionen bei beiden Gruppen signifikant an. Allerdings waren hier die Gehalte an Tag 8 zwischen den Gruppen signifikant unterschiedlich, was bei den Plasma-PL nicht feststellbar war. Die DHA-Gehalte sanken in der PC-Fraktion, analog zu den Ergebnissen in den Plasma-PL, in beiden Gruppen signifikant ab. In der PE-Fraktion war die Abnahme der DHA-Gehalte lediglich in der Kontroll-Gruppe signifikant.

Ery-PC vs Ery-PE. Wie Innis und Carlson in ihren Studien berichteten, kann die PC-Fraktion eher als Indikator für den AA-Status verwendet werden, während die PE-Fraktion eher den DHA-Status widerspiegelt (25-27;103). In vorliegender Studie sanken die DHA-Spiegel in der PE-Fraktion und die AA-Konzentrationen in der PC-Fraktion jeweils in der Kontroll-Gruppe signifikant ab, während in der MCT/LCT-Gruppe lediglich ein tendenzielles Absinken zu beobachten war. Es könnte vermutet werden, daß die beiden verabreichten Lipid-Emulsionen eine unterschiedliche Entwicklung bzgl. des DHA- und AA-Status verursachen. Zu betonen bleibt jedoch, daß sich am Ende der Studie die Gehalte der beiden Fettsäuren in den Ery-PL zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschieden. Offen bleibt, ob Fettsäuremuster in den Erythrocytenmembranen nach nur einwöchigem Beobachtungszeitraum als Indikator für den Fettsäurestatus geeignet sind.

4.6 Vitamine

Plasma-Tocopherol-Gehalt

Die γ -Tocopherolgehalte zu Studienbeginn lagen bei beiden Gruppen unter der Quantifizierungsgrenze von 0,878 $\mu\text{mol/l}$ (74;81). Die γ -Tocopherolgehalte stiegen bis Studientag 8 in beiden Gruppen signifikant an, in der Kontroll-Gruppe fast doppelt so hoch wie in der MCT/LCT-Gruppe (n.s. zwischen den Gruppen). Sojaöl enthält eine um über 400fach größere Konzentration an γ -Tocopherol als Kokosfett (69 mg/100g vs 0,17 mg/100g) (2). Leider liegen Angaben zu den tatsächlichen Konzentrationen in der LCT-Emulsion bzw. MCT/LCT-Emulsion nicht vor. Inwieweit sich das zugeführte Verhältnis γ - zu α -Tocopherol dem im Plasma gemessenen Verhältnis widerspiegelt, konnte nicht untersucht werden. Die Normbereiche für α - und γ -Tocopherol im Plasma bei Frühgeborenen (bei Geburt oder vor Infusion) werden in der Literatur mit 5,5 – 10,0 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 0 - 1,1 $\mu\text{mol/l}$ angegeben (15;92;93;211). Unsere gemessenen Mittelwerte an Studientag 1 (Konzentrationsangaben vor Infusion der Lipidemulsion) lagen bei beiden Gruppen im Normbereich. Baeckert et al. berichtete in seiner Studie mit Frühgeborenen von einem Plasma- α -Tocopherol von 36,2 $\mu\text{mol/l}$ nach totaler parenteraler Ernährung über 19 Tage (15). Unsere gemessenen Werte mit 54,16 $\mu\text{mol/l}$ in der Kontroll-Gruppe und 49,48 $\mu\text{mol/l}$ in der MCT/LCT-Gruppe an Studientag 8 lagen deutlich darüber. Die tägliche Zufuhr an α -Tocopherol war zwischen den Studien gut vergleichbar, jedoch handelte es sich bei Baeckert um „very low birth weight“ –Kinder.

Frühgeborenen weisen einen schlechten Antioxidantienstatus auf und sind unter parenteraler Ernährung besonders gefährdet für oxidative Schädigungen (76;90;165;194;196;202). Ein α -Tocopherol-Spiegel von unter 11,6 $\mu\text{mol/l}$ wird als kritischer Wert angegeben und wird mit einer erhöhten peroxidinduzierten Hämolyserate in Verbindung gebracht (67;93;107;137). Am achten Studientag lagen die gemessenen Werte beider Gruppen weit darüber, so daß der Vitamin-E-Status als ausreichend beurteilt werden kann.

Plasma-Retinol- und Carotin-Gehalt

Referenzwerte für Retinol bei Frühgeborenen werden in der Literatur zwischen 0,35 und 0,85 $\mu\text{mol/l}$ angegeben (15;29;41;88;101;102;188;206;211). Ein ausgeprägter Vitamin-A-Mangel wird definiert als eine Plasmakonzentration unter 0,35

$\mu\text{mol/l}$ (140), Werte zwischen $0,35 \mu\text{mol/l}$ und $0,70 \mu\text{mol/l}$ kennzeichnen bereits eine beginnende Unterversorgung (19;44;212).

Unsere gemessenen Mittelwerte lagen mit $0,55 \mu\text{mol/l}$ für die Kontroll-Gruppe bzw. mit $0,51 \mu\text{mol/l}$ im Bereich der beginnenden Unterversorgung. Während der Studienphase stieg die Retinol-Konzentration in der Kontroll-Gruppe auf $0,75 \mu\text{mol/l}$, während sie in der MCT/LCT-Gruppe weitgehend konstant blieb. Da der Retinolspiegel im Plasma homöostatisch reguliert wird, ist eine Beurteilung des Status anhand des Plasmaretinols nicht möglich. Eine deutliche Erniedrigung wird erst auftreten, wenn die Leberspeicher unter den kritischen Punkt von $10 \mu\text{g/g}$ entleert sind. Frühgeborene und Reifgeborene haben bei ihrer Geburt annähernd gleiche Vitamin-A-Reserven, jedoch zeigt sich bei den Frühgeborenen in den ersten beiden Lebensmonaten eine Erniedrigung der Leberspeicher. Der Zeitraum einer zu erwartenden Depletierung der Leber schwankt zwischen 28 und 214 Tagen (19). A- und β -Carotin waren praktisch nicht quantifizierbar und veränderten sich über die Studienperiode auch nicht.

4.7 Carnitin

Die Ausgangswerte für Carnitin- und Acylcarnitin lagen in ähnlichen Bereichen wie in der Literatur berichtet (180;187). Einen negativen Zusammenhang zwischen Gestationsalter und Plasma-Carnitinkonzentrationen, wie ihn Shenai in seiner Studie festgestellt hatte, konnten wir anhand unserer Daten nicht bestätigen (187). In vorliegender Studie sanken die Konzentrationen an freiem Carnitin in der Kontroll-Gruppe und die der Summen der Acylcarnitine in beiden Gruppen tendenziell während des Beobachtungszeitraumes. Ähnliche Ergebnisse erzielten Studien mit Neugeborenen, bei denen die Kinder carnitinfrei formula- bzw parenteral-ernährt wurden (142-144;147;148;152;153;178). Während Angsten und Mitarbeiter keine Veränderungen bei den Konzentrationen der einzelnen Acylcarnitinen feststellen konnten, stiegen in der MCT/LCT-Gruppe die Acetyl-Carnitine und damit auch die Summe der kurzkettigen Acylcarnitine signifikant an (9). Bei Erwachsenen wurde bereits nach Verabreichung einer MCT/LCT-Emulsion (50/50 Gew.%) im Vergleich zu einer LCT-Emulsion eine Verlagerung des freien Carnitins hin zur Form der kurzkettigen Acylcarnitinen festgestellt (167). Wells zeigte an Tier-Studien, daß 85% der aufgenommenen MCFAs in extrahepatischen Geweben metabolisiert

wurden (205). Durch den Anstieg der kurzkettigen Acylcarnitine in der MCT/LCT-Gruppe ist anzunehmen, daß ein Teil der Acetyl-Gruppen Carnitin-vermittelt aus den Leber-Mitochondrien transportiert werden und in extrahepatischen Geweben metabolisiert werden. Fraglich ist, ob hierfür die Carnitin-Konzentrationen bei Frühgeborenen ausreichend hoch sind. Während sowohl Muttermilch, als auch viele Formulanahrungen Carnitin enthalten, wird bei parenteral verabreichten Emulsionen Carnitin nicht routinemäßig zugesetzt. Parenteral ernährte Kinder ohne Supplementierung weisen sehr geringe Carnitin-Konzentrationen in den Geweben auf. Diskutiert wird bei Frühgeborenen ein Carnitinmangel als ursächlicher Faktor für eine begrenzte Ausnutzung parenteral zugeführte Lipide. In vitro Studien ergaben eine Beeinträchtigung der Fettsäureoxidation bei Carnitin-Gewebekonzentrationen von 10% unter dem Normalwert, dadurch würde die verfügbare Energie reduziert werden und das Wachstum beeinträchtigt werden. Auswertungen von Cairns und Stalker bzgl. parenteraler Ernährung über ein kurze Zeitspanne ergaben jedoch, daß Carnitin-Supplementierung keine eindeutigen Effekte hinsichtlich Gewichtszuwachs, Ausnutzung der Lipide oder Ketogenese mit sich führten. Empfohlen wird eine Carnitinsubstitution bei total-parenteraler Ernährung, die über 14 Tage hinweg durchgeführt wird (20). In Anlehnung an die Schlußfolgerungen von Cairns und Stalker kann in vorliegender Studie angenommen werden, daß eine Carnitin-Supplementierung für den einwöchigen Beobachtungszeitraum zu keiner Verbesserung bzgl. Gewichtsentwicklung oder auch Nutzbarmachung der Lipide geführt hätte. Nach den sieben Tagen, wo ausschließlich parenteral ernährt wurde, wurden die Kinder über Muttermilch oder auch Formula ernährt, die beide Carnitin enthalten.

4.8 Konversion von $^{13}\text{C}18:2n-6$ und $^{13}\text{C}18:3n-3$ zu langkettigen hochungesättigten Fettsäuren

4.8.1 Beurteilung von Studiendesign und Methodik

4.8.1.1 *In vivo Untersuchungen mit stabilen Isotopen*

Bei der sogenannten Stabile-Isotopen-Technik stehen sehr genaue Bestimmungsmethoden zur Messung der Anreicherung von stabilen Isotopen zu Verfügung. Auch beim Einsatz kleinster Tracermengen ist eine exakte Analyse möglich. Sie stellen Untersuchungsverfahren dar, die bei verschiedensten Fragestellungen im Aminosäuren-, Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel eingesetzt werden können und zudem bei Patienten in vivo anwendbar sind.

Unter „Isotop“ versteht man eine Variante des selben Atoms. Diese unterscheidet sich jedoch durch die Masse, also durch die Anzahl der Neutronen. Es gibt neben den radioaktiven auch mehrere stabile Isotope des selben Atoms. In der klinischen Stoffwechselforschung werden vor allem stabile Isotope des Kohlenstoffes (^{13}C), des Stickstoffes (^{15}N) und des Wasserstoffes (Deuterium, ^2H) verwendet. Stabile Isotope kommen natürlicherweise vor, jedoch sehr selten. Ihre relative Häufigkeit liegt unter 1,5%. Eben weil sie in der Natur so selten vorkommen, eignen sie sich auch als Tracer. Tracersubstanzen lassen sich heute künstlich erzeugen, indem ein Stoff mit einem stabilen Isotop markiert wird. Diese markierte Substanzen haben den entscheidenden Vorteil, daß sie praktisch nebenwirkungsfrei sind. So ist beispielsweise aus Tierversuchen bekannt, daß eine Anreicherung von ^{13}C im Körper bis auf 60 Atomprozent keinerlei morphologische Veränderungen oder Beeinträchtigung der Fertilität hervorruft (89). Ebenfalls gibt es keine Hinweise auf eine eventuelle teratogene Wirkung von Substanzen, die mit ^{13}C markiert sind. Aufgrund dieser Befunde gilt die Verwendung von stabilen Isotopen als sicher und frei von Nebenwirkungen und ist auch in der pädiatrischen Forschung zugelassen (176;179).

4.8.1.2 *Studiendesign der Tracerstudie*

Aus ethischen Gründen besteht bei Studien mit Frühgeborenen die Forderung, die Anzahl und das Volumen der Blutproben so gering wie möglich zu halten. Der Einsatz ^{13}C -markierter Fettsäuren und die Technik der Massenspektrometrie machen

eine Tracer-Detektion in sehr geringen Blutvolumina möglich und stellen so eine Möglichkeit dar, die Kinetik von Fettsäuren auch bei Säuglingen zu untersuchen (117). Zwei verschiedene Wege der Tracer-Applikation sind üblich: die einmalige Bolusgabe und die kontinuierliche Infusion. Nach einmaliger Tracer-Bolusgabe, welche bei Studien mit Frühgeborenen Einsatz findet, kann fortlaufend die Kinetik zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht werden. Auf diese Weise können Konversion und Umsatzraten einzelner Fettsäuren detailliert untersucht werden. Üblicherweise wird die gemessene Anreicherung einzelner Fettsäuren gegen die Zeitachse dargestellt und die Flächen unter den Anreicherungskurven, sowie Quotienten aus den Flächen der Produkt und Vorläuferfettsäuren berechnet. Die Quotienten geben Aufschluß über die Intensität des Tracertransfers, Informationen quantitativer Art können auf diese Weise nicht gewonnen werden (59;65;166). Wie Untersuchungen von Demmelmair und Mitarbeiter ergaben, können mit nur zwei Blutproben, vor der Tracergabe als Maß für die natürliche Anreicherung und nach der Tracergabe, Aussagen über die Konversionsintensität getroffen werden (59). In diesem Fall wird keine Flächenberechnung durchgeführt, sondern Quotienten der gemessenen Tracerkonzentrationen von Produkt- und Vorläufer-Fettsäuren errechnet. Tracerapplikation und Blutentnahme müssen in diesem Fall zu einem exakt definierten Zeitpunkt statt finden. Dieses Modell mag in der Studiendurchführung Mehraufwand bedeuten, wird aber den Bedürfnissen der Kinder gerecht.

4.8.2 Interpretation und Beurteilung der Ergebnisse der Tracerstudie

Wie mehrfach in der Vergangenheit berichtet wurde, sind Reif- und auch Frühgeborene fähig, LCP aus zugeführte LA und ALA endogen zu synthetisieren (33;173;177). Anhand unserer gemessenen Anreicherungen an Tag 8 können wir dies bestätigen.

4.8.2.1 Vergleich der Anreicherungen in den n-3 und n-6 Fettsäuren

Die Quotienten der APE-Werte und der Tracer-Konzentrationen lagen bei den n-3 PUFA höher als bei den n-6 PUFA. Ein Verdünnungseffekt kann ausgeschlossen werden, da diese Tendenz eben auch bei den Tracer-Konzentrationen feststellbar war. Ähnliches wurde bereits von verschiedenen Autoren berichtet (65;177). In vitro und in vivo-Studien ergaben eine Substratspräferenz der $\Delta 6$ - und $\Delta 5$ -Desaturasen für für die n-3 Reihe (65;100;157;191;193). Unsere niedrigen Quo-

tienten lagen vor allem in den niedrigen ALA-Tracerkonzentrationen begründet. Wie Poovaiah und Sheaff bei Studien mit Ratten nachweisen konnten, war die niedrige ALA-Tracerkonzentration auf eine geringe Inkorporation von ALA in die PL zurückzuführen (158;186). Während das Verhältnis $^{13}\text{C}18:2n-6/^{13}\text{C}18:3n-3$ in der applizierten Tracerdosis 5:1 (mg) betrug, waren in den Plasma-PL ein Verhältnis von 10:1 (μMol) in der Kontroll-Gruppe und 19:1 (μMol) in der MCT/LCT-Gruppe meßbar. Eine mögliche Erklärung wäre hierfür eine höhere Konversionsrate der ALA im Vergleich zu LA, sowie auch eine vergleichsweise geringere Inkorporation von ALA .

4.8.2.2 Vergleich von Atom Percent Excess und Tracerkonzentrationen

Bei den APE-Werten waren die Unterschiede bzgl. der gemessenen Fettsäuren zwischen den Gruppen wesentlich deutlicher, als nach Korrektur der Plasmakonzentrationen. Die größten Unterschiede bestanden bei den APE-Werten der LA, ALA, EPA, und DPA, was zum einen in den verhältnismäßig niedrigen Plasmakonzentrationen dieser Fettsäuren in der MCT/LCT-Gruppe begründet lag. Zum anderen aber, im Falle der LA und ALA, war die orale Zufuhr der $^{13}\text{C}18:2n-6$ und $^{13}\text{C}18:3n-3$ im Vergleich zu den intravenös zugeführten $^{12}\text{C}18:2n-6$ und $^{12}\text{C}18:3n-3$ in der MCT/LCT-Gruppe wesentlich höher. Bei der C20:4n-6, der C22:4n-6 und der C18:3n-3 unterschieden sich die Werte der Tracerkonzentrationen nicht mehr zwischen den beiden Gruppen.

4.8.2.3 Quotienten der APE-Werte

Die APE-Quotienten von Produkt- und Vorläufer-Fettsäuren waren sehr ähnlich zwischen den beiden Gruppen. Dies bestätigt die Annahme, daß die endogene Synthese in beiden Gruppen ähnlich verlief und durch die MCT-Zufuhr nicht beeinflusst wurde. Denkbar wäre hier eine Einflußnahme auf die Konversion DPA zu DHA, welche eine peroxisomale Kettenverkürzung der C24:6n-3 mit bedingt (192). Carnielli und Mitarbeiter fanden bei Frühgeborenen, die enteral mit MCT-Formula ernährt wurden, niedrigere DHA-Konzentrationen in den PL (32).

4.8.2.4 Quotienten der Tracerkonzentrationen

Bei den Quotienten der Tracerkonzentrationen zeigten sich ebenfalls ähnliche Tendenzen zwischen den beiden Gruppen. Die Werte für $^{13}\text{C}_{20:3n-6}/^{13}\text{C}_{18:2n-6}$ und $^{13}\text{C}_{20:4n-6}/^{13}\text{C}_{18:2n-6}$ unterschieden sich nur unwesentlich, was eine mögliche Inhibierung der Synthese von C20:3n-6 und C20:4n-6 aus C18:2n-6 durch die höhere exogene Zufuhr dieser Fettsäure in der Kontroll-Gruppe ausschließt. Die Quotienten $^{13}\text{C}_{22:5n-3}/^{13}\text{C}_{18:3n-3}$ unterschieden sich tendenziell stark (n.s.) zwischen den beiden Gruppen. Beide Werte zeigten auch eine relativ große Streubreite. Ähnliches berichtete Diener in ihrer Studie mit Frühgeborenen (62). Bei fehlender Zufuhr von n-3 PUFA unterliegt die Fähigkeit zur Synthese von C22:5n-3 starken individuellen Schwankungen, wobei eine höhere Bildung von C22:5n-3 auch mit einer höheren Konzentration dieser Fettsäure in den Plasma-PL verbunden ist.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Herkömmlich eingesetzte Lipidemulsionen für Frühgeborene enthalten einen relativ hohen Anteil an LA und ALA, um einem Mangel an diesen essentiellen Fettsäuren vorzubeugen. Diskutiert werden in diesem Zusammenhang unerwünschte Nebenwirkung einer zu hohen Zufuhr dieser Fettsäuren, wie beispielsweise eine mögliche Hemmung der Δ -5-Desaturase oder ein erhöhtes Peroxidationsrisiko. Um die parenterale Ernährung von Frühgeborenen zu optimieren, wurde eine MCT/LCT-Fettemulsion, die sich bei erwachsenen Patienten bereits gut etabliert hat, getestet. Lipofundin MCT enthält zu gleichen Teilen mittel- und langkettige Triglyceride. Somit ist der Anteil an Linol- und α -Linolensäure in der MCT/LCT-Emulsion gegenüber der herkömmlichen LCT-Emulsion um die Hälfte reduziert. Wichtige Aspekte bei der Untersuchung der Wirksamkeit von Lipofundin MCT waren, die essentiellen Fettsäuren dem Bedarf von Frühgeborenen adäquat, nicht jedoch übermäßig zuzuführen, sowie die bei Infusion von ungesättigten Fettsäuren auftretenden unerwünschten Nebenwirkungen zu reduzieren. Der Schwerpunkt der Studie lag darin, die Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung von Plasma-Fractionen und Erythrozyten, besonders im Hinblick auf die endogene Synthese langkettiger Polyenfettsäuren zu untersuchen.

An der Kinderklinik der Universität Pécs wurden 15 Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von 1390g und 2100g rekrutiert, von denen 12 die Studie abschlossen. Ausschließlich (≥ 80 Energie-%) parenteral ernährte Kinder wurden randomisiert einer der beiden Präparate zugeordnet. Die LCT-Emulsion enthielt unter anderem 12% C16:0, 4,5% C18:0, 24% C18:1n-9, 50% C18:2n-6 und 7% C18:3n-3. Hingegen die MCT/LCT-Emulsion enthielt 5% C16:0, 2% C18:0, 12% C18:1n-9, 27% C18:2n-6, 4% C18:3n-3 und darüber hinaus einen Anteil mittelkettiger Fettsäuren von etwa 50%. Das Fettsäuremuster von Plasma-TG, -PL und das von Erythrozyten-PL wurde bei Studieneintritt und am Ende der Studie analysiert. 24 Stunden vor der letzten Blutentnahme wurden den Kindern oral uniform ^{13}C -markierte Linol- und α -Linolensäure als Tracer verabreicht. In den LCP der Plasma-PL wurden an Tag 7 der natürliche ^{13}C -Gehalt und an Tag 8 die ^{13}C -Anreicherung bestimmt. Die beiden Gruppen waren hinsichtlich der klinischen Daten und der Ernährung vergleichbar, eine gute klinische Verträglichkeit von Lipofundin MCT war gegeben.

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. In den Plasma-Triglyceriden stiegen während des Untersuchungszeitraumes in beiden Gruppen die Gehalte an LA und ALA an, wobei sich am Ende der Studie die Werte nicht voneinander unterschieden. Die Gehalte der EPA stiegen in beiden Gruppen, während die der DHA tendenziell fielen. Die Kinder der MCT/LCT-Gruppe hatten zu Studienende jedoch einen signifikant höheren Anteil der DHA. Somit erreichten die Frühgeborenen der MCT/LCT-Gruppe einen vergleichbaren LA- und ALA-Status wie die Kontroll-Gruppe. Die Gehalte von 27% LA und 4% ALA sind offensichtlich ausreichend, um kurzfristig den AA- und DHA-Status der Kinder aufrechterhalten zu können.
2. Wie bei den Triglyceriden stiegen in den Plasma-Phospholipiden die Gehalte für LA, ALA und EPA über die einwöchige Studiendauer an. Auch die prozentualen Anteile für LA und ALA stiegen in beiden Gruppen signifikant an, im Falle der LA lagen sie in der Kontroll-Gruppe am Tag 8 signifikant höher. Tendenziell war feststellbar, daß trotz der höheren Vorläufer-Fettsäuren in der Kontroll-Gruppe die Anteile für AA und DHA unter denen der MCT/LCT-Gruppe lagen.
3. Auch in den Erythrozyten-Phospholipiden kam es zu einem Anstieg der LA und ALA, wobei hier in der Kontroll-Gruppe jeweils höhere Anteile gemessen wurden. Die AA Anteile fielen lediglich in der Kontroll-Gruppe signifikant ab. Die Anteile für DHA sanken bei der Kontroll-Gruppe in beiden Lipidfraktionen ab, bei der MCT/LCT-Gruppe lediglich in der PC-Fraktion.
4. Die Gehalte an α -Tocopherol stiegen in beiden Gruppen signifikant an und lagen somit weit über den in der Literatur als kritisch angegebenen Wert, der mit einer erhöhten peroxidinduzierten Hämolyserate in Verbindung gebracht wird.
5. Während des Studienverlaufs sanken die Konzentrationen an freiem Carnitin in der Kontroll-Gruppe und die der Summen der Acylcarnitine in beiden Gruppen tendenziell ab. Unter Verabreichung der MCT/LCT-Emulsion konnte eine Verlagerung des freien Carnitins hin zur Form der kurzkettigen Acylcarnitine festgestellt werden.

6. Die beiden Gruppen unterschieden sich nicht in der endogenen Synthese von AA aus Linolsäure und von DHA aus α -Linolensäure.

Die Verabreichung der getesteten MCT/LCT-Emulsion führt bei einwöchiger Applikationsdauer im Rahmen einer totalen parenteralen Ernährung bei Frühgeborenen zu keiner negativen Beeinflussung des LCP-Status. Die mittelkettigen Fettsäuren stehen für eine rasche Oxidation zur Verfügung, während die langkettigen Fettsäuren für den Einbau in Membranstrukturen genutzt werden können.

6 Literatur

- (1) Nelson Textbook of Pediatrics. 14th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1992.
- (2) Food and Nutrition Board: Recommended Dietary Allowances. 10th ed. Washington: National Academy of Sciences; 1989.
- (3) Adolph M, Eckart J, Metges C et al. Influence of MCT on the LCT oxidation rate during total parenteral nutrition of severely injured patients. Clin Nutr (suppl) 1989;8:42.
- (4) Adolph M, Eckart J, Metges C et al. Die Oxidationrate unterschiedlicher, parenteral verabfolgter ¹³C-markierter Triglyceride bei polytraumatisierten Patienten. Beitr Infusionsther 1989;(25):439-55.
- (5) Adolph M, Eckart J, Metges C et al. Oxidation of long and medium chain triglycerides during total parenteral nutrition of severely injured patients. In: Hartig W, Dietze G, Weiner R, Fürst P, editors. Proc. 10th Congr ESPEN Leipzig 1988. Basel: Karger; 1989. p. 100-10.
- (6) Anderson GJ, Connor WE, Corliss JD. Docosahexaenoic acid is the preferred dietary n-3 fatty acid for the development of the brain and retina. Pediatr Res 1990;27:89-97.
- (7) Andrew G, Chan G, Schiff D. Lipid metabolism in the neonate. I. The effects of Intralipid infusion on plasma triglyceride and free fatty acid concentrations in the neonate. J Pediatr 1976;88:273-84.
- (8) Andrew G, Chan G, Schiff D. Lipid metabolism in the neonate. III. The ketogenic effect of Intralipid infusion in the neonate. J Pediatr 1978;92:995-7.
- (9) Angsten G, Boberg M, Cederblad G et al. Metabolic effects in neonates receiving intravenous medium-chain triglycerides. Acta Paediatr 2002;91:188-97.

- (10) Anonymous. Essential fatty acid deficiency in premature infants. *Nutr Rev* 1989;47:39-41.
- (11) Arduini A, Tyurin V, Tyuruna Y et al. Acyl-trafficking in membrane phospholipid fatty acid turnover: the transfer of fatty acid from the acyl-L-carnitine pool to membrane phospholipids in intact human erythrocytes. *Bioch Biophys Res Com* 1992;187:353-8.
- (12) Bach AC, Babayan VK. Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr* 1982;36:950-62.
- (13) Bach AC, Frey A, Lutz O. Clinical and experimental effects of medium-chain triglycerides based fat emulsions - a review. *Clin Nutr* 1989;8:223-35.
- (14) Bach AC, Storch D, Meraihi Z. Medium-chain triacylglycerol-based fat emulsions: an alternative energy supply in stress and sepsis. *J Parenter Enteral Nutr* 1988;12:81S.
- (15) Baeckert PA, Greene HL, Fritz I et al. Vitamin concentrations in very low birth weight infants given intravenously in a lipid emulsion: Measurement of vitamins A, D, and E and riboflavin. *J Pediatr* 1988;113:1057-65.
- (16) Ballabriga A, Martinez M. Changes in erythrocyte lipid stroma in the premature infant according to dietary fat composition. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:705-9.
- (17) Beale EF, Nelson RM, Bucciarelli RL et al. Intrahepatic cholestasis associated with parenteral nutrition in premature infants. *Pediatrics* 1979;64:342-7.
- (18) Bientz J, Frey A, Schirardin H, Bach AC. Medium-chain triglycerides in parenteral nutrition in the newborn: a short-term clinical trial. *Infusionstherapie* 1988;15:96-9.
- (19) Biesalski H-K, Fürst P, Kasper H et al. *Ernährungsmedizin*. 3. ed. Stuttgart: Thieme Verlag; 2004.

- (20) Bonner CM, DeBrie KL, Hug G et al. Effects of parenteral L-carnitine supplementation on fat metabolism and nutrition in premature neonates. *J Pediatr* 1995;126:287-92.
- (21) Borum PR. Role of carnitine during development. *Can J Physiol Pharmacol* 2003;63:571-6.
- (22) Bresson JL, Bader B, Rocchiccioli F, et al. Protein-metabolism kinetics and energy-substrate utilization in infants fed parenteral solutions with different glucose-fat ratios. *Am J Clin Nutr* 1991;54:370-6.
- (23) Bresson JL, Nancy P, Putet G, et al. Energy substrate utilization in infants receiving total parenteral nutrition with different glucose to fat ratios. *Pediatr Res* 1989;25:645-8.
- (24) Brivet M, Boutron A, Slama A et al. Defects in activation and transport of fatty acids. *J Inher Metab Dis* 1999;22:428-41.
- (25) Carlson S.E. Lessons learned from randomized infants to marine oil-supplemented formulas in nutrition trials. *J Pediatr* 1994;125:S33-S38.
- (26) Carlson S.E., Cooke RJ, Rhodes PG et al. Effect of vegetable and marine oils in preterm infant formulas on blood arachidonic and docosahexaenoic acids. *J Pediatr* 1992;120:S159-S167.
- (27) Carlson S.E., Werkman SH, Tolley EA. Effect of long-chain n-3 fatty acid supplementation on visual acuity and growth of preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *Am J Clin Nutr* 1996;63:687-97.
- (28) Carlson SE, Cooke RJ, Werkman SH, Tolley EA. First year growth of preterm infants fed standard compared to marine oil n-3 supplemented formula. *Lipids* 1992;27:901-7.
- (29) Carlson SE, Peeples JM, Werkman SH, Koo WW. Plasma retinol and retinol binding protein concentrations in premature infants fed preterm formula past hospital discharge. *Eur J Clin Nutr* 1995;49:134-6.

- (30) Carlson SE, Rhodes PG, Ferguson MG. Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *Am J Clin Nutr* 1986;44:798-804.
- (31) Carnielli VP, Pederzini F, Vittorangeli R et al. Plasma and red blood cell fatty acid of very low birth weight infants fed exclusively with expressed preterm human milk. *Pediatr Res* 1996;39:671-9.
- (32) Carnielli VP, Rossi K, Badon T et al. Medium-chain triacylglycerols in formulas for preterm infants: effect on plasma lipids, circulating concentrations of medium-chain fatty acids, and essential fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1996;64:152-8.
- (33) Carnielli VP, Wattimena DJ, Vittorangeli R et al. The very low birth weight premature infant is capable of synthesizing arachidonic and docosahexaenoic acids from linoleic and linolenic acids. *Pediatr Res* 1996;40:169-74.
- (34) Carpentier Y. Intravascular metabolism of fat emulsions. *Clin Nutr* 1989;8:115.
- (35) Carpentier Y, Simoens C, Siderova V et al. Recent developments in lipid emulsions: Relevance to intensive care. *Nutrition* 1997;13 (Suppl):73-8.
- (36) Carpentier Y, Thonnart N, Denis P. Metabolic utilization of LCT vs mixed MCT/LCT emulsion during intravenous infusion in man. In: Eckart J, Wolf-ram G, editors. 1985. p. 40-8.
- (37) Carpentier YA. Administration of MCT-containing fat emulsions in parenteral nutrition. *Beitr Infusionstherapie Klin Ernährung* 1988;Creutzfeldt, W.; Schauder, P.(20):5-9.
- (38) Cassady G. Bromide space studies in infants of low birth weight. *Pediatr Res* 1970;4:14-24.
- (39) Cassady G, Milstead RR. Antipyrine space studies and cell water estimates in infants of low birth weight. *Pediatr Res* 1971;5:673-82.

- (40) Cenedella RJ, Allen A. Differences between the metabolism of linoleic and palmitic acid: utilization for cholesterol synthesis and oxidation to respiratory CO₂. *Lipids* 1969;4:155-8.
- (41) Chabra S, Arnold JD, Lesli GI et al. Vitamin A status in preterm neonates with and without chronic lung disease. *J Pediatr and Child Health* 1994;30:432-5.
- (42) Chace DH, Millington DS, Terada N et al. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1993;39(66):71.
- (43) Chambaz J, Ravel D, Manier M-C, et al. Essential fatty acids interconversion in the human fetal liver. *Biol Neonate* 1985;47:136-40.
- (44) Chan V, Greenough A, Cheeseman P, Gamsu H. Vitamin A levels and feeding practice in neonates with and without chronic lung disease. *J Perinat Med* 1993;21:205-10.
- (45) Chirouze V, Lapillonne A, Putet G, Salle BL. Red blood cell fatty acid composition in low-birth-weight infants fed either human milk or formula during the first months of life. *Acta Paediatr Suppl* 1994;405:70-7.
- (46) Clandinin MT, Chappell JE, Leong S et al. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum Dev* 1980;4:121-9.
- (47) Clandinin MT, Chappell JE, Heim T et al. Fatty acid accretion in the development of human spinal cord. *Early Hum Dev* 1981;5:1-6.
- (48) Clandinin MT, Chappell JE, Leong S et al. Extrauterine fatty acid accretion in infant brain: Implications for fatty acid requirements. *Early Hum Dev* 1980;4:131-8.
- (49) Clandinin MT, Garg ML, Parrott A, Van Aerde J. Addition of long-chain polyunsaturated fatty acids to formula to very low birth weight infants. *Lipids* 1992;27:896-900.

- (50) Cleary TC, Pickering LK. Mechanisms of intralipid effect on polymorphonuclear leukocytes. *J Clin Lab Immunol* 1983;11:21-6.
- (51) Cook.P. A clinical study of the premature infant. *Arch Pediatr* 1921;38:201-16.
- (52) Dahlstrom KA, Goulet O, Roberts RL, et al. lipid tolerance in children receiving long-term parenteral nutrition: a biochemical and immunologic study. *J Pediatr* 1988;113:985-90.
- (53) Dahms BB, Halpin TC. Serial liver biopsies in parenteral nutrition-associated cholestasis of early infancy. *Gastroenterology* 1981;81:136-44.
- (54) Dancis J, O'Connell JR, Holt LE. A grid for recording the weight of preterm infants. *J Pediatr* 1948;33:570-2.
- (55) Dawes RFH, Royle GT, Dennison AR et al. Metabolic studies of lipid emulsion containing medium chain triglycerides in perioperative and total parenteral nutrition infusions. *World J Surg* 1986;10:38-46.
- (56) Decsi T, Clausen U, Reisinger A et al. Langkettige Polyenfettsäuren in der Ernährung frühgeborener und reifgeborener Säuglinge. *Ernähr-Umsch* 1994;41:50-4.
- (57) Degott C, Messing B, Moreau D, et al. Liver phospholipidosis induced by parenteral nutrition: histologic, histochemical and ultrastructural investigations. *Gastroenterology* 1988;95:183-91.
- (58) DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr* 2000;72:905-11.
- (59) Demmelmair H, Iser B, Rauh-Pfeiffer A, Koletzko B. Comparison of bolus versus fractionated oral applications of ¹³C-linoleic acid in humans. *Eur J Clin Invest* 1999;29:603-9.
- (60) Demmelmair H, Sauerwald T, Koletzko B, Richter T. New insights into lipid and fatty acid metabolism via stable isotopes. *Eur J Pediatr* 1997;156(Suppl 1):S70-S74.

- (61) Demmelmair H, von Schenck U, Behrendt E et al. Estimation of arachidonic acid synthesis in full term neonates using natural variation of ¹³C content. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:31-6.
- (62) Diener U. Einfluß der Zufuhr von Docosahexaensäure auf den Fettsäurestatus und die Konversion von ¹³C-markierter Linolsäure und α -Linolensäure bei Frühgeborenen 1999.
- (63) Dougherty RM, Galli C, Ferro-Luzzi A, Iacono JM. Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cells, and platelets and how they are affected by dietary lipids: a study of normal subjects from Italy, Finland and the USA. *Am J Clin Nutr* 1987;45:443-55.
- (64) Eason LB, Halata MS, Dweck HS. Parenteral nutrition in the newborn: a practical guide. *Pediatr Clin North Am* 1982;29:1171-90.
- (65) Emken EA, Adlof RO, Gulley R.M. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic acids in young adult males. *Biochim Biophys Acta* 1994;1213:277-88.
- (66) ESPGAN Committee on Nutrition: Aggett PJ, Haschke F, Heine W et al. Committee Report. Comment on the content and composition of lipids in infant formulas. *Acta Paediatr Scand* 1991;80:887-96.
- (67) Farrell PM, Zachman RD, Gutcher GR. Fat-soluble vitamins A, E, and K in the premature infant. In: Tsang RC, editor. *Vitamin and mineral requirements in preterm infants*. Decker Verlag; 1985. p. 63-98.
- (68) Fliesler SJ, Anderson RE. Chemistry and metabolism of lipids in the vertebrate retina. *Prog Lipid Res* 1983;22:79-131.
- (69) Folch J, Lees M, Stanley GHS. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957;226:497-509.
- (70) Forte TM, Genzel-Boroviczény O, Austin MA et al. Effect of total parenteral nutrition with intravenous fat on lipids and high density lipoprotein heterogeneity in neonates. *J Parenter Enteral Nutr* 1989;13:490-500.

- (71) Friedman Z. Essential fatty acids revisited. *Am J Dis Child* 1980;134:397-408.
- (72) Friedman Z, Danon A, Stahlman MT, Oates JA. Rapid onset of essential fatty acid deficiency in the newborn. *Pediatrics* 1976;58:640-9.
- (73) Friis-Hansen B. Body water compartments in children: Changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics* 1961;28:169-81.
- (74) Funk W, Dammann V, Donnevert G. Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie. Weinheim: VCH; 1992.
- (75) Gempel K, Kiechl S, Hofmann S et al. Screening for carnitine palmitoyl-transferase II deficiency by tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2002;25:17-27.
- (76) Gerdin E, Tydén O, Eriksson UJ. The development of antioxidant enzymatic defense in the perinatal rat lung: activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase. *Pediatr Res* 1985;19:687-91.
- (77) Ghebremeskel K, Leighfield M, Leaf A, et al. Fatty acid composition of plasma and red cell phospholipids of preterm babies fed on breast milk and formulas. *Eur J Pediatr* 1995;1995:154-46.
- (78) Ghisolfi J. How to appreciate the adequacy supply of essential fatty acid during total parenteral nutrition in clinical practice. *Essential fatty acids and total parenteral nutrition*. Paris: John Libbey Eurotext; 1990. p. 157-62.
- (79) Ghisolfi J, Garcia J, Couveras O, et al. Metabolic utilisation of linoleic acid from fat emulsion in infants during parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 1988;12:387-91.
- (80) Glatz J, Soffers A, Katan M. Fatty acid composition of serum cholesteryl esters and erythrocyte membranes as indicators of linoleic acid intake in man. *Am J Clin Nutr* 1989;49:269-76.
- (81) Göbel Y, Schaffer C, Koletzko B. Simultaneous determination of low plasma concentrations of retinol and tocopherols in preterm infants by a

- high-performance Liquid chromatographic micromethod. *J Chromatogr B* 1997;688:57-62.
- (82) Goel R, Hamosh M, Stahl GE et al. Plasma lecithin: cholesterol acyltransferase and plasma lipolytic activity in preterm infants given total parenteral nutrition with 10% or 20% Intralipid. *Acta Paediatr* 1995;84:1060-4.
- (83) Goulet O. Indikationen und Perspektiven totaler parenteraler Ernährung bei Kinder. *Totale parenterale Ernährung im Kindesalter. Annales Nestlé*. Vevey: Nestlé AG; 1996. p. 53-62.
- (84) Goulet O, Duhamel JF, Ricour C. Nutritional problems. In: Tinker J, Zapol W, editors. *Care in the critically ill patient*. Springer-Verlag ed. Berlin: 1992. p. 1415-36.
- (85) Green TP, Thompson TR, Johnson DE, et al. Diuresis and pulmonary function in premature infants with respiratory distress syndrome. *J Pediatr* 1983;103:618-23.
- (86) Greene HL, Hambidge KM, Schanler R, Tsang RC. Guidelines for the use of vitamins, trace elements, calcium, magnesium and phosphorus in infants and children receiving total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1988;48:1324-42.
- (87) Greene HL, Hazlett D, Demaree r. Relationship between intralipid-induced hyperlipidemia and pulmonary function. *Am J Clin Nutr* 1976;29:127-35.
- (88) Greene HL, Moore C, Phillips B et al. Evaluation of a pediatric multiple vitamin preparation for total parenteral nutrition II. Blood levels of vitamin A, D and E. *Pediatrics* 1986;77:539-47.
- (89) Gregg CT, Hutson JY, Prine JR et al. Substantial replacement of mammalian body carbon with carbon-13. *Life Sci* 1973;13:775-82.
- (90) Gross S. Hemolytic anemia in premature infants: relationship to vitamin E, selenium, glutathione peroxidase, and erythrocyte lipids. *Sem Hematol* 1976;13:187-99.

- (91) Gross SJ, Gabriel E. Vitamin E status in preterm infants fed human milk or infant formula. *J Pediatr* 1985;106:635-9.
- (92) Gutcher GR, Lax A, Farrell PM. Tocopherol isomers in intravenous lipid emulsions and resultant plasma concentrations. *J Parent Ent Nutr* 1984;8:269-73.
- (93) Gutcher GR, Rayner WJ, Farrell PM. An evaluation of vitamin E status in premature infants. *Am J Clin Nutr* 1984;40:1078-89.
- (94) Hahn P. Carnitine in the perinatal period of mammals. *Nutr Res* 1982;2:201-6.
- (95) Haschke F, van't Hof MA, Euro-Growth Study Group. Euro-Growth References for length, weight and body circumference. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31 (suppl 1):S14-S38.
- (96) Haumont D, Deckelbaum RJ, Richelle M et al. Plasma lipid and plasma lipoprotein concentrations in low birth weight infants given parenteral nutrition with twenty or ten percent lipid emulsion. *J Pediatr* 1989;115:787-93.
- (97) Haumont D, Richelle M, Deckelbaum RJCE, Carpentier YA. Effect of liposomal content of lipid emulsions on plasma lipid concentrations in low birth weight infants receiving parenteral nutrition. *J Pediatr* 1992;121:759-63.
- (98) Heird WC. Lipid metabolism in parenteral nutrition. In: Fomon SJ, Heird WC, editors. *Energy and protein needs during infancy*. New York: Academic Press; 1986. p. 215-29.
- (99) Hess D, Keller HE, Oberlin B et al. Simultaneous determination of retinol, tocopherols, carotenes and lycopene in plasma by means of high-performance liquid chromatography on reversed phase. *Internat J Vit Nutr Res* 1991;61:232-8.
- (100) Hrelia S, Celadon M, Rossi CA et al. Delta-6-desaturation of linoleic and alpha-linolenic acids in aged rats: a kinetic analysis. *Biochem Int* 1990;22:659-67.

- (101) Hustead VA, Gutcher GR, Anderson SA, Zachman RD. Relationship between tocopherol and serum lipid levels for determination of nutritional adequacy. *J Pediatr* 1984;105:610-5.
- (102) ICGPD (=Italian Collaborative Group on Preterm Delivery). Supplementation and plasma levels of vitamin A in premature newborns at risk for chronic lung disease. *Develop Pharmacol Ther* 1993;20:144-54.
- (103) Innis SM. n-3 fatty acid requirements of the newborn. *Lipids* 1992;27:879-85.
- (104) Innis SM. Effect of total parenteral nutrition with linoleic acid-rich emulsions on tissue w6 and w3 fatty acids in the rat. *Lipids* 1986;21:132-8.
- (105) Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Progr Lipid Res* 1991;30:39-103.
- (106) Innis SM, Foote KD, MacKinnon MJ, King DJ. Plasma and red blood cell fatty acids of low-birth-weight infants fed their mother's expressed milk or preterm-infant formula. *Am J Clin Nutr* 1990;51:994-1000.
- (107) Jagadeesan V, Reddy V. Interrelationship between vitamins E and A: a clinical study. *Clin Chem Acta* 1978;90:71-4.
- (108) Jansing P, Reinauer H. Über den Abbau von mittel- und langkettigen Triglyceriden. *Infusionstherapie* 1978;5:26.
- (109) Johnson RC, Cotter R. Metabolism of medium-chain triglyceride lipid emulsion. *Nutr Int* 1986;2:150-6.
- (110) Jones PJ, Pencharz PB, Clandinin MT. Whole body oxidation of dietary fatty acids: implications for energy utilization. *Am J Clin Nutr* 1985;42:769-77.
- (111) Kolarovic L, Fournier NC. A comparison of extraction methods for the isolation of phospholipids from biological sources. *Analyt Biochem* 1986;156:244-50.

- (112) Koletzko B, Müller J. Cis- and trans-isomeric fatty acids in plasma lipids of newborn infants and their mothers. *Biol Neonate* 1990;57:172-8.
- (113) Koletzko B. Essentielle Fettsäuren: Bedeutung für Medizin und Ernährung. *Akt Endokrinol Stoffw* 1986;7:18-27.
- (114) Koletzko B, Braun M. Arachidonic acid and early human growth: is there a relation? *Ann Nutr Metab* 1991;35(3):128-31.
- (115) Koletzko B, Decsi T, Demmelmair H. Arachidonic acid supply and metabolism in human infants born at full term. *Lipids* 1996;31:79-83.
- (116) Koletzko B, Diener U, Keicher U et al. Fatty acid profiles, antioxidant status, and growth of preterm infants fed diets without or with long-chain polyunsaturated fatty acids: a randomized clinical trial. 2000. Ref Type: Unpublished Work
- (117) Koletzko B, Sauerwald T, Demmelmair H. Safety of stable isotopes use. *Eur J Pediatr* 1997;156(Suppl 1):S12-S17.
- (118) Koletzko B, Schmidt E, Bremer HJ et al. Effect of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids on the essential fatty acid status of premature infants. *Eur J Pediatr* 1989;148:669-75.
- (119) Koletzko B, Thiel I, Abiodun PO. Fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *J Pediatr* 1992;120:62-70.
- (120) Koletzko B, Whitelaw A, Takeda J et al. Linoleic acid metabolism in parenterally fed infants. *Pediatr Res* 1987;22:232.
- (121) Koolman J, Röhm K. Taschenatlas der Biochemie. Stuttgart: Thieme; 1994.
- (122) Lai H, Chen W. Effects of medium-chain and long-chain triacylglycerols in pediatric surgical patients. *Nutrition* 2000;16:401-6.
- (123) Lasserre M, Mendy F, Spielmann D, Jacotot B. Effects of different dietary intake of essential fatty acids on C20:3-6 and C20:4n-6 serum levels in human adults. *Lipids* 1985;20:227-33.

- (124) Leaf AA, Leighfield MJ, Costeloe KL, Crawford MA. Factors affecting long-chain polyunsaturated fatty acid composition of plasma choline phosphoglycerides in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992;14:300-8.
- (125) Leyton J, Drury PJ, Crawford MA. Different oxidation of saturated and unsaturated fatty acids *in vivo* in the rat. *Br J Nutr* 1987;57:383-93.
- (126) Lima LA, Murphy JF, Stansbie D et al. Neonatal parenteral nutrition with a fat emulsion containing medium chain triglycerides. *Acta Paediatr Scand* 1988;77:332-9.
- (127) Loo LS, Tang JP, Kohl S. The inhibition of leukocyte cellular cytotoxicity to herpes simplex virus *in vitro* and *in vivo* by intralipid. *J Infect* 1982;146:64-70.
- (128) Lutz O, Love T, Meraihi Z, Bach AC. Activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase on long- and medium-chain triglycerides emulsions used in parenteral nutrition. *Metabolism* 1989;38:507-13.
- (129) Lynn WS, Brown R. Oxidation and activation of unsaturated fatty acids. *Arch Biochem Biophys* 1959;81:353-62.
- (130) Macfie J, Smith RC, Hill GL. Glucose or fat as a nonprotein energy source? A controlled clinical trial in gastroenterological patients requiring intravenous nutrition. *Gastroenterology* 1981;80:103-7.
- (131) Makrides M, Neumann M, Simmer K et al. Are long-chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet* 1995;345:1463-8.
- (132) Makrides M, Simmer K, Goggin M, Gibson RA. Erythrocyte docosahexaenoic acid correlates with the visual response of healthy, term infants. *Pediatr Res* 1993;33(425):427.
- (133) Martin-Pena G, Culebras JM, De P et al. Effects of 2 lipid emulsions (LCT versus MCT/LCT) on the fatty acid composition of plasma phospholipid: a double-blind randomized trial. *J Parenter Enteral Nutr* 2002;26:30-41.

- (134) Martinez M, Ballabriga A. Effects of parenteral nutrition with high doses of linoleate on the developing human liver and brain. *Lipids* 1987;22:133-8.
- (135) Mead JF, Slaton WF, Decker AB. Metabolism of essential fatty acids. II. The metabolism of stearate, oleate, linoleate by fat-deficient and normal mice. *J Biol Chem* 1956;218:401-7.
- (136) Metges CC, Wolfram G. Medium- and long-chain triglycerides labeled with ¹³C: a comparison of oxidation after oral or parenteral administration in humans. *J Nutr* 1991;121(1):31-6.
- (137) Meydani M. Vitamin E. *Lancet* 1995;345:170-5.
- (138) Miles JM. Intravenous fat emulsions in nutritional support. *Curr Opin Gastroenterol* 1991;7:306-11.
- (139) Millington DS, Kodo N, Norwood DL, Roe CR. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inherit Metab Dis* 1990;13:321-4.
- (140) Montreewasuwat N, Olson JA. Serum and liver concentrations of vitamin A in Thai fetuses as a function of gestational age. *Am J Clin Nutr* 1979;32:601-6.
- (141) Nose O, Tripton JR, Ament ME. Effect of the energy source on changes in energy expenditure, respiratory quotient, and nitrogen balance during total parenteral nutrition in children. *Pediatr Res* 1987;21:538-41.
- (142) Novak M, Monkus EF, Buch M, Hahn P. Acetylcarnitine and free carnitine in body fluids before and after birth. *Pediatr Res* 1979;13:10-5.
- (143) Novak M, Monkus EF, Buch M et al. Effect of L-carnitine supplemented soybean formula on plasma lipids of infants. *Acta Chir Scand [Supp]* 1983;517:149-55.
- (144) Novak M, Monkus EF, Buch M et al. L-carnitine supplementation of a soybean-based formula in early infancy: plasma and urine levels of carnitine and acylcarnitines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987;7:220-4.

- (145) Olegård R, Gustafson A, Kjellmer I, Victorin L. Nutrition in low-birth-weight infants. III. Lipolysis and free fatty acid elimination after intravenous administration of fat emulsion. *Acta Paediatr Scand* 1975;64:745-51.
- (146) Olegård R, Svennerholm L. Fatty acid composition of plasma and red cell phosphoglycerides in full term infants and their mothers. *Acta Paediatr Scand* 1970;59:637-47.
- (147) Olson AL, Nelson SE, Rebouche CJ. Low carnitine intake and altered lipid metabolism in infants. *Am J Clin Nutr* 1989;49:624-8.
- (148) Olson AL, Rebouche CJ. γ -Butyrobetaine hydroxylase activity is not rate limiting for carnitine biosynthesis in the human infant. *J Nutr* 1987;117:1024-31.
- (149) Otto DA. Relationship of the ATP/ADP ratio to the site of octanoate activation. *J Biol Chem* 1984;259:5490-4.
- (150) Pauls J, Bauer K, Versmold H. Postnatal body weight curves for infants below 1000 g birth weight receiving early enteral and parenteral nutrition. *Eur J Pediatr* 1998;157:416-21.
- (151) Pencharz B, Beesley SP, et al. Total-body protein turnover in parenterally fed neonates: effects on energy source studied by using [^{15}N]glycine and [^{13}C]leucine. *Am J Clin Nutr* 1989;50:1395-400.
- (152) Penn D, Ludwigs B, Schmidt-Sommerfeld E, Pascu E. Effect of nutrition on tissue carnitine concentrations in infants of different gestational ages. *Biol Neonate* 1985;47:130-5.
- (153) Penn D, Schmidt-Sommerfeld E, Pascu E. Decreased tissue carnitine concentrations in newborn infants receiving total parenteral nutrition. *J Pediatr* 1981;98:976-8.
- (154) Perreira GR, Fox WW, Stanley C.A., et al. Decreased oxygenation and hyperlipidemia during intravenous fat infusions in premature infants. *Pediatrics* 1980;66:26-30.

- (155) Piché LA, Draper HH, Cole PD. Malondialdehyde excretion by subjects consuming cod liver oil vs. a concentrate of n-3 fatty acids. *Lipids* 1988;23:370-1.
- (156) Pineault M, Chessex P, Bisailon S, Brisson G. Total parenteral nutrition in the newborn: impact of the quality of infused energy on nitrogen metabolism. *Am J Clin Nutr* 1988;47:298-304.
- (157) Poisson J-P, Dupuy R-P, Sarda P et al. Evidence that liver microsomes of human neonates desaturate essential fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 1993;1167:109-13.
- (158) Poovaiah BP, Tinoco J, Lyman RL. Influence of diet on conversion of ¹⁴C-linolenic acid to docosahexaenoic acid in the rat. *Lipids* 1976;11:194-202.
- (159) Popp-Snijders C, Schouten J, Van Blitterswijk W, Van der Veen E. Changes in membrane lipid composition of human erythrocytes after dietary supplementation of (n-3) polyunsaturated fatty acids. Maintenance of membrane fluidity. *Bioch Biophys Acta* 1986;854:31-7.
- (160) Rebouche CJ, Panagides DD, Nelson SE. Role of carnitine in utilization of dietary medium-chain triglycerides by term infants. *Am J Clin Nutr* 1990;52:820-4.
- (161) Rehner G, Daniel H. *Biochemie der Ernährung*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 1999.
- (162) Renooij W, van Golde LM, Zwaal RFA, van Deenen LM. Topological asymmetry of phospholipid metabolism in rat erythrocyte membranes. Evidence for flip-flop of lecithin. *Eur J Biochem* 1976;61:53-8.
- (163) Rhodes PG, Reddy NS, Downing G, Carlson S.E. Effects of different levels of intravenous alpha-linolenic acid and supplemental breast milk on red blood cell docosahexaenoic acid in very low birth-weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;13:67-71.
- (164) Richelle M, Bury J, Kasry A et al. In vitro exchanges of lipids and apoproteins between HDL and exogenous fat. *Clin Nutr* 1986;5:55.

- (165) Ripalda MJ, Rudolph N, Wong SL. Developmental patterns of antioxidant defense mechanisms in human erythrocytes. *Pediatr Res* 1989;26:366-9.
- (166) Rohwedder WK, Duval SM, Wolf DJ, Emken EA. Measurement of the metabolic interconversion of deuterium-labeled fatty acids by gas chromatography/mass spectrometry. *Lipids* 1990;25:401-5.
- (167) Rössle C, Carpentier YA, Richelle M et al. Medium-chain triglycerides induce alterations in carnitine metabolism. *Am J Physiol* 1990;258:E 944-7.
- (168) Rubin M, Moser A, Naor N et al. Effect of three intravenously administered fat emulsions containing different concentrations of fatty acids on the plasma fatty acid composition of premature infants. *J Pediatr* 1994;125:596-302.
- (169) Rubin M, Naor N, Sirota L et al. Are bilirubin and plasma lipid profiles of premature infants dependent on the lipid emulsion infused? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;21:25-30.
- (170) Sakuma N, Lin C, Masumoto Y et al. Changes of HDL subfraction concentration and particle size by intralipid in vivo. *Atherosclerosis* 1988;74:91-8.
- (171) Salas J, Dozio E, Goulet O, et al. Energy expenditure and substrate utilization in the course of renutrition of malnourished children. *J Parenter Enteral Nutr* 1991;15:288-93.
- (172) Salas J, Girardet JP, De Potter S, et al. Glucose versus glucose-fat mixture in the course of total parenteral nutrition: effects on substrate utilisation and energy metabolism in malnourished children. *Clin Nutr* 1991;10:272-8.
- (173) Salem N, Wegher B, Mena P, Uauy R. Arachidonic and docosahexaenoic acids are biosynthesized from their 18-carbon precursor in human infants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:49-54.
- (174) Sauerwald T, Hachey DL, Jensen C, Heird WC. New insights into the metabolism of long chain polyunsaturated fatty acids during infancy. *Eur J Med Res* 1997;2:88-92.

- (175) Sauerwald T, Hachey DL, Jensen CL et al. Intermediates in endogenous synthesis of C22:6 omega 3 and C20:4 omega 6 by term and preterm infants. *Pediatr Res* 1997;41(2):183-7.
- (176) Sauerwald TU, Demmelmair H, Koletzko B. Zur Unbedenklichkeit von stabilen Isotopen in der pädiatrischen Forschung und Diagnostik. *Monatsschr Kinderheilkd* 1996;114:636-42.
- (177) Sauerwald TU, Hachey DL, Jensen C et al. Effect of dietary α -linolenic acid intake on incorporation of docosahexaenoic and arachidonic acids into plasma phospholipids of term infants. *Pediatr Res* 1996;31:131-5.
- (178) Schiff D, Chang G, Seccombe D, Hahn P. Plasma carnitine levels during intravenous feeding of the neonate. *J Pediatr* 1979;95:1043-6.
- (179) Schmidt HL. Zur Biophysik stabiler Isotope. In: Eckart J, Wolfram G, editors. *Stabile Isotope in der Ernährungsforschung/ Nicht-energetische Bedeutung von Fett*. München: Zuckschwert; 1988. p. 3-14.
- (180) Schmidt-Sommerfeld E, Werner D, Penn D. Carnitine plasma concentrations in 353 metabolically healthy children. *Eur J Pediatr* 1988;147(256):60.
- (181) Schoeller DA, Schneider JF, Solomons NW, Watkins JBKPD. Clinical diagnosis with the stable isotope ^{13}C in CO_2 breath tests: methodology and fundamental considerations. *J Lab Clin Med* 1977;90:412-21.
- (182) Schwartz RS, Chiu DTY, Lubin B. Studies on the organization of plasma membrane phospholipids in human erythrocytes. In: Kruckeberg W, Eaton JW, Aster J, Brewer GJ, editors. *Erythrocyte membranes*. 1984. p. 89-122.
- (183) Schwarz U. Intraoperative Flüssigkeitstherapie bei Säuglingen und Kleinkindern. *Der Anaesthetist* 1999;48:41-50.
- (184) Shaffer SG, Quimiro CL, Anderson JV, Hall RT. Postnatal weight changes in low birth weight infants. *Pediatrics* 1987;5:702-5.

- (185) Shaffer SG, Bradt SK, Hall RT. Postnatal changes in total body water and extracellular volume in the preterm infant with respiratory distress syndrome. *J Pediatr* 1986;109:509-14.
- (186) Sheaff RC, Su HM, Keswick LA, Brenna JT. Conversion of alpha-linolenate to docosahexaenoate is not depressed by dietary levels of linoleate in young rats: tracer evidence using high precision mass spectrometry. *J Lipid Res* 1995;36:998-1008.
- (187) Shenai JP, Borum PR, Mohan P, Donlevy SC. Carnitine status at birth of newborn infants of varying gestation. *Pediatr Res* 1983;17:579-82.
- (188) Shenai JP, Chytil F, Jhaveri A, Stahlman MT. Plasma vitamin A and retinol-binding protein in premature and term neonates. *J Pediatr* 1981;99:302-5.
- (189) Shulman RJ, Langston C, Schanler RJ. Pulmonary vascular lipid deposition after administration of intravenous fat to infants. *Pediatrics* 1987;79:99-102.
- (190) Siderova V, Carpentier Y, Dahlan W, Richelle M. Intravascular metabolism of different fatty acids during lipid infusion in man. *Clin Nutr* 1993;12:329-36.
- (191) Siguel EN, Maclure M. Relative activity of unsaturated fatty acids metabolic pathways in humans. *Metabolism* 1987;36:664-9.
- (192) Sprecher H. Metabolism of highly unsaturated n-3 and n-6 fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 2000;1486:219-31.
- (193) Sprecher H. Long chain fatty acid metabolism. In: Bracco U, Deckelbaum R, editors. *Polyunsaturated fatty acids in human nutrition*. New York: Raven Press; 1992. p. 13-24.
- (194) Stone WL, Henderson RA, Howard GH et al. The role of antioxidant nutrients in preventing hyperbaric oxygen damage to the retina. *Free Radic Biol Med* 1989;6:505-12.

- (195) Tashiro T, Mashima Y, Yamamori H, Okui K. J Parenter Enteral Nutr 1986;10:622-6.
- (196) Tomsits E, Rischák K, Szollár L. Long-term effects of unsaturated fatty acid dominance on the release of free radicals in the rat. Pediatr Res 1994;36:278-82.
- (197) Uauy R, Birch E, Birch D, Peirano P. Visual and brain function measurements in studies of n-3 fatty acid requirements of infants. J Pediatr 1992;120:S168-S180.
- (198) Uauy R, Treen M, Hoffman DR. Essential fatty acid metabolism and requirements during development. Semin Perinatol 1989;13:118-30.
- (199) Uauy RD, Birch DG, Birch EE et al. Effect of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very-low-birth-weight neonates. Pediatr Res 1990;28:901-7.
- (200) Ulrich H, Pastores S, Katz D, Kvetan V. Parenteral use of medium-chain triacylglycerols: a reappraisal. Nutrition 1996;12:231.
- (201) Van Gossum A, Shariff R, Lemoyne M et al. Increased lipid peroxidation after lipid infusion as measured by breath pentane output. Am J Clin Nutr 1988;48:1394-9.
- (202) Varsila E, Pitkänen O, Hallman M, Andersson S. Immaturity-dependent free radical activity in premature infants. Pediatr Res 1994;36:55-9.
- (203) Voss A, Reinhart M, Sankarappa S, Sprecher H. The metabolism of 7, 10, 13, 16, 19-docosapentaenoic acid to 4,7,10,13,16, 19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. J Biol Chem 1991;266:19995-20000.
- (204) Watkins JB, Klein PD, Schoeller DA et al. Diagnosis and differentiation of fat malabsorption in children using ¹³C-labeled lipids: triolein, and palmitic acid breath tests. Gastroenterology 1982;82:911-7.
- (205) Wells MA. Fatty acid metabolism and ketone formation in the suckling rat. Fed Proc 44 A.D.;44:2365-8.

- (206) Werkman SH, Peeples JM, Cooke RJ et al. Effect of vitamin A supplementation of intravenous lipids on early vitamin A intake and status of premature infants. *Am J Clin Nutr* 1994;59:586-92.
- (207) Wispé JR, Bell EF, Roberts RJ. Assessment of lipid peroxidation in newborn infants and rabbits by measurements of expired ethane and pentane: influence of parenteral lipid infusion. *Pediatr Res* 1985;19:374-9.
- (208) Wispé JR, Knight M, Roberts RJ. Lipid peroxidation in newborn rabbits: effects of oxygen, lipid emulsion, and vitamin E. *Pediatr Res* 1986;20:505-10.
- (209) Wolfe RRH. *Radioactive and Stable isotope Tracers in Biomedicine. Principles and Practice of Kinetic Analysis.* Wiley-Liss Inc. ed. New York: 1992.
- (210) Wolfram G. MCT-containing fat emulsions: general aspects. *J Clin Nutr Gastroenterol* 1989;4:60.
- (211) Woodruff CW, Latham CB, James EP, Hewett JE. Vitamin A status of pre-term infants: the influence of feeding and vitamin supplements. *Am J Clin Nutr* 1986;44:384-9.
- (212) Zachman RD. Vitamin A. In: Tsang RC, Nichols BL, editors. *Nutrition during infancy.* Philadelphia: Hanley & Belfus INC; 1988. p. 253-63.

7 ANHANG

Tab. 7-1. Reproduzierbarkeit der Triglycerid-Fettsäureanalyse in Plasmaproben bei 7-maliger Aufarbeitung eines Poolplasmas an einem Meßtag (Intraassay) und bei 18-maliger Aufarbeitung an verschiedenen Meßtagen (Interassay); Mittelwert (Variationskoeffizient)

	Intraassay (n=7)		Interassay (n=18)	
	mg/l (%)	Gew.% (%)	mg/l (%)	Gew.% (%)
<u>SFA:</u>				
C8:0	0,24 (9,62)	0,05 (8,72)	0,26 (11,11)	0,05 (10,34)
C9:0	Standard	Standard	Standard	Standard
C10:0	0,74 (10,32)	0,15 (8,52)	0,78 (14,46)	0,15 (11,45)
C12:0	2,87 (7,25)	0,57 (6,19)	3,02 (14,34)	0,58 (7,79)
C14:0	16,95 (3,03)	3,38 (1,15)	17,74 (11,55)	3,40 (2,08)
C15:0	Standard	Standard	Standard	Standard
C16:0	151,50 (3,12)	30,23 (0,52)	157,44 (11,72)	30,12 (1,67)
C17:0	2,12 (3,93)	0,42 (2,16)	2,16 (8,43)	0,41 (6,66)
C18:0	19,81 (8,10)	3,95 (7,41)	19,81 (11,52)	3,80 (6,78)
C20:0	0,38 (8,34)	0,08 (8,32)	0,37 (16,45)	0,07 (10,19)
C22:0	0,22 (14,49)	0,04 (14,21)	0,18 (28,89)	0,04 (33,46)
C24:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<u>Transfettsäuren</u>				
C14:1 t	0,13 (50,07)	0,03 (50,65)	1,34 (14,98)	0,03 (35,97)
C16:1 t	4,44 (3,37)	0,89 (2,37)	4,67 (12,76)	0,89 (1,75)
C18:1 t	2,05 (4,17)	0,41 (3,25)	2,55 (38,78)	0,48 (25,98)
C18:2 tt	0,50 (13,82)	0,10 (14,70)	0,53 (14,51)	0,10 (13,84)
<u>MUFA:</u>				
C14:1n-5	1,26 (3,61)	0,25 (2,23)	1,34 (14,98)	0,26 (3,72)
C15:1n-5	0,11 (13,23)	0,02 (14,95)	0,12 (20,82)	0,02 (24,79)
C16:1n-7	4,44 (3,37)	4,38 (1,22)	23,03 (13,26)	4,40 (1,02)
C18:1n-7	13,71 (3,38)	2,74 (0,79)	14,31 (13,07)	2,73 (0,53)
C18:1n-9	170,02 (3,52)	33,92 (0,67)	177,51 (13,13)	33,90 (0,46)
C20:1n-9	2,06 (3,87)	0,41 (1,29)	2,16 (14,28)	0,41 (1,98)
C22:1n-9	0,41 (3,73)	0,08 (5,08)	0,36 (17,30)	0,07 (18,48)
C24:1n-9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<u>PUFA:</u>				
C20:3n-9	0,54 (5,80)	0,11 (5,26)	0,59 (16,16)	0,11 (5,84)
C18:2n-6	67,42 (3,10)	13,45 (0,92)	71,18 (15,20)	13,57 (2,51)
C18:3n-6	1,13 (4,43)	0,23 (2,60)	1,22 (20,75)	0,23 (7,77)
C20:2n-6	1,02 (3,09)	0,20 (3,38)	1,08 (14,28)	0,21 (3,48)
C20:3n-6	1,30 (8,10)	0,26 (8,44)	1,32 (17,88)	0,25 (9,18)
C20:4n-6	4,37 (5,66)	0,87 (5,39)	4,53 (16,31)	0,86 (6,10)
C22:2n-6	1,03 (4,33)	0,21 (2,70)	1,14 (24,51)	0,22 (12,70)
C22:4n-6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3n-3	5,78 (3,72)	1,15 (2,24)	6,29 (20,22)	1,19 (8,05)
C20:5n-3	0,38 (8,34)	0,08 (6,76)	0,42 (21,65)	0,08 (9,49)
C22:5n-3	1,01 (3,58)	0,20 (2,57)	1,10 (21,94)	0,21 (9,76)
C22:6n-3	2,63 (3,48)	0,52 (2,85)	2,87 (22,46)	0,54 (10,82)

Tab. 7-2. Reproduzierbarkeit der Phospholipid-Fettsäureanalyse in Plasmaproben bei 7-maliger Aufarbeitung eines Poolplasmas an einem Meßtag (Intraassay) und bei 18-maliger Aufarbeitung an verschiedenen Meßtagen (Interassay); Mittelwert (Variationskoeffizient)

	Intraassay (n=7)		Interassay (n=18)	
	mg/l (%)	Gew.% (%)	mg/l (%)	Gew.% (%)
SFA:				
C8:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C10:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C12:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C14:0	5,07 (2,68)	0,38 (3,77)	5,12 (4,10)	0,38 (5,48)
C15:0	Standard	Standard	Standard	Standard
C16:0	389,22 (1,84)	28,93 (0,73)	385,37 (2,20)	28,96 (1,40)
C17:0	4,73 (1,52)	0,15 (1,82)	4,65 (3,01)	0,35 (3,39)
C18:0	167,93 (2,68)	23,48 (1,30)	166,51 (2,68)	12,51
C20:0	7,59 (1,94)	0,56 (1,52)	7,86 (8,52)	0,59 (7,15)
C22:0	22,26 (4,17)	1,65 (3,50)	22,47 (4,79)	1,69 (3,72)
C24:0	19,19 (2,09)	1,43 (1,50)	19,21 (2,75)	1,44 (2,28)
Transfettsäuren				
C14:1 t	0,65 (36,02)	0,05 (37,90)	0,63 (40,59)	0,04 (72,67)
C16:1 t	0,56 (8,25)	0,04 (7,56)	0,58 (6,80)	0,04 (6,06)
C18:1 t	2,99 (9,74)	0,22 (7,87)	3,10 (11,74)	0,23 (10,79)
C18:2 tt	0,85 (23,91)	0,06 (22,71)	0,85 (38,36)	0,06 (37,56)
MUFA:				
C14:1n-5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C15:1n-5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C16:1n-7	8,22 (1,61)	0,61 (1,63)	7,80 (17,56)	0,59 (17,56)
C18:1n-7	19,30 (2,81)	1,43 (0,70)	18,95 (3,55)	1,42 (1,41)
C18:1n-9	128,25 (2,34)	9,53 (0,36)	125,44 (3,01)	9,42 (1,07)
C20:1n-9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1n-9	6,27 (9,97)	0,47 (9,84)	7,07 (29,39)	0,53 (28,17)
C24:1n-9	33,27 (2,88)	2,47 (2,39)	33,67 (4,10)	2,53 (3,55)
PUFA:				
C20:3n-9	2,10 (3,63)	0,16 (3,90)	2,13 (7,91)	0,16 (6,58)
C18:2n-6	261,87 (2,88)	19,46 (1,12)	257,04 (3,18)	19,31 (1,20)
C18:3n-6	1,01 (22,57)	0,08 (21,60)	0,97 (15,12)	0,07 (13,81)
C20:2n-6	5,99 (5,80)	0,45 (5,33)	5,88 (4,90)	0,44 (3,77)
C20:3n-6	248,21 (2,98)	3,58 (0,78)	47,62 (3,59)	3,58 (1,88)
C20:4n-6	122,02 (3,40)	9,07 (1,24)	120,78 (4,15)	9,07 (2,40)
C22:2n-6	1,06 (19,17)	0,08 (18,17)	0,96 (24,67)	0,07 (24,22)
C22:4n-6	4,54 (3,87)	0,34 (2,34)	4,61 (7,04)	0,35 (6,30)
C18:3n-3	3,62 (7,65)	0,27 (6,35)	3,61 (8,97)	0,27 (8,83)
C20:5n-3	11,02 (4,29)	0,82 (2,45)	11,02 (4,53)	0,83 (3,55)
C22:5n-3	10,10 (3,40)	0,75 (1,51)	9,95 (5,23)	0,75 (3,65)
C22:6n-3	47,88 (3,83)	3,56 (1,94)	47,47 (4,82)	3,57 (3,34)

Tab. 7-3. APGAR-Indices 1, 5 und 10 Minuten nach Geburt (APGAR-Punkte)

APGAR-Punkte	Kontroll-Gruppe			MCT/LCT-Gruppe		
	1 min	5 min	10 min	1 min	5 min	10 min
1						
2	1			1		
3				1		
4					1	
5						1
6	1	1				
7	2	1		1	1	
8		1	1	1	1	1
9	2	2	1	1	2	1
10		1				
Gesamt	6	6	2	5	5	3

Tab. 7-4. Auftreten von Infektionen während der Studie von Studientag 1-11. Anzahl der Patienten.

Tag	Kontroll-Gruppe		MCT/LCT-Gruppe	
	Ja	Nein	Ja	Nein
1		4		3
2		6		6
3	1	5		6
4	1	5		6
5	2	4		6
6	2	4		6
7	2	4		6
8	2	4		6
9	2	4		6
10	2	4		6
11	1	3		4

Tab. 7-5. Auftreten von Bradykardien während der Studie von Studientag 1-11. Anzahl der Patienten.

Tag	Kontroll-Gruppe		MCT/LCT-Gruppe	
	Ja	Nein	Ja	Nein
1		4		3
2		6		6
3		6		6
4		6		6
5		6		6
6		6		6
7		6		6
8		6		6
9		6	1	5
10		6	1	5
11		4	1	3

Tab. 7-6. Auftreten von rez. Apnoen während der Studie von Studientag 1-11. Anzahl der Patienten.

Tag	Kontroll-Gruppe		MCT/LCT-Gruppe	
	Ja	Nein	Ja	Nein
1		4		3
2		6		6
3	1	5		6
4	1	5		6
5	1	5		6
6		6		6
7	1	5		6
8	1	5		6
9	1	5	1	5
10	1	5	1	5
11		4	1	3

Tab. 7-7. Auftreten von PDA (Persistierender Ductus arteriosus) während der Studie von Studientag 1-11. Anzahl der Patienten.

Tag	Kontroll-Gruppe		MCT/LCT-Gruppe	
	Ja	Nein	Ja	Nein
1		4		3
2		6		6
3		6		6
4		6		6
5		6		6
6		6		6
7		6		6
8		6		6
9		6		6
10		6		6
11		4		4

Tab. 7-8. Auftreten von Hypoglykämien (<40 mg/dl) während der Studie von Studientag 1-11. Anzahl der Patienten.

Tag	Kontroll-Gruppe		MCT/LCT-Gruppe	
	Ja	Nein	Ja	Nein
1		4		3
2	1	5		4
3		5		4
4		4		2
5		2		1
6		3		2
7		2		1
8		1		1
9		2		3
10		2		1
11		3		4

Tab. 7-9. Auftreten von Hyperglykämien (>125 mg/dl) während der Studie von Studientag 1-11. Anzahl der Patienten.

Tag	Kontroll-Gruppe		MCT/LCT-Gruppe	
	Ja	Nein	Ja	Nein
1		4		3
2		6		4
3		5		5
4		3		2
5	1	1		1
6		3		2
7	1	1		1
8		1		1
9		2	1	2
10	2	1		1
11		3	1	3

Tab. 7-10. Auftreten von Konvulsionen während der Studie von Studientag 1-11. Anzahl der Patienten.

Tag	Kontroll-Gruppe		MCT/LCT-Gruppe	
	Ja	Nein	Ja	Nein
1		4		3
2		6		6
3		6		6
4		6		5
5		6		6
6		6		6
7		6		6
8		6		6
9		5		5
10		5		5
11		3		3

Tab. 7-11. Konzentrationen der Leberwerte Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), γ -Glutamyl-Transferase (GGT), alkalische Phosphatase und Bilirubin von Studenttag 1-8. Mittelwert (SA)

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8
GOT [U/l]	n.d.	81,67 (28,01) ³	56,00 (11,53) ³	n.d.	n.d.	n.d.	20,00 ²	n.d.
	n.d.	54,50 (17,68) ¹	59,75 (24,76) ⁴	n.d.	n.d.	n.d.	29,00 ²	n.d.
GPT [U/l]	n.d.	31,33 (11,85) ³	29,67 (18,58) ³	n.d.	n.d.	n.d.	15,00 ²	n.d.
	n.d.	21,00 (5,66) ¹	21,50 (15,84) ⁴	n.d.	n.d.	n.d.	9,00 ²	n.d.
GGT [U/l]	n.d.	124,00 (84,50) ³	123,00 (59,81) ³	n.d.	n.d.	n.d.	41,00 ²	n.d.
	n.d.	98,50 (2,12) ¹	179,00 (99,67) ⁴	n.d.	n.d.	n.d.	150,00 ²	n.d.
Alkal. Phosphatase [U/l]	n.d.	333,67 (109,62) ³	461,67 (83,76) ³	n.d.	n.d.	n.d.	848,00 ²	n.d.
	n.d.	663,00 (200,82) ¹	523,50 (127,42) ⁴	n.d.	n.d.	n.d.	904,00 ²	n.d.
Bilirubin, gesamt [mg/dl]	n.d.	9,50 ²	11,60 (0,78) ³	13,92 (3,49) ⁵	13,83 (2,71) ³	11,93 (3,26) ³	13,20 ²	14,17 (3,11) ³
	n.d.	6,20 ²	9,62 (3,15) ⁵	14,07 (2,45) ³	11,05 (3,86) ⁴	9,73 (2,57) ³	12,53 ³	10,00 ²
Bilirubin, konjugiert [mg/l]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	n.d.	n.d.	0,55 (0,21) ¹	0,80 ²	0,40 ²	0,80 ²	1,00 ²	n.d.

Kontroll-Gruppe: weiß hinterlegt; MCT/LCT-Gruppe: grau hinterlegt; n.d.=no data ¹ n=2; ² n=1; ³ n=3; ⁴ n=4; ⁵ n=5

Tab. 7-12. Differenzialblutbild an den Studentagen 1-8. Mittelwert (SA)

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8
HB [g/dl]	17,20 (0,94) ⁵	17,37 (1,29) ³	17,15 (1,32) ⁴	12,95 (0,78) ¹	13,33 (0,40) ³	n.d.	11,50 ²	13,35 (0,64) ¹
	16,93 (1,96) ⁴	n.d.	16,40 (1,58) ⁴	n.d.	12,90 ²	13,71 (0,65) ³	12,60 ²	n.d.
HK [%]	46,80 (2,59) ⁵	45,33 (3,79) ³	46,75 (1,50) ⁴	37,00 (2,83) ¹	35,70 (0,61) ³	n.d.	31,00 ²	36,00 (1,41) ¹
	46,18 (6,45) ⁴	n.d.	46,15 (5,49) ⁴	n.d.	37,00 ²	37,33 (3,06) ³	36,00 ²	n.d.
Leukozyten [μl]	177000,00 (707,11) ¹	24000,00 ²	12350,00 (9263,10) ¹	9700,00 (141,42) ¹	7866,67 (4091,86) ³	n.d.	10100,00 ²	12550,00 (4313,35) ¹
	16900,00 (4842,18) ⁴	n.d.	13250,00 (5588,38) ⁴	n.d.	10200,00 ²	10500,00 (4613,03) ³	14800,00 ²	n.d.
Thrombozyten [μl]	227666,67 (55509,76) ³	187666,67 (107071,63) ³	138250,00 (42648,76) ⁴	68000,00 ²	56333,33 (23501,77) ³	n.d.	100000,00 ²	69500,00 (78488,85) ¹
	187750,00 (25953,48) ⁴	n.d.	193250,00 (48856,08) ⁴	n.d.	166000,00 ²	226666,67 (38991,45) ³	322000,00 ²	n.d.
CRP [mg/dl]	1,60 (1,56) ¹	0,50 ²	1,00 (0,87) ³	0,50 ²	3,00 (3,91) ³	n.d.	n.d.	3,70 ²
	0,50 (0) ¹	0,50 (0) ¹	0,50 ²	0,50 ²	n.d.	n.d.	0,50 ²	n.d.

Kontroll-Gruppe: weiß hinterlegt; MCT/LCT-Gruppe: grau hinterlegt; n.d.=no data ¹ n=2; ² n=1; ³ n=3; ⁴ n=4; ⁵ n=5

Tab. 7-13. Energie- und Nährstoffaufnahme der Studienteilnehmer an den Studientagen 1-9. Mittelwert \pm SA

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9
Gesamte Energiezufuhr (kcal/kg/d)	25,00 ¹	35,00 \pm 7,92	49,95 \pm 8,13	61,55 \pm 5,99	76,73 \pm 5,87	88,52 \pm 1,28	91,77 \pm 3,20	96,17 \pm 1,66	98,35 \pm 3,86
	28,30 \pm 7,35 ²	29,70 \pm 4,48	44,48 \pm 6,40	63,32 \pm 11,43	77,50 \pm 8,43	90,10 \pm 3,09	94,20 \pm 2,23	97,10 \pm 1,73	98,17 \pm 1,93
Anteil enterale Energiezufuhr an Gesamtenergiezufuhr (%)	n.d.	5,85 \pm 4,24 ³	13,22 \pm 2,99 ⁴	12,33 \pm 3,76	14,47 \pm 4,15	15,15 \pm 4,53	15,45 \pm 3,84	16,57 \pm 3,54	16,42 \pm 2,50
	n.d.	2,38 \pm 2,55 ³	13,17 \pm 3,98	16,20 \pm 2,89	16,28 \pm 2,97	16,20 \pm 2,81	16,57 \pm 3,18	17,45 \pm 2,49	17,18 \pm 2,84
Intravenöse Zufuhr:	48,00 ¹	59,55 \pm 12,43	78,88 \pm 15,48*	95,58 \pm 22,08	117,40 \pm 29,16	136,65 \pm 21,39	142,13 \pm 26,06	148,05 \pm 26,75	150,23 \pm 25,14
Energie (kcal/d)	45,00 \pm 15,56 ²	46,98 \pm 11,61	62,20 \pm 16,47*	81,22 \pm 20,35	98,32 \pm 19,80	112,35 \pm 12,61	118,72 \pm 13,64	123,22 \pm 12,40	127,02 \pm 13,63
	n.d.	1,90 \pm 0 ⁵	2,85 \pm 1,04	4,80 \pm 1,10	6,75 \pm 1,04	7,70 \pm 0	8,65 \pm 1,04	9,60 \pm 0	9,60 \pm 0
Aminosäuren (kcal/kg/d)	n.d.	1,90 \pm 0 ⁵	2,53 \pm 0,98	4,47 \pm 1,03	6,43 \pm 0,98	7,70 \pm 0	8,65 \pm 1,04	9,60 \pm 0	9,60 \pm 0
	n.d.	5,00 \pm 0 ⁵	7,50 \pm 2,74	15,00 \pm 5,48	25,00 \pm 5,48	30,00 \pm 0	30,00 \pm 0	30,00 \pm 0	30,00 \pm 0
Fett (kcal/kg/d)	n.d.	5,00 \pm 0 ²	6,67 \pm 2,58	13,33 \pm 5,16	23,33 \pm 5,16	30,00 \pm 0	30,00 \pm 0	30,00 \pm 0	30,00 \pm 0
	25,00 ¹	30,18 \pm 4,16	34,55 \pm 3,61	35,02 \pm 6,74	35,42 \pm 7,21	39,22 \pm 2,81	40,90 \pm 3,55	42,92 \pm 2,47	44,83 \pm 3,80
Glucose (kcal/d)	28,30 \pm 7,35 ²	26,98 \pm 2,48	30,18 \pm 4,39	36,72 \pm 4,06	36,95 \pm 1,82	39,88 \pm 3,38	41,87 \pm 2,26	43,10 \pm 1,47	44,90 \pm 1,72
Enterale Zufuhr:	n.d.	4,40 \pm 0,69 ⁵	10,56 \pm 2,15 ^{4,*}	11,73 \pm 4,25	16,27 \pm 3,84	20,27 \pm 5,03	21,60 \pm 5,03	24,00 \pm 4,29	24,80 \pm 5,61
Energie (kcal/d)	n.d.	1,40 \pm 0,35 ⁵	7,87 \pm 1,78*	13,07 \pm 3,57	15,73 \pm 3,27	18,13 \pm 3,15	19,47 \pm 3,11	21,33 \pm 2,41	21,60 \pm 2,63
	n.d.	6,00 ¹	13,20 \pm 2,68 ^{4,*}	14,67 \pm 5,32	20,33 \pm 4,80	25,33 \pm 6,28	27,00 \pm 6,29	30,00 \pm 5,37	31,00 \pm 7,01
Muttermilch (ml/d)	n.d.	n.d.	9,50 \pm 2,35*	16,33 \pm 4,46	19,67 \pm 4,08	22,67 \pm 3,93	24,33 \pm 3,88	26,67 \pm 3,01	27,00 \pm 3,29
	62,50 ¹	84,13 \pm 15,27	104,66 \pm 12,62	126,18 \pm 11,74 ⁴	141,00 \pm 13,22	159,45 \pm 3,71	168,62 \pm 7,34	179,28 \pm 4,21	183,57 \pm 10,18
Zufuhr Gesamtflüssigkeit (ml/kg/d)	70,80 \pm 18,38 ²	73,15 \pm 8,09	96,18 \pm 13,32	128,10 \pm 18,14	144,22 \pm 11,49	162,37 \pm 7,71	172,37 \pm 6,88	180,78 \pm 3,24	185,22 \pm 3,41

Kontroll-Gruppe: weiß hinterlegt; MCT/LCT-Gruppe: grau hinterlegt; n.d.=no data; ¹ n=1; ² n=2; ³ n=4; ⁴ n=5; ⁵ n=3; * p \leq 0,0

Curriculum vitae

Frauke Lehner, Dipl. oec. troph.

ADRESSE: Röntgenstr. 31
D-82152 Martinsried
Bundesrepublik Deutschland

BIOGRAPHIE: geboren 19.11.1974 in Eittingermoos,
Bundesrepublik Deutschland

AUSBILDUNG:

1994 Abitur: Dom-Gymnasium, Freising
1994-99 Studium der Ökotrophologie an der Technischen
Universität München-Weihenstephan, Abschluss
Diplom
1999-2002 Promotionsarbeit im Labor für Stoffwechsel und
Ernährung des Dr. von Haunerschen Kinderspitals,
Ludwig-Maximilians-Universität München

BERUFSERFAHRUNG:

11/03-06/05 Tätigkeit im Ernährungsteam/Studienzentrum der
Chirurgischen Klinik und Poliklinik, Großhadern
seit 07/05 Tätigkeit als Research Assistant bei PPD Germany
GmbH & Co. KG

WISSENSCHAFTLICHE TÄTIGKEIT:

A FORSCHUNGSGEBIETE:

Klinische Stoffwechselforschung, Isotopen-Forschung,
perioperative Ernährung

B STIPENDIUM:

1999-2002 Stipendium der Stiftung Kindergesundheit e.V.

C AUSZEICHNUNG:

2001 Oecotrophica-Preis 2001 für die Diplomarbeit, gestiftet durch das
Margarine-Institut für Gesunde Ernährung e.V., verliehen vom
Verband der Diplom-Ökotrophologen e.V.

D VERÖFFENTLICHUNGEN:

1. B. Koletzko and F. Lehner, Beer and Breastfeeding. In: Short and Long Term Effects of Breast Feeding on Child Health. (Eds. B. Koletzko, K. Fleischer Michaelsen and O. Hernell) pp. 23-28, Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York 2000.
2. B. Koletzko, K. Dokoupil, B. Weimert-Harendza, E. Keller and F. Lehner, Fettverzehr bei Säuglingen und Schulkindern in Deutschland. Monatsschrift Kinderheilkunde 149, Suppl. 1, S75-S82 (2001).

E VORTRÄGE:

- 2000 Meeting of the American Oil Chemists' Society 2000 "PUFA in Maternal and Child Health", Kansas City (Missouri, USA). "Pentadecanoic and heptadecanoic acid in red blood cell phospholipids as biomarkers of dietary milk fat intake in school-children"
- 2001 34th Annual Meeting of European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Geneva (Switzerland). "Is there a biomarker of dairy fat intake in school children?"
- 2002 35th Annual Meeting of European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Taormina (Italy). "Metabolic effects of intravenous lipid emulsions based on soybean oil or a mixture of soybean and coconut oil in preterm infants"
- 2003 99. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Bonn (Deutschland). „Einfluss mittelkettiger Triglyceride in Fettemulsionen zur parenteralen Ernährung Frühgeborener auf die Plasmakonzentrationen langkettiger hochungesättigter Fettsäuren“

München, den 19.01.2006