

Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen

Abteilung Kinderheilkunde IV

(Schwerpunkt: Neonatologie/neonatologische Intensivmedizin)

**Die tatsächliche Versorgung von Frühgeborenen mit
einem Gestationsalter von < 28
Schwangerschaftswochen oder einem Geburtsgewicht
von < 1000 Gramm mit Cholin und die Korrelation
dieser Versorgung mit der neurokognitiven
Entwicklung im Alter von 2 Jahren**

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

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

vorgelegt von

Full, Anna Lena

2017

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. A. Franz

2. Berichterstatter: Professor Dr. K.O. Kagan

Tag der Disputation: 06.03.2017

Für Sven und meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	7
Tabellenverzeichnis.....	9
Abkürzungsverzeichnis	10
1 Einleitung.....	12
1.1 Allgemeiner Überblick.....	12
1.2 Cholin.....	13
1.2.1 Chemischer Aufbau und Eigenschaften	13
1.2.2 Cholinstoffwechsel	15
1.2.3 Bedeutung für den menschlichen Organismus.....	20
1.2.4 Cholin in Schwangerschaft und Stillzeit.....	26
1.2.5 Cholin beim Neu- und Frühgeborenen	34
1.2.6 Cholin in der Ernährung Frühgeborener.....	36
1.3 Die Ernährung Frühgeborener	37
1.3.1 Grundlagen	37
1.3.2 Empfehlungen der DGEM	38
1.3.3 Praxis in Tübingen.....	39
1.4 Das Ziel dieser Arbeit.....	40
2 Patienten und Methoden	41
2.1 Allgemeines	41
2.2 Patientenkollektiv	41
2.3 Interne Ernährungsleitlinien	42
2.3.1 Parenterale Ernährung.....	42
2.3.2 Enterale Ernährung	42
2.4 Datenerhebung und Datenbeschreibung	42
2.4.1 Neonatologische Daten	43

2.4.2 Daten zur Ernährung der Frühgeborenen	46
2.4.3 Entlassdaten	46
2.4.4 Nachuntersuchungsdaten	47
2.5 Datenanalyse	52
2.5.1 Abschätzung der adäquaten Cholinzufuhr	52
2.5.2 Erfassung der tatsächlichen Nahrungszufuhr.....	53
2.5.3 Korrelation der Ernährung mit der neurokognitiven Entwicklung.....	54
2.6 Statistische Methoden.....	56
3 Ergebnisse	57
3.1 Basisdaten des Patientenkollektivs.....	57
3.1.1 Verteilung nach Geschlecht	58
3.1.2 Verteilung nach vollendeter Schwangerschaftswoche	58
3.1.3 Verteilung nach Geburtsgewicht	60
3.1.4 Durchschnittliches Gestationsalter bei Entlassung.....	62
3.2 Ernährung	63
3.2.1 Tatsächliche Cholinzufuhr	63
3.2.2 Vergleich mit der empfohlenen Zufuhr	71
3.2.3 Unterschiede in der Cholinzufuhr	72
3.2.4 Cholin und andere Stoffe des C1-Intermediär-Stoffwechsels.....	80
3.2.5 Zufuhr anderer Makronährstoffe im Verhältnis zu Cholin	83
3.3 Nachuntersuchung.....	89
3.3.1 Anteil der Kinder, die zu den Bayley Scales vorgestellt wurden	89
3.3.2 Durchschnittliches Alter bei Vorstellung zu den Bayley Scales	90
3.3.3 Ergebnis des MDI der Bayley Scales	90
3.4 Cholinzufuhr und neurokognitive Leistungen	92
3.4.1 Cholinzufuhr und MDI der Bayley Scales	92

3.4.2 Cholinzufuhr und SD-Score des Kopfumfangs.....	94
3.4.3 Cholinzufuhr und weitere neurologische Outcomegrößen.....	96
4 Diskussion.....	104
4.1 Methodenkritik.....	104
4.1.1 Patientengut.....	104
4.1.2 Erfassung der tatsächlichen Nährstoffzufuhr.....	106
4.1.3 Die Bayley Scales of Infant and Toddler Development.....	107
4.1.4 Confounder.....	110
4.2 Diskussion der Ergebnisse.....	112
4.2.1 Versorgung mit Cholin.....	112
4.2.2 Versorgung von mit Cholin zusammenhängenden Nährstoffen.....	117
4.2.3 Versorgung mit Makronährstoffen.....	119
4.2.4 Versorgung mit Energie.....	122
4.2.5 Neurokognitive Entwicklung.....	123
4.3 Fazit.....	130
5 Zusammenfassung.....	131
6 Literaturverzeichnis.....	133
7 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....	145
8 Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel von Cholin [12]	13
Abbildung 2: Strukturformeln von Cholin und seinen Metaboliten.	15
Abbildung 3: Der Kennedy-Pathway (nach [5]).....	16
Abbildung 4: Der PEMT-Pathway nach [28]	18
Abbildung 5: Folsäure-, Methionin- und Cholinstoffwechsel.....	20
Abbildung 6: Geschlechterverteilung im Patientenkollektiv (N=93)	58
Abbildung 7: Verteilung nach Gestationsalter bei Geburt.....	59
Abbildung 8: Relativer Anteil der Gestationsalter bei Geburt am Kollektiv	59
Abbildung 9: Verteilung nach Geburtsgewicht.....	60
Abbildung 10: Kombinierte Einteilung nach GG und SSW	61
Abbildung 11: Klassifikation nach Geburtsgewicht.	61
Abbildung 12: Gestationsalter bei Entlassung/Verlegung.....	62
Abbildung 13: Mittl. parent. Cholinzufuhr und Dauer des Nahrungsaufbaus	65
Abbildung 14: Mittlere tägliche parenterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und SSW. 66	
Abbildung 15: Mittlere tägliche parenterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und GG. ...	67
Abbildung 16: Parenterale und enterale Cholinzufuhr (LT 0-28).	68
Abbildung 17: Mittlere tägliche enterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und SSW.....	69
Abbildung 18: Mittlere tägliche enterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und GG.	69
Abbildung 19: Mittlere tägliche Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28) und GG.	70
Abbildung 20: Mittlere tägliche Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28) und SSW.....	71
Abbildung 21: Tatsächliche Cholinzufuhr und empfohlene Zufuhr.	72
Abbildung 22: Häufigkeit der Cholinzufuhr < 27,4 mg/kg/d.....	73
Abbildung 23: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 5 (LT 0-28).	74
Abbildung 24: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 23 (LT 0-28).	75
Abbildung 25: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 41 (LT 0-28).	76
Abbildung 26: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 73 (LT 0-28).	77
Abbildung 27: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 81 (LT 0-28).	78
Abbildung 28: Individuelle Gesamtcholinzufuhr im Vgl. zum Gesamtkollektiv..	79
Abbildung 29: Tatsächl. tgl. Folsäurezufuhr und empfohlene Menge.....	81
Abbildung 30: Tatsächliche tgl. Methioninzufuhr des Kollektivs (LT 0-28).....	82
Abbildung 31: Tatsächliche tgl. Fettzufuhr und empfohlene Menge.	84

Abbildung 32: Tatsächliche tgl. Proteinzufuhr und empfohlene Menge.	86
Abbildung 33: Tatsächliche tgl. Kohlenhydratzufuhr und empfohlene Menge. .	87
Abbildung 34: Tatsächliche tgl. Energiezufuhr und empfohlenen Menge.	88
Abbildung 35: Anteil der Patienten mit verwertbarem MDI	90
Abbildung 36: Ergebnis des MDI in unserem Kollektiv	91
Abbildung 37: Leistungsbeurteilung nach MDI	91
Abbildung 38: MDI und mittlere tgl. parenterale Cholinzufuhr (LT0-28).....	92
Abbildung 39: MDI und mittlere tgl. enterale Cholinzufuhr (LT 0-28).....	93
Abbildung 40: MDI und mittlere tgl. Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28)	94
Abbildung 41: Parent. Cholinzufuhr (LT 0-28) und SDS des Kopfumfangs.	95
Abbildung 42: Enterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und SDS des Kopfumfangs. ...	95
Abbildung 43: Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28) und SDS des Kopfumfangs.	96
Abbildung 44: CP in Abhängigkeit von der Gesamtcholinzufuhr.	97
Abbildung 45: Grobmotorik bei Gesamtcholinzufuhr < 20 mg/kg/d (n=48).	98
Abbildung 46: Grobmotorik bei Gesamtcholinzufuhr > 20 mg/kg/d (n=22).	99
Abbildung 47: Vergleich der Grobmotorik bei unterschiedlicher Cholinzufuhr. .	99
Abbildung 48: Feinmotorik bei Gesamtcholinzufuhr < 20 mg/kg/d (n=50).	100
Abbildung 49: Feinmotorik bei Gesamtcholinzufuhr > 20 mg/kg/d (n=22).	101
Abbildung 50: Vergleich der Feinmotorik bei unterschiedlicher Cholinzufuhr.	101
Abbildung 51: ROP bei Gesamtcholinzufuhr < 20 mg/kg/d (n=62).	102
Abbildung 52: ROP bei Gesamtcholinzufuhr > 20 mg/kg/d (n=25).	103
Abbildung 53: Auftreten einer ROP bei unterschiedlicher Cholinzufuhr.	103

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Cholingehalt von herkömmlichen Nahrungsmitteln.....	24
Tabelle 2: Plasmacholinspiegel von Stillenden und Kontrollen.....	33
Tabelle 3: Cholingehalt von Muttermilch und Säuglingsnahrung.....	33
Tabelle 4: Cholinplasmaspiegel nach Alter	34
Tabelle 5: Cholinplasmaspiegel nach Nahrung	35
Tabelle 6: Empfohlene tägliche Zufuhr an Cholin.....	36
Tabelle 7: Klassifikation der Cerebralparese.....	48
Tabelle 8: GMFCS nach Fähigkeiten im Alter von 0-2 Jahren nach Palisano. .	49
Tabelle 9: GMFCS nach Fähigkeiten im Alter von 2-4 Jahren nach Palisano. .	50
Tabelle 10: Beurteilung der Motorik im Rahmen der BSID.....	51
Tabelle 11: Visus und Hörgeräteversorgung	51
Tabelle 12: Gesamtbeurteilung.	52
Tabelle 13: Nährstoffgehalte diverser Frühchenernährungskomponenten.....	53
Tabelle 14: Basisdaten des Patientenkollektivs im Überblick.....	57
Tabelle 15: Daten zur enteralen und parenteralen Ernährung	63
Tabelle 16: Daten zur Nachuntersuchung im Alter von ca. 2 Monaten.....	89

Abkürzungsverzeichnis

a	annus (lat.) / Jahr
ADP	Adenosindiphosphat
AI	Adequate Intake
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
AS	Aminosäuren
ATP	Adenosintriphosphat
BSID-II	Bayley Scales of Infant and Toddler Development, 2 nd Ed.
CMP	Cytidin-5-monophosphat
CP	Cerebralparese
CPAP	Continuous Positive Airway Pressure
CRIB	Clinical Risk Index for Babies
CTP	Cytidintriphosphat
d	day(s) / Tag(e)
DGEM	Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin
ELBW	Extremely Low Birth Weight
FGB	Frühgeborenes
ESPGHAN	European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition
g	Gramm
GA	Gestationsalter
GBA	Gemeinsamer Bundesausschuss
GDM	Gestationsdiabetes
GG	Geburtsgewicht
GMFCS	Gross Motor Function Classification System
IUGR	intrauterine Wachstumsretardierung
IVH	intraventrikuläre Hämorrhagie
kcal	Kilokalorien
KG	Körpergewicht
kJ	Kilojoule
m	Monat(e)
MDI	Mental Development Index

MEN	Minimale Enterale Nahrung
MM	Muttermilch
NAS	United States National Academy of Sciences
NICU	neonatologische Intensivstation
NEC	nekrotisierende Enterokolitis
p.c.	post conceptionem
p.p.	post partum
PC	Phosphatidylcholin
PP _i	Pyrophosphat (Diphosphat) (PP _i englisch, PP _a deutsch)
PUFA	Polyunsaturated fatty acids (Mehrfach unges. Fettsäuren)
PVL	Periventriculäre Leukomalazie
PEMT	Phosphatidylethanolamin-N-Methyl-Transferase
RDA	Recommended Dietary Allowance
RDS	Respiratory Distress Syndrome
ROP	Retinopathie des Frühgeborenen
SDS / SD	Standard Deviation Score / Standard Deviation (Standardabweichung)
SIH	Schwangerschaftsinduzierte Hypertonie
SSW	Schwangerschaftswoche
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Allgemeiner Überblick

In den beiden vergangenen Jahrzehnten haben sich die Überlebenschancen von Extremfrühgeborenen (< 28. SSW) und Kindern mit extrem niedrigem Geburtsgewicht (ELBW, extremely low birth weight, GG < 1000 g) kontinuierlich verbessert. [1-3] Erfreulicherweise geht diese positive Veränderung nicht mit einer Zunahme an neurologischen Komplikationen und Erkrankungen einher, die relativ häufig im Rahmen einer Extremfrühgeburtlichkeit (IVH III-IV°, ROP III-IV°, PVL, Zerebralparese) [1, 3] auftreten. Neben einer Verbesserung der logistischen Möglichkeiten und der technischen Ausstattung (Geburt und Behandlung der Extremfrühgeborenen in Level 1-Perinatalzentren), der Verwendung von Surfactant (seit den frühen 1990er Jahren) und Hochfrequenz-Oszillation, sowie Stickstoffmonoxid in der Therapie des ARDS, der pränatalen Gabe von Kortikosteroiden und Antibiotika [2], spielt auch eine kontinuierliche Optimierung der parenteralen und der enteralen Ernährung der Frühgeborenen eine entscheidende Rolle. Zur Versorgung mit den Makronährstoffen Eiweiß, Kohlenhydraten und Fetten gibt es schon seit geraumer Zeit Empfehlungen von Gesellschaften wie der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin (DGEM), der European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) oder dem Food and Nutrition Board des Institute of Medicine der United States National Academy of Sciences (NAS), die in regelmäßigen Abständen überarbeitet und veröffentlicht werden [4]. In den letzten Jahren bis Jahrzehnten wuchs jedoch auch zunehmend das Bewusstsein für die Bedeutung von Mikronährstoffen, wie z. B. Vitaminen und Spurenelementen, in der Ernährung von Kindern, bis hin zum Frühgeborenen. Aufgrund seiner wichtigen Rolle in der Entwicklung des zentralen Nervensystems [5-8] wird in der hier vorliegenden Arbeit ein besonderes Augenmerk auf den essentiellen Nährstoff Cholin gelegt, zu dem bereits viele Forschungsarbeiten vorliegen, über dessen exakte Empfehlung für die tägliche Aufnahme jedoch, insbesondere beim Frühgeborenen, noch Unsicherheiten bestehen. So konnte zur Cholinzufuhr bisher nur eine Empfehlung zum Adequate Intake (AI) vom Nutrition Board des Institute of Medicine

ausgesprochen werden, da die wissenschaftlichen Daten zum Aussprechen einer Recommended Dietary Allowance (RDA) bisher nicht ausreichen. [9] Die vorliegende Studie befasst sich mit der tatsächlichen Versorgung von Extremfrühgeborenen mit Cholin im Rahmen ihres postpartalen Klinikaufenthaltes, und damit, ob sich in der untersuchten Patientenkohorte ein positiver Effekt einer höheren Cholinzufuhr auf die neurokognitive Entwicklung der Frühgeborenen nachweisen lässt.

1.2 Cholin

1.2.1 Chemischer Aufbau und Eigenschaften

Cholin ist eine quartäre Ammoniumverbindung, sowie ein primärer, einwertiger Alkohol. Cholin ist eine hydrophile und damit polare Substanz, und löst sich gut in Wasser, Methanol und Ethanol. [10] Die Summenformel lautet $C_5H_{14}N^+OH$. Die Schmelztemperatur liegt bei 180 °C. Die relative Molmasse eines Cholin-Kations beträgt 104,17. [11]. Bei Raumtemperatur ist der Aggregatzustand fest.

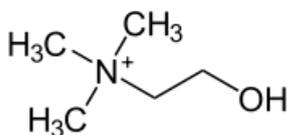


Abbildung 1: Strukturformel von Cholin [12]

In der Natur kommt Cholin in vielerlei Form vor. So ist es als Vorläufermolekül von Phosphatidylcholin (PC) und Sphingomyelin, beides Phospholipide, ein essentieller Bestandteil von Zellmembranen [9, 13, 14]. Ebenso kommt Phosphatidylcholin in einer Reihe von Sekreten im menschlichen Körper vor. So stellt Phosphatidylcholin 80 % aller Phospholipide in Surfactant, einer oberflächenaktiven und in der Lunge durch Pneumozyten Typ II sezernierten Flüssigkeit, ohne welche die Alveolen in der Lunge kollabieren würden und die Atmung deutlich erschwert wäre [15], und 95 % aller Phospholipide in der Galle. [16] Phospholipide bestehen aus einem hydrophilen Kopf sowie zwei hydrophoben Kohlenwasserstoffschwänzen (unterschiedliche Fettsäuren, wie zum Beispiel vor allem Palmitinsäure [16:0], Stearinsäure [18:0], Ölsäure [18:1],

Linolsäure [18:2], Linolensäure [18:3], Arachidonsäure [20:4], Docosahexaensäure [22:6]; dabei befinden sich die gesättigten FS meist an der sn-1 Position, die ungesättigten meist an der sn-2 Position). [17]

Acetylcholin, der Essigsäureester des Cholins, ist einer der wichtigsten Neurotransmitter und spielt eine herausragende Rolle in Erinnerungs- und Lernprozessen. [9, 14, 18] Das Oxidationsprodukt von Cholin, Betain, dient als wichtiger Methylgruppendonator. [14, 18] Darüber hinaus wirken Betain, und ein weiterer Cholinmetabolit, Glycerophosphocholin, als Osmolyt in der Niere. [14] Als Vorläufermolekül von Lysophosphatidylcholin und Lysosphingomyelin, sowie des Plättchenaktivierenden Faktors (PAF), spielt Cholin auch bei der intrazellulären Signalübertragung eine tragende Rolle. [14, 19]

In Form von Phosphatidylcholin ist Cholin Hauptbestandteil des Very Low Density Lipoproteins (VLDL), das dem Transport von Triacylglyceriden und Cholesterin aus der Leber in die Zielgewebe dient. [18]

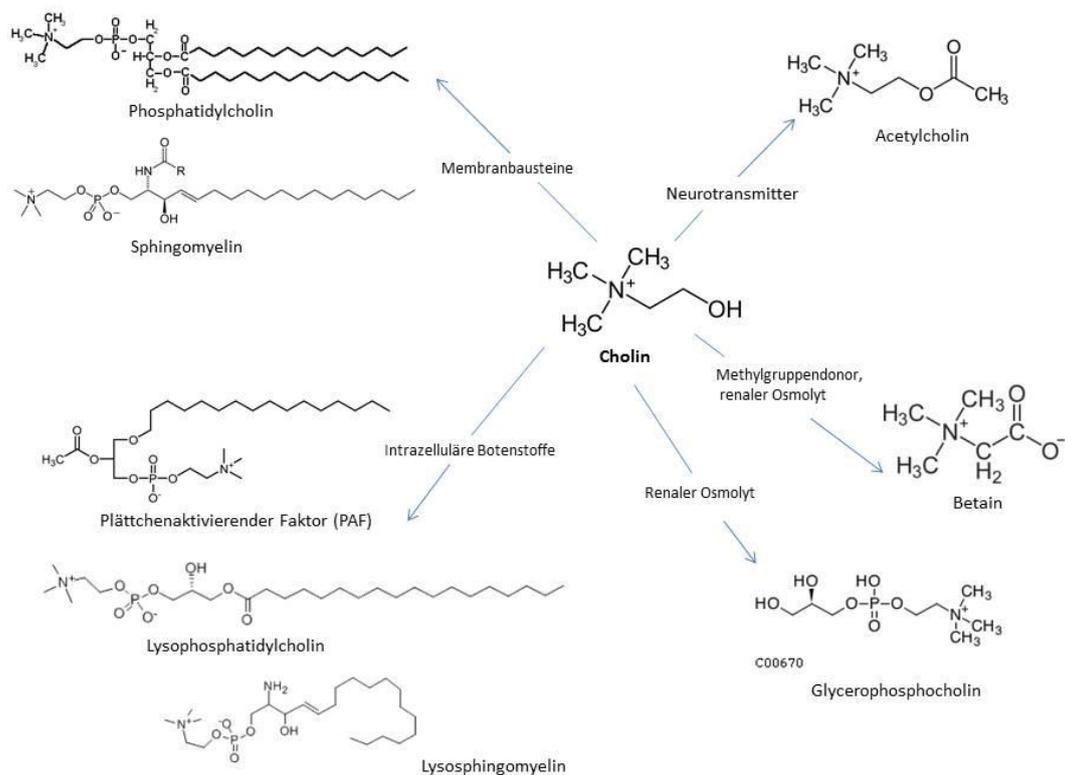


Abbildung 2: Strukturformeln von Cholin und seinen Metaboliten.

Die Hauptaufgaben der Metaboliten im menschlichen Organismus sind im Verlauf der Pfeile aufgeführt. Diese Abbildung wurde in Anlehnung an die Abbildungen „Multiple Fates of Choline“ aus [19] sowie an die Abbildung 1 „Choline-containing compounds of physiologic importance“ aus [14] erstellt.

1.2.2 Cholinstoffwechsel

1.2.2.1 Kennedy-Pathway

Phosphatidylcholin, das wichtigste Phospholipid für die Synthese von Membranen in Säugetieren, und einer der wichtigsten Cholinabkömmlinge, kann auf zwei Wegen entstehen:

Zunächst kann über den Kennedy-Pathway Phosphatidylcholin de novo aus schon vorbestehendem Cholin, das zuvor über die Nahrung aufgenommen wurde, synthetisiert werden. Nahrungsmittel, die viel Cholin enthalten, sind Rinderleber (418mg Cholin/100g Leber), Hühnerleber (290 mg/100g), Weizenkeime (152 mg/100g), Schinken (125 mg/100g), getrocknete Sojabohnen (116 mg/100g) und Schweinefleisch (103 mg/100g). [5] Weitere Cholinquellen sind unter dem Punkt 1.2.3 aufgeführt. Der Cholinmetabolit

Betain ist besonders reichlich in Weizenkleie zu finden (1506 mg/100g), in Weizenkeimen und in Spinat. [5] Über den Kennedy-Pathway entsteht bei normaler Ernährungslage der Großteil des Phosphatidylcholins. Hier wird Cholin zunächst durch die Cholin-kinase mit ATP zu Phosphocholin aktiviert, dann durch die Cholinphosphat-Cytidylyltransferase mit CTP zu CDP-Cholin verknüpft und über die Cholinphosphotransferase entsteht daraus durch die Verbindung mit einem Diglycerid Phosphatidylcholin. [5, 14]

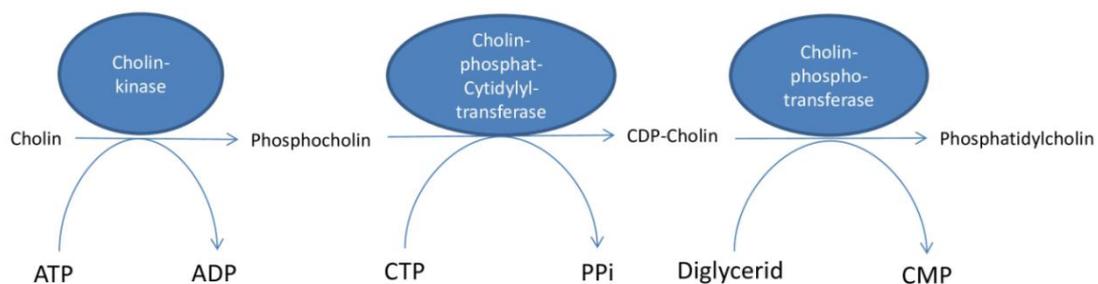


Abbildung 3: Der Kennedy-Pathway (nach [5])

Der regulierende Schritt in diesem Mechanismus ist der Schritt der Cholinphosphat-Cytidylyltransferase. [14, 20] Eine verminderte Aktivität dieses Enzyms verursacht beispielsweise bei Frühgeborenen ein Atemnotsyndrom. [14, 21] Die Cytidylyltransferase kommt im Zytosol vor, sowie membrangebunden im Endoplasmatischen Retikulum und im Golgi-Apparat. [20, 22] Die Cholinphosphat-Cytidylyltransferase-Aktivität wird einerseits durch die Phosphorylierung und Dephosphorylierung durch eine cAMP-abhängige Proteinkinase gesteuert. Außerdem reguliert der Phosphatidylcholingehalt in Membranen die Bindung der Cytidylyltransferase an Membranen. [14] Ist wenig Phosphatidylcholin vorhanden, so nimmt die Bindungswahrscheinlichkeit des Enzyms an Membranen zu, ist viel Phosphatidylcholin vorhanden, so nimmt die Bindungswahrscheinlichkeit ab. [22, 23] Dies erklärt auch, weshalb die Cytidylyltransferase-Aktivität in cholindefizienten Hepatozyten ansteigt. [24] Ebenso reguliert Diacylglycerol die Aktivität der Cytidylyltransferase. [14] Die enorme Bedeutung der beiden ersten Enzyme im Kennedy-Pathway,

Cholinkinase und Cytidylyltransferase, wird bei folgender Beobachtung deutlich. Beide Enzyme liegen jeweils in mehreren Isoformen vor (Isoenzyme). So existieren sowohl bei der Cholinkinase, als auch bei der Cytidylyltransferase, jeweils eine α - und eine β - Form, die durch unterschiedliche Gene kodiert werden. [25] Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass Mäuse, die einen Cholinkinase α -Mangel besitzen, schon während der Embryogenese sterben, während Mäuse mit Cholinkinase β -Mangel eine Muskelatrophie entwickeln. Bei Mäusen mit Cytidylyltransferase α -Mangel kommt es ebenso in einer frühen embryonalen Phase zum Tode, bei Mäusen mit Cytidylyltransferase β -Mangel zu einer Gonadendysfunktion. [26]

1.2.2.2 PEMT-Pathway

Der zweite Weg, der besonders bei geringer Verfügbarkeit von Cholin aus der Nahrung und während der Schwangerschaft beschritten wird, ist der PEMT-Pathway, die Synthese von Phosphatidylcholin aus Phosphatidylethanolamin durch die Phosphatidylethanolamin-N-Methyl-Transferase (PEMT). Beim PEMT-Pathway werden drei Methylgruppen von jeweils einem S-Adenosylmethionin-Molekül nacheinander auf Phosphatidylethanolamin übertragen, bis Phosphatidylcholin entsteht. Das S-Adenosylmethionin wird dadurch zu Adenosyl-Homocystein. [27]

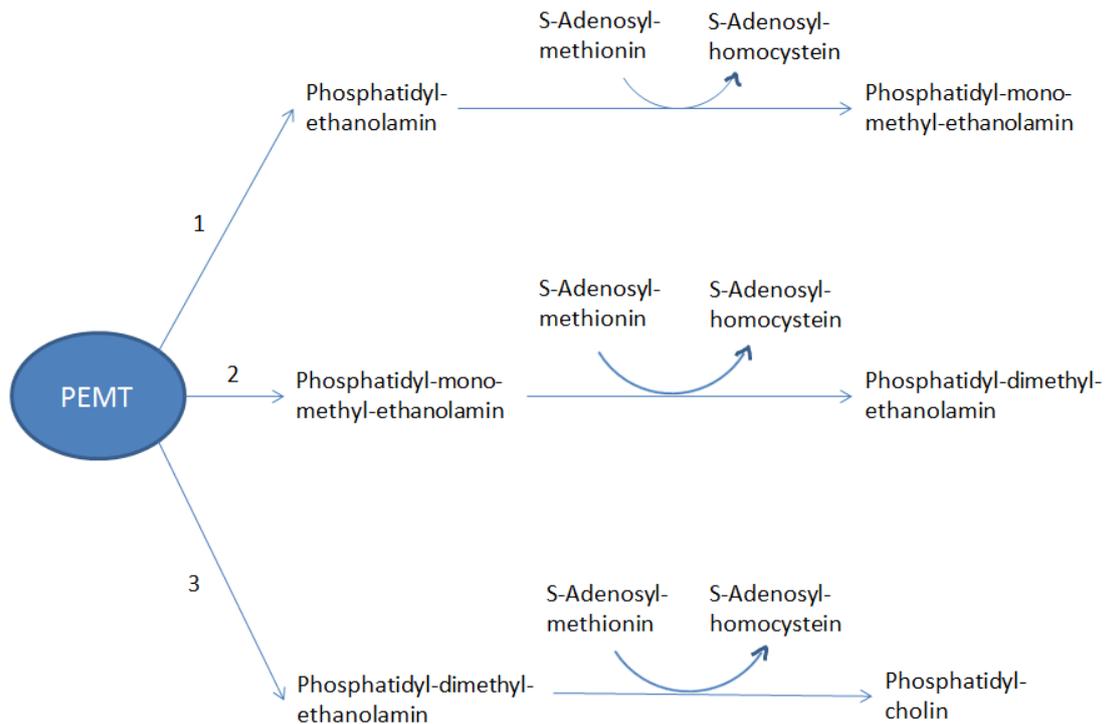


Abbildung 4: Der PEMT-Pathway nach [28]

Die Hauptrolle in diesem Stoffwechselweg spielt das Enzym Phosphatidylethanolamin-N-Methyltransferase (PEMT). Sie ist vor allem in der Leber aktiv [14], aber auch im Gehirn [29] und in der Brustdrüse [30]. Es wird geschätzt, dass 15-40 % des Phosphatidylcholins in der Leber aus dem PEMT-Pathway stammt. [31] Die Aktivität der PEMT wird reguliert durch die Verfügbarkeit an Phosphatidylethanolamin, durch das Konzentrationsverhältnis von S-Adenosylmethionin zu S-Adenosylhomocystein, und durch die Verfügbarkeit an S-Adenosylmethionin in der Leber. Das Produkt der Reaktion, S-Adenosylhomocystein, hemmt die PEMT. [14] Des Weiteren wird die PEMT durch Östrogen beeinflusst. [32]

Aus diesem Grund reagieren besonders Menschen mit physiologisch niedrigeren Östrogenspiegeln, wie Männer und postmenopausale Frauen, sensibler auf einen Cholinmangel als zum Beispiel prämenopausale Frauen. [33] Auch bei einem Teil der Frauen, die sich noch vor der Menopause befinden, bedingt ein genetischer Polymorphismus, dass die Cholinbiosynthese

in ihrem Körper nicht sensitiv auf Östrogen ist, und sie deshalb das Cholin aus der Nahrung zu sich nehmen müssen. [18]

Im Tiermodell zeigte sich bei Mäusen mit PEMT-Mangel das Entstehen einer Hepatosteatose sowie ein Lebersversagen bei cholinarmer Ernährung. [26]

1.2.2.3 Der Zusammenhang zwischen den Stoffwechselwegen von Cholin, Methionin und Folsäure

Die Stoffwechselfade von Cholin, Methionin und Folsäure hängen eng miteinander zusammen. Sie treffen sich bei der Gewinnung von Methionin aus Homocystein. Im Cholinstoffwechsel verwandelt die Cholindehydrogenase Cholin zu Betinaldehyd, welches weiter zu Betain oxidiert wird. Im Folsäurestoffwechsel überträgt die Betain-Homocystein-Methyltransferase Methylgruppen von Betain auf Homocystein, wodurch Methionin entsteht. Alternativ kann Methionin durch Übertragung von Methylgruppen von Methyltetrahydrofolat auf Homocystein erschaffen werden. Durch die Methionin-Adenosyl-Transferase kann dann aus Methionin S-Adenosylmethionin entstehen, der Methylgruppendonor für viele enzymatische Methylierungen, wie zum Beispiel Phosphatidylcholin aus Phosphatidylethanolamin (im PEMT-Pathway), ebenso wie für die Entstehung von Kreatin, Epinephrin, Carnitin und die Methylierung von DNA und Histonen. [14] [34]

Stört man einen dieser zusammenhängenden Stoffwechselfade, so zeigen sich rasch Auswirkungen in den beiden anderen Stoffwechselwegen. In einem Tierversuch mit Ratten von Zeisel und Blusztajn [14] zeigte sich zum Beispiel, dass die Konzentration an Cholin und Cholinmetaboliten in der Leber von Ratten nach zwei Wochen cholinarmer Ernährung deutlich abgenommen hatte. Phosphocholin nahm nach zwei Wochen in der Leber um ca. 10-20 % ab. Die Gesamtkonzentration an Folsäure nahm bei diesen Ratten unter cholinarmer Ernährung im Zeitraum von zwei Wochen sogar um 31 % ab. Ratten, die über fünf Wochen eine cholin- und methioninarme Nahrung erhalten hatten, wiesen eine um die Hälfte erniedrigte Folsäurekonzentration in der Leber auf. Ebenso nahm die Konzentration des S-Adenosylmethionins um 50 % ab. Ein

Folsäuremangel, z.B. durch Methotrexat im Rahmen einer Chemotherapie, resultiert ebenso in einer verminderten CholinKonzentration in der Leber. [14]

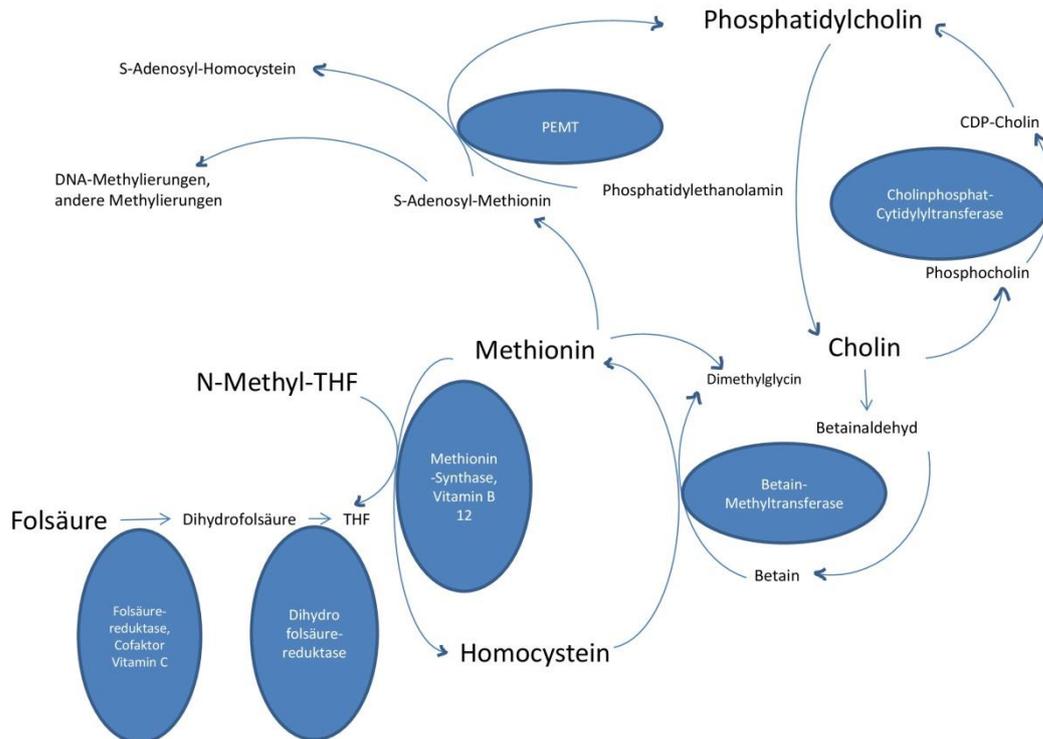


Abbildung 5: Folsäure-, Methionin- und Cholinstoffwechsel
 Nach: „Figure 2: Choline, folate and methionine metabolism are closely interrelated“ aus [14]

1.2.3 Bedeutung für den menschlichen Organismus

Die Aufgaben von Cholin im menschlichen Körper sind vielfältig. Acetylcholin, der Essigsäureester des Cholins, ist ein wichtiger Neurotransmitter. [18] Es entsteht in einer durch die Cholinacetyltransferase katalysierten Reaktion aus Cholin und Acetyl-CoA. [14] Das Oxidationsprodukt von Cholin, Betain, spielt eine wichtige Rolle in Transmethylierungsprozessen, wobei zum Beispiel der Methylgruppen-Donor S-Adosylmethionin entsteht [18].

Durch enzymatische Oxidation von Cholin kann Betain synthetisiert werden, dessen Methylgruppen dann zur Resynthese von Methionin aus Homocystein eingesetzt werden können. [19]

Außerdem ist Betain, ebenso wie Glycerophosphocholin aus dem Cholinstoffwechsel, als renaler Osmolyt an der Reabsorption von Wasser im Nierentubulus beteiligt. [14, 18]. Cholin ist auch ein Vorläufermolekül der wichtigsten Membran-Phospholipide, Phosphatidylcholin und Sphingomyelin ([18]). Beim Morbus Alzheimer ist der Stoffwechsel dieser Membranphospholipide gestört. So findet man bei dieser Erkrankung im Rahmen einer Autopsie im Hirnparenchym häufig verminderte Konzentrationen an Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Cholin und Ethanolamin. [14] Ebenso ist es ein Vorläufermolekül von intrazellulären Botenstoffen wie Diacylglycerinen (diese aktivieren unter anderem die Proteinkinase C) oder Ceramiden, sowie des Plättchenaktivierenden Faktors PAF (1-Alkyl-2-Acetyl-sn-Glycero-3-Phosphocholin). [19] Der Plättchenaktivierende Faktor hat vielfältige Aufgaben, so aktiviert er die Thrombozytenaggregation, senkt den Blutdruck, erhöht die Gefäßpermeabilität, aktiviert Monozyten, Makrophagen und Neutrophile, fördert die Glykogenolyse in der Leber und dient als Mediator bei allergischen und entzündlichen Reaktionen. [14] Des Weiteren ist Cholin Bestandteil des Sphingosylphosphorylcholins, einem Sphingomyelin-Metabolit, der ebenso als intrazellulärer Botenstoff dient.[19] [14] In Form von Phosphatidylcholin ist Cholin Hauptbestandteil des Very Low Density Lipoproteins (VLDL), das dem Transport von Triacylglyceriden und Cholesterin aus der Leber in die Zielgewebe dient. [18] Wird infolge eines Cholinmangels weniger VLDL gebildet, so verbleiben mehr Triacylglyceride in den Hepatozyten und es besteht die Gefahr einer Leberverfettung bis hin zur Fettleber. [14] Durch oral eingenommene Cholin-Präparate kann hingegen im Rahmen einer Total-Parenteralen Ernährung über lange Zeit der Fettgehalt der Leber gesenkt werden. [35]

In einer Studie des amerikanischen Ernährungswissenschaftlers Zeisel wurde Probanden, die vor Versuchsbeginn normale Laborwerte für Folsäure und Vitamin B 12 aufwiesen, über die Nahrung eine stark reduzierte Menge an Cholin zugeführt (< 50 mg/70 kg Körpergewicht/Tag über bis zu 42 Tage). Daraufhin entwickelten 80% der männlichen Probanden sowie 77% der postmenopausalen weiblichen Probandinnen MR-tomographische Zeichen

einer Fettleber sowie Zeichen einer Leberzell- (erhöhte Transaminasen im Blut) oder einer Muskelzellschädigung (erhöhte Creatinkinase im Blut). Diese Laborwerte sowie klinischen Zeichen normalisierten sich bei Wiederherstellung einer normalen Cholinzufuhr über die Nahrung (550 mg/70 kg KG/Tag). Die zusätzliche Gabe von 400 µg Folsäure täglich hatte keinen Einfluss auf die Ausbildung der Mangelsymptome. [33]

Die Entstehung der Fettleber bei cholinarmer Ernährung ist bedingt durch den Mangel an Phosphatidylcholin, welches als Bestandteil von VLDL maßgeblich am Transport von Triglyceriden aus der Leber beteiligt ist. Der Anstieg der Transaminasen sowie der Creatinkinase im Blut entsteht durch die im Rahmen eines Cholinmangels gehäuften Apoptose-Vorgänge in Hepatozyten und Myozyten. Infolgedessen können bei Individuen mit Cholinmangel auch Hyperurikämien als Zeichen von vermehrter Zelllyse beobachtet werden. Im Rahmen der Studie gab es eine Kontrollgruppe, die die vom Institute of Medicine empfohlene Menge von 550 mg Cholin/70 kg KG und Tag zugeführt bekam. Ein kleiner Anteil der Probanden aus der Kontrollgruppe zeigte trotz einer vermeintlich adäquaten Cholinzufuhr Mangelerscheinungen. Man vermutet, dass diese Männer vor Beginn der Studie normalerweise mehr Cholin als die empfohlenen 550 mg/70 kg und Tag zu sich nahmen, und damit während der Studie in einen relativen Cholinmangel gerieten. Dafür könnte der nach 10 Tagen bei diesen Männern nachgewiesene erniedrigte Phosphatidylcholinspiegel im Vergleich zum Spiegel vor Beginn des Versuchs sprechen. [18, 33]

Im Rahmen derselben Studie konnte beobachtet werden, dass der tägliche Bedarf an Cholin aus der Nahrung sich bei den verschiedenen Probanden teils stark unterschied. Manche Probanden benötigten mehr als die vom Institute of Medicine der Vereinigten Staaten empfohlene Tagesmenge von 550 mg/70 kg KG und Tag, um keine Mangelsymptome zu entwickeln, andere benötigten weniger als die stark reduzierte Menge von < 50 mg/70 kg KG und Tag. Dies liegt vermutlich zu einem Teil an den unterschiedlichen Östrogenspiegeln bei den verschiedenen Probanden, da Östrogen die Phosphatidyl-Ethanolamin-

Methyl-Transferase (PEMT) induziert und damit für eine endogene Phosphatidylcholin-Produktion sorgen kann. Des Weiteren kann der unterschiedlich hohe Bedarf an Cholin durch genetische Polymorphismen bedingt sein, in Genen z.B. für die Promotorregion der PEMT, wo ein Single Nucleotid Polymorphismus gefunden wurde (rs12325817), oder im MTHFD1-Gen (5,10-Methylentetrahydrofolat-Dehydrogenase-1958A), bei dem Trägerinnen einer bestimmten Genvariante 15 Mal häufiger unter cholinarmer Nahrung Mangelercheinungen entwickelten als Nicht-Trägerinnen. [33, 36]

1998 wurde Cholin offiziell vom Institute of Medicine der United States National Academy of Sciences auf die Liste der essentiellen Nährstoffe gesetzt. Es ist damit ein Nährstoff, der zur Aufrechterhaltung der Gesundheit über die Nahrung aufgenommen werden muss, auch wenn er zu einem kleinen Anteil vom menschlichen Körper selbst synthetisiert werden kann. [19] Das Institute of Medicine of the National Academy of Sciences (USA) empfiehlt eine tägliche Aufnahme von Cholin von 550 mg/d für Männer und 425 mg/d für Frauen. [5] Dies ist diejenige Menge an Cholin, die ein Mensch sich täglich zuführen muss, damit seine Leberfunktion konstant gut bleibt (gemessen am GPT-/ALT-Spiegel im Blut). [34] Enthalten ist Cholin in größeren Mengen in Leber, in Erdnüssen, in Eiern, und in einer Reihe von anderen Fleischarten sowie auch Gemüse und Obst, wie aus der folgenden Übersicht ersichtlich wird:

Nahrungsmittel	Cholingehalt ($\mu\text{mol/kg}$)	Phosphatidyl- cholingehalt ($\mu\text{mol/kg}$)	Sphingo- myelingeht ($\mu\text{mol/kg}$)
Banane	240	37	20
Blumenkohl	1306	2770	183
Ei	42	52000	2250
Eisbergsalat	2930	132	50
Erdnuss	4546	4960	78
Erdnussbutter	3895	3937	9
Rinderleber	5831	43500	1850
Rindersteak	75	6030	506
Tomate	430	52	32

Tabelle 1: Cholingehalt von herkömmlichen Nahrungsmitteln.

Der Cholingehalt wurde massenspektrometrisch ermittelt (Auszug aus Tabelle 1 aus [14].)

Männer haben einen höheren Bedarf an Cholin aus der Nahrung, weil die Phosphatidylethanolamin-N-Methyl-Transferase (PEMT), welche Phosphatidylcholin direkt aus körpereigenem Phosphatidylethanolamin synthetisieren kann, durch Östrogene reguliert wird. [32] Prämenopausale Frauen, die nicht schwanger sind, haben einen niedrigeren Bedarf an Cholin als postmenopausale Frauen, und diese einen niedrigeren als Männer. Prämenopausale Frauen entwickeln deshalb unter Cholinmangel seltener Organdysfunktionen als postmenopausale Frauen oder Männer. Prämenopausale schwangere Frauen hingegen müssen eine größere Menge an Cholin zu sich nehmen, da sie auch den erhöhten Cholinbedarf des Feten decken müssen. [33] Auch im Tiermodell wird die Östrogenabhängigkeit der PEMT deutlich: Weibliche Ratten sind einem Cholinmangel gegenüber weniger empfindlich als männliche Ratten, und weibliche Mäuse produzieren mehr Cholin über den PEMT-Pathway als männliche Mäuse.

Bei Östradiol-Behandlung wurde eine erhöhte Aktivität der PEMT in der Leber von Vögeln und kastrierten Ratten und in der Hirnanhangsdrüse von Ratten nachgewiesen. [32]

Ist ein Kind plötzlich nach der Geburt weniger Östrogen ausgesetzt, so wird die kindeigene PEMT möglicherweise nicht mehr genügend zur Synthese von Phosphatidylcholin angeregt. Dies könnte bei Frühgeborenen, die eigentlich einen besonders hohen Bedarf an PC haben (zur Reifung der Organe und Bildung von neuen Geweben) dazu führen, dass sie mit PC unterversorgt sind und sich deshalb nicht optimal entwickeln können. [17, 37]

Cholinmangel ist die einzige Form der Mangelernährung von nur einem einzelnen Nährstoff, die bei Tieren zu spontaner Karzinogenese führen kann. [14] So war in einem Tierversuch bei Ratten, die eine cholinarme Ernährung erhielten, eine erhöhte Inzidenz an hepatozellulären Karzinomen zu beobachten, außerdem reagierten diese Tiere sensibler auf andere chemische Karzinogene. Verantwortlich dafür ist vermutlich einerseits die unter Cholinmangel erhöhte Zellteilungsrate in den Hepatozyten, außerdem die im Rahmen eines Cholinmangels auftretende verminderte Methylierung von DNA. Des Weiteren entstehen im Rahmen der vermehrten Lipidperoxidation in den Hepatozyten unter Cholinmangel vermehrt freie Radikale, die wiederum zu DNA-Veränderungen und damit zur Karzinogenese führen können. [14] Auch beim Menschen ergaben sich in einigen Studien Hinweise auf eine karzinoprotektive Wirkung von Cholin und seinem Metaboliten Betain. In einer amerikanischen Studie zeigte sich eine Verminderung des Risikos für Brustkrebs, wenn die tägliche Cholin- und Betaineinnahme im obersten Fünftel einer Bevölkerungsgruppe lag [38]. Eine erhöhte Betainzufuhr führte zu einer leichten Verminderung des Risikos für kolorektale Karzinome bei Frauen [39], und von Ösophaguskarzinomen bei Frauen und Männern. [40] In anderen Studien hingegen konnte keine protektive Wirkung von Cholin oder Betain nachgewiesen werden, im Einzelnen vor Brustkrebs bei prä- [41] und postmenopausalen Frauen [42], sowie vor dem kolorektalen Karzinom bei Männern [43]. Es zeigte sich sogar ein positiver Zusammenhang zwischen einer

hohen Cholinaufnahme und der Entstehung von kolorektalen Adenomen bei Frauen. [39] Damit ist die Rolle, die Cholin bei der Entstehung von Krebs beim Menschen spielt, noch unklar und bedarf weiterer Forschung.

1.2.4 Cholin in Schwangerschaft und Stillzeit

1.2.4.1 Erhöhter Cholinbedarf

In der Schwangerschaft besteht sowohl beim Menschen, als auch bei Tieren, ein erhöhter Bedarf an Cholin. Zu Beginn der Schwangerschaft wird es unter anderem für das Wachstum der Plazenta und der mütterlichen Organe benötigt. Im letzten Trimenon nimmt das Wachstum der fetalen Organe rasch zu und es wird viel Cholin für die Membranbiosynthese beim Fötus verbraucht. [44]

1.2.4.2 Cholinspiegel bei Mutter und Kind

In der Schwangerschaft steigt bei Frauen die totale Plasma-Phosphatidylcholin-Konzentration [37, 45, 46], um genügend Cholin für die Entwicklung des Fötus bereitzustellen. In dieser Zeit enthält die menschliche Plazenta 50 Mal mehr Cholin, als das Blut der Mutter enthält (Plazenta 1000 $\mu\text{Mol/l}$, Blut 20 $\mu\text{Mol/l}$; [47]). Cholin wird dem Fötus über die Plazenta zugeführt. Die Cholinkonzentration im Fruchtwasser ist bei Säugetieren 10-fach höher als die Konzentration im mütterlichen Blut [14]. Die Cholinkonzentration im embryonalen Nabelschnurplasma bei Ratten und auch beim Menschen ist 3 Mal höher als im mütterlichen Blut. [48, 49] Aufgrund der erhöhten Cholinzufuhr an ihre Nachkommen nimmt der Plasmaspiegel von Cholin und seinen Metaboliten bei trächtigen Rattenweibchen trotz der Aufnahme normalen Futters ab. [50-52] Wird in dieser Phase cholinarmes Futter gegeben, so treten sogar gravierende Cholinmängel auf [52]. Auch ist die Cholinkonzentration in der Leber von schwangeren Ratten im Vergleich zu nichtschwangeren Ratten deutlich erniedrigt, als Zeichen dafür, dass eine große Menge an Cholin für den Embryo bereitgestellt wird. [48]

Die Plasmacholinkonzentration beim Feten und Neugeborenen ist stark erhöht, ca. um das 6- bis 7-fache des Plasmaspiegels eines nichtschwangeren Erwachsenen. [53] Dabei liegt der normale Cholinplasmaspiegel beim

Menschen bei ca. 7-20 μM . [34] Ebenso sind die Betain- und Dimethylglycerin-Konzentrationen im Nabelschnurblut deutlich höher als im mütterlichen Blut. [49] Der mütterliche Betainplasmaspiegel nimmt in der Schwangerschaft ab. Dahingegen steigt jedoch die Homocysteinkonzentration im mütterlichen Blut als Folge des gesteigerten fetalen Bedarfs an Cholin und der infolgedessen gesteigerten De-novo-Synthese von Cholin in der mütterlichen Leber, angeregt unter anderem durch das ansteigende mütterliche Östrogen. [44, 49] Erhöhte Homocysteinspiegel gingen in einer norwegischen Studie mit einem erhöhten Risiko für Präeklampsie, Frühgeburtlichkeit und VLBW einher [54]. Außerdem war die Wahrscheinlichkeit einer Totgeburt und eines Neuralrohrdefekts bei erhöhten Plasmahomocysteinspiegeln in der Schwangerschaft erhöht. [54] Deshalb ist eine ausreichende Aufnahme von Cholin über die Nahrung so wichtig, weshalb eine Einnahme von Cholinsupplementen in der Schwangerschaft angedacht werden sollte [44, 49].

1.2.4.3 Aufgaben des Cholins in der Schwangerschaft

Zunächst spielt Cholin in der ZNS-Entwicklung des Föten und des Neugeborenen eine überaus wichtige Rolle.

Embryonale neuronale Vorläuferzellen benötigen Cholin zur Membranbiosynthese und zur Methylierung. Außerdem wird vermutet, dass Cholin durch Veränderung der epigenetischen Regulierung der Genexpression in neuronalen und endothelialen Vorläuferzellen in die Gehirnentwicklung eingreift. [55] Über diese Mechanismen beeinflusst wahrscheinlich die Cholinzufuhr im Tierversuch bei Rattenfetten die Angiogenese und Neuronenentstehung. An Tierversuchen konnte auch gezeigt werden, dass Schwankungen in der Cholinzufuhr während der frühen Neonatalphase in lebenslang andauernden Veränderungen der kognitiven Leistungen resultieren, die sich neuroanatomisch, neurochemisch und neurophysiologisch nachweisen lassen. [19, 55]

Dies wird unter anderem in einer vielzitierten Studie von Meck und Williams deutlich, die den Zusammenhang zwischen der Verfügbarkeit von Cholin in der Schwangerschaft von Rattenweibchen und der Gehirnleistung ihrer Nachkommen untersuchte. [56] Dabei führten die Wissenschaftler schwangeren Rattenweibchen an den Tagen 11-17 der Schwangerschaft unterschiedliche Mengen an Cholin zu. In dieser Phase der Embryonalentwicklung findet eine hohe Zellteilung sowie vermehrt Apoptose mit Zelluntergang im Gehirn statt. Diese unterschiedlichen Mengen an Cholinzufuhr im Rahmen der Schwangerschaft bewirkte bei den Nachkommen unterschiedliche Änderungen der Verhaltensweisen, die ihr ganze Leben lang anhielten: Nachkommen von Weibchen, die in der Schwangerschaft hohe Cholinmengen erhalten hatten, waren bei Aufgaben, die das räumliche Vorstellungsvermögen und das Kurzzeitgedächtnis forderten, geschickter. Hatten dagegen die Mütter in den oben beschriebenen Tagen der Schwangerschaft kein Cholin erhalten, so waren die Gedächtnisleistungen der Nachkommen beeinträchtigt. Diese Effekte waren noch im Alter von 2 Jahren bei den Nachkommen nachweisbar, was für Ratten bereits ein hohes Alter darstellt. Damit konnte nachgewiesen werden,

dass eine erhöhte Cholinzufuhr ebenso die altersbedingte Abnahme der Gedächtnisleistung vermindert. [19]

Ähnliche Effekte konnten beobachtet werden, wenn den Ratten an den postnatalen Lebenstagen 16-30 eine erhöhte Menge an Cholin zugeführt wurde. [57] Diese beiden sensiblen Phasen stimmen mit den wichtigsten Zeiträumen in der Neurogenese (beim Rattenembryo, pränatal) und in der Synaptogenese (bei der jungen Ratte, postnatal) überein. Die Entstehung von cholinergen Neuronen im basalen Vorderhirn (Zellen, in denen Gedächtnisprozesse ablaufen) des Rattenembryos findet an den Tagen 12-17 der Schwangerschaft statt. Die höchste Rate an Neubildungen von Synapsen im cholinergen System tritt in der 3. Lebenswoche auf und ist ungefähr am 30. Lebenstag der jungen Ratte weitestgehend abgeschlossen.[14] Ebenso konnte bei Ratten, deren Mütter an den Tagen 12-17 der Schwangerschaft eine cholinreiche Nahrung erhalten hatten, postnatal eine Hypertrophie der Neuronen im basalen Vorderhirn um ca. 8-15 % beobachtet werden, die wahrscheinlich im Zusammenhang mit den besseren Testergebnissen der Ratten mit cholinreicher Nahrung steht. [58]

Dabei war die Versorgung mit Cholin während der embryonalen Phase (Tage 12-17) wichtiger für die Entwicklung des Ortsgedächtnisses als die Versorgung in der postnatalen Phase. Diese physiologischen Veränderungen gehen vermutlich auf eine neuroanatomische Veränderung von Regionen des fetalen Hippocampus und des Vorderhirns zurück, die eine Rolle bei Erinnerungsprozessen spielen. Zeisel wies nach, dass eine zusätzliche Einnahme von Cholin die Zellteilungsrate in Teilen des Hippocampus und des Septums anregte, während ein Cholinmangel die Zellteilungsrate in diesem Bereich verminderte [5]. Ein Cholinmangel führt zu einer verminderten Konzentration von S-Adenosylmethionin, und damit zu einer verminderten Methylierung von DNA. Damit wird in den Neuronen von Rattenfeten cholinminderversorgter Rattenweibchen auch der Promotorabschnitt im Gen für den Cyclinabhängige Kinase - Inhibitor 3 im fetalen Hippocampus in verminderter Form methyliert, und damit vermehrt exprimiert. Dies führt wiederum zu einer Hemmung der

Zellproliferation. Es wird vermutet, dass dieser Mechanismus der Grund für die verminderte Stammzellproliferation im Hippocampus von Rattenfeten von cholinarm ernährten Rattenweibchen sein könnte. [6]

In einer weiteren Studie von Meck und Williams wurde beobachtet, dass eine gute perinatale Verfügbarkeit von Cholin beim Rattenembryo in bestimmten Phasen seiner Entwicklung eine bis in die Erwachsenenzeit andauernde Auswirkung auf die Elektrophysiologie im Hippocampus, insbesondere auf die Langzeitpotenzierung (langdauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung) hat. Diese Auswirkung steht wahrscheinlich im Zusammenhang mit der oben beschriebenen Verbesserung des räumlichen Vorstellungsvermögens bei Ratten, die perinatal gut mit Cholin versorgt waren. [59, 60]

Auch bei der Apoptose spielt Cholin eine Rolle: Studien an Nagern zeigten, dass die Nachkommenschaft von Mäuseweibchen, die vermehrt Cholin mit der Nahrung zu sich nahmen, weniger Apoptose im Hippocampus zeigte, während diese verstärkt bei Jungtieren von Mäuseweibchen auftrat, die während der Schwangerschaft wenig Cholin zu sich genommen hatten [5]. Einerseits wird die Apoptose durch eine Abnahme des Gehalts an Phosphatidylcholin in den Zellmembranen verursacht, andererseits durch eine Zunahme der Ceramide, die als intrazellulärer Botenstoff für die Apoptose dienen. Immunhistochemisch konnte nachgewiesen werden, dass eine erhöhte Cholinzufuhr bei trächtigen Rattenweibchen an den Tagen 11-17 die Zellteilungsrate im fetalen Rattengehirn erhöht, und dass andererseits ein Cholinmangel an diesen kritischen Tagen zu einer erhöhten Apoptoserate im Hippocampus führt. [19]

Es ist bekannt, dass die Einnahme von Folsäure während der Schwangerschaft die Ausbildung von Neuralrohrdefekten (Spina bifida), sowie von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten, beim Kind verhindern kann. [61, 62] Da Cholin ebenso wie die Folsäure an der Methylierung von Homocystein zu Methionin beteiligt ist, überrascht es nicht, dass in einer Studie von Shaw et al. bei einer erhöhten perikonzeptionellen Einnahme von Cholin, Betain und Methionin ebenso das Risiko für einen Neuralrohrdefekt beim Kind signifikant erniedrigt war im Vergleich zu Kindern von Frauen, die in der Schwangerschaft wenig von den

drei Stoffen zu sich nahmen (25. Perzentile verglichen mit der 75. Perzentile). [63] Das Risiko eines Neuralrohrdefekts war für Kinder von Müttern mit geringer Aufnahme von Cholin 4-fach erhöht. [48] 2009 ermittelten Shaw et al. im Rahmen einer weiteren Studie die Cholinplasmakonzentrationen von Kindern mit Neuralrohrdefekt und gesunden Neugeborenen. Hier war eine niedrige Plasmacholinkonzentration mit einem erhöhten Risiko für einen Neuralrohrdefekt vergesellschaftet, und eine hohe Plasmacholinkonzentration erwies sich als protektiv. [64] Bei zu geringer Aufnahme von Cholin während der Schwangerschaft ist das Risiko vierfach erhöht, ein Kind mit Neuralrohrdefekt zu gebären, und 1,5-fach erhöht für eine orofaziale Spalte. [63] In Experimenten an Mäuseembryonen zeigte sich, dass in einem frühen Entwicklungsstadium die Gabe eines Cholin-Aufnahmehemmers (2-Dimethylaminoethanol) Fehlbildungen des Gesichts und des Neuralrohrs verursachte [65].

Für die Entwicklung einer gesunden Lunge ist die pränatale Produktion von Surfactant beim Neugeborenen unabdingbar. Surfactant besteht zum größten Teil aus Phosphatidylcholin. Der Phosphatidylcholinspiegel in der Lunge des Fötus steigt im letzten Schwangerschaftsdrittel stark an. [66] Somit spielt Cholin auch in der Entwicklung der Lunge des Fötus eine wichtige Rolle.

1.2.4.4 Empfehlungen zur Cholinaufnahme in der Schwangerschaft

Das Food and Nutrition Board des Institute of Medicine empfiehlt Frauen, die nicht schwanger sind, eine tägliche Aufnahme von 425 mg Cholin. Für schwangere Frauen wird eine Menge von 450 mg pro Tag, und für stillende Frauen 550 mg Cholin pro Tag empfohlen. [19] Laut der amerikanischen National Health and Nutrition Examination Survey von 2003/2004 nahmen jedoch 90 % der Schwangeren in den USA täglich eine Cholinmenge zu sich, die unterhalb des empfohlenen Adequate Intake Levels liegt. Dies waren durchschnittlich 338 mg/d. [67] Die Empfehlungen des Food and Nutrition Board basieren zu einem großen Teil auf Daten aus Tierversuchen. In einer Studie von Yan et al. aus dem Jahre 2012 zeigte sich jedoch bei schwangeren Frauen eine hohe Ausscheidung von Cholin und Betain über den Urin, sowie eine

deutlich verminderte Konzentration an zirkulierenden Methylgruppen-Donoren, die von Cholin abstammen, sodass davon ausgegangen werden muss, dass eine Steigerung der täglichen Cholinzufuhr um nur 25 mg/d in der Schwangerschaft bei weitem nicht ausreichend ist, um den erhöhten Bedarf für Plazenta- und fetales Wachstum zu decken. [68] Außerdem wurde in einer weiteren Studie gezeigt, dass in einer Gruppe aus Schwangeren, die 930 mg/Tag Cholin zu sich nahmen, im Vergleich zu einer Gruppe Schwangerer mit einer täglichen Aufnahme von nur 480 mgCholin/Tag, der antiangiogenetische Faktor und Risikofaktor für Präeklampsie, sFLT-1 (soluble fms-like Tyrosinkinase-1, oder auch sVEGFR-1), um 30 % erniedrigt war. [69] Eine ausreichende Cholinaufnahme in der Schwangerschaft könnte also nicht nur die neurokognitive Entwicklung des Kindes positiv beeinflussen, sondern evtl. auch durch Präeklampsie bedingte Frühgeburten helfen zu vermeiden.

1.2.4.5 Cholin in der Stillzeit

In der Schwangerschaft ist die Plazenta in der Lage, große Mengen an Cholin und Acetylcholin zu speichern. Die Brustdrüse wiederum kann Cholin in Form von Phospho- und Glycerophosphocholin speichern. [34] Diese Mechanismen sollen vermutlich eine adäquate Versorgung des Fötus mit Cholin sicherstellen. Zur Sicherstellung der Versorgung des Neugeborenen enthält die Muttermilch anfänglich ebenfalls ein hohes Maß an Cholin [70, 71], der Spiegel in der Muttermilch sinkt aber während der Stillphase ab und erreicht ungefähr 30 Tage postpartum eine Konzentration, die mit der in käuflicher Säuglingsnahrung vergleichbar ist. [70] Die Plasmaspiegel an freiem Cholin sind bei stillenden Müttern wesentlich höher als bei nichtstillenden Müttern oder nichtschwangeren Frauen. Dabei sind die Spiegel am 12-28. postpartalen Tag am höchsten: [72]

Kollektiv	Plasmaspiegel an freiem Cholin (µmol/l)
Nichtschwängere Kontrollen	10,6 +/- 0,6
Stillende Mütter	
0-2 d p.p.	14,7 +/- 1,0
12-28 d p.p.	19,2 +/- 0,9
75-90 d p.p.	18,0 +/- 0,6
165-180 d p.p.	16,2 +/- 0,7

Tabelle 2: Plasmacholinspiegel von Stillenden und Kontrollen
(entnommen aus [72]). Es handelt sich dabei um die Plasmaspiegel an freiem Cholin.

Auch die Cholinspiegel in der Muttermilch sind je nach Zeitpunkt in der Stillphase unterschiedlich. Der Cholingehalt der Muttermilch korreliert dabei positiv mit dem Plasmaspiegel der Mutter an freiem Cholin. [72] Dabei sind die Spiegel in den ersten 28 postpartalen Tagen am höchsten und fallen danach langsam ab. In Colostrum ist wesentlich weniger Cholin enthalten als in vollwertiger Muttermilch. Auch der Cholingehalt der unterschiedlichen Säuglingsanfangsnahrungen unterscheidet sich deutlich und variiert zwischen 50 und 140 % des Cholingehalts in Muttermilch. [19] Im Folgenden sind Cholingehalte türkischer Säuglingsnahrungen aufgeführt, da die Daten einer türkischen Studie [72] entnommen sind:

Probe	Gehalt an freiem Cholin (µmol/l)	Gesamtcholin (µmol/l)
Colostrum	132 +/- 21	676 +/- 35
Vollwertige Muttermilch		
12-28 d p.p.	299 +/- 36	1595 +/- 82
12-180 d p.p.	228 +/- 10	1476 +/- 48
165-180 d p.p.	132 +/- 15	1349 +/- 105
Säuglingsanfangsnahrung		
Aptamil-2 (Firma Milupa)	201 +/- 15	1173 +/- 103
Aptamil-3 (Firma Milupa)	43 +/- 2	311 +/- 18
SMA Plus (Firma Wyeth)	122 +/- 14	2270 +/- 174
Nutricia Nutrilon Soya (Firma Nutricia)	521 +/- 34	983 +/- 138

Tabelle 3: Cholingehalt von Muttermilch und Säuglingsnahrung
(entnommen aus [72]).

Die Europäische Fachgesellschaft für Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung ESPGHAN empfiehlt als Bestandteil von Formulanahrung 7-50 mg Cholin/100 kcal (Min-Max) Formulanahrung, [73]

1.2.5 Cholin beim Neu- und Frühgeborenen

Neugeborene und Frühgeborene werden mit Cholinplasmakonzentrationen geboren, die ca. 3 Mal höher sind, als die ihrer Mütter (32,2 µmol/l vs. 12,9 µmol/l) oder die von nichtschwangeren Frauen (16,9 µmol/l) [66, 74]. Die Cholinplasmaspiegel der Kinder bleiben bis zu einem Alter von 18 bis 24 Monaten erhöht (> 14 µmol/l) [72]. Diese erhöhten Cholinspiegel fördern die Aufnahme in das Gehirn und andere Gewebe. [44, 75] Die Fähigkeit des Gehirns, Cholin aus dem Blut aufzunehmen, ist in der Neonatalperiode am höchsten. [76] Die Plasmacholinkonzentration von stillenden Müttern ist ebenfalls um 50-100 % erhöht, um das Kind mit ausreichend Cholin zu versorgen [72]. Die Plasmaspiegel an freiem Cholin unterscheiden sich bei Frühgeborenen und reifen Neugeborenen kaum. Am höchsten sind die Spiegel am ersten und zweiten Lebenstag:

Patientenkollektiv	Alter	Plasmaspiegel an freiem Cholin (µmol/l)
Frühgeborene	0-2 d	33,3 +/- 2,9
Reife Neugeborene	0-2 d	35,1 +/- 1,1
	3-7 d	31,5 +/- 1,4
	8-14 d	26,7 +/- 1,2
	15-21 d	23,6 +/- 1,8
	22-28 d	24,2 +/- 1,6
	31-60 d	22,2 +/- 0,9
	331-365 d	16,3 +/- 0,9
Kinder	731-1095 d (2-3 a)	12,9 +/- 0,6
	2556-2920 d (7-8 a)	12,0 +/- 0,6
	4016-4380 (11-12 a)	10,9 +/- 0,6
Erwachsene	20-25 a	10,9 +/- 0,3

Tabelle 4: Cholinplasmaspiegel nach Alter
Plasmaspiegel an freiem Cholin bei Früh- und reifen Neugeborenen, Kindern und Erwachsenen (entnommen aus [72]).

Der Plasmaspiegel der Kinder an freiem Cholin korreliert positiv mit dem Gehalt an freiem und Gesamtcholin in der Muttermilch. [72] Dabei unterscheiden sich die Cholinspiegel der Kinder in Abhängigkeit von der Ernährungsform:

Kollektiv	Plasmaspiegel an freiem Cholin (µmol/l)
Säuglinge mit Säuglingsanfangsnahrung (30-150 d p.p.)	10,8 +/- 0,7
Gestillte Kinder	
12-28 d p.p.	27,1 +/- 1,8
75-90 d p.p.	21,8 +/- 2,2
165-180	17,3 +/- 0,3

Tabelle 5: Cholinplasmaspiegel nach Nahrung (entnommen aus [72]).

Gestillte Kinder haben in den ersten Lebensmonaten deutlich höhere Plasmaspiegel an freiem Cholin als Kinder, die Säuglingsanfangsnahrung erhalten. [72] Die Serumcholinspiegel sind bei vollgestillten Säuglingen bis zu doppelt so hoch wie bei Kindern, die industrielle Säuglingsnahrung erhalten (21,8 µmol/l im Altern von 75-90 Tagen vs. 10,8 µmol/l im Alter von 30-120 Tagen in einer Studie von Icol 2005). Da bekannt ist, dass z.B. der Transport von Cholin über die Blut-Hirn-Schranke mit der Plasmacholinkonzentration zusammenhängt [77], könnte sich ein hoher Plasmacholinspiegel beim Kind positiv auf die neurokognitive Entwicklung auswirken. Der Plasmacholinspiegel des Kindes lässt sich wiederum über die Cholinaufnahme der Mutter steuern: Bei Ratten konnte eine Veränderung des Cholingehalts der Muttermilch je nach Änderung der Cholinzufuhr bei der Mutter beobachtet werden. [78] Auch beim Menschen ist der Cholingehalt in der Muttermilch bei Frauen mit einer cholinreichen Ernährung deutlich höher als bei Frauen mit einer cholinarmen Ernährung. [34]

Das Food and Nutrition Board des Institute of Medicine empfiehlt für Neugeborene und Säuglinge von 0-6 Monaten eine tägliche Aufnahme von 125 mg oder auch 18 mg/kg Cholin [79]:

Alter/Geschlecht	Empfohlene Cholinmenge (mg/d)	Mittleres Körpergewicht (kg) [80]	Empfohlene gewichtsbezogene Cholinmenge (mg/kg)
0-6 Monate	125	6,12 mit 3 Monaten	18
6-12 Monate	150	9,51 mit 9 Monaten	17
1-3 Jahre	200	13,46 mit 2 Jahren	14,86
4-8 Jahre	250	21,81 mit 6 Jahren	11,46
9-13 Jahre	375	36,56 mit 11 Jahren	10,26
14-18 Jahre	550	65,94 mit 16 Jahren	8,34
Schwangere	450		
Stillende	550		
Frauen	425		
Männer	550		

Tabelle 6: Empfohlene tägliche Zufuhr an Cholin.

Quelle: Tabelle 1 aus [79] und [81]. Die gewichtsbezogene Cholinmenge berechnet sich aus der vom Food and Nutrition Board empfohlenen täglichen Cholinzufuhr geteilt durch das Durchschnittsgewicht in einer Altersklasse (Gewichtsdaten entnommen aus [80]).

1.2.6 Cholin in der Ernährung Frühgeborener

Es ist bekannt, dass Cholin in der Entwicklung des ungeborenen und des neugeborenen Kindes eine wichtige Rolle spielt. Seiner Rolle in der Ernährung von Frühgeborenen ist jedoch erst in letzter Zeit, und bisher verhältnismäßig wenig, Aufmerksamkeit gewidmet worden. [81] Ebenso gibt es noch keine allgemeingültige Empfehlung zur angemessenen täglichen Aufnahme von Cholin (Adequate Intake, AI) beim Frühgeborenen. Bernhard et al. entwickelten 2013 im Rahmen einer Studie eine gewichtsabhängige Funktion, anhand derer auch für Extremfrühgeborene unterschiedlicher Gewichtsklassen ein AI abgeschätzt werden kann, und orientierten sich dabei an den Empfehlungen des Institute of Medicine der National Academy of Sciences für Säuglinge, Kinder und Erwachsene [81].

Für die Entwicklung ihrer Empfehlungen hatte sich die NAS ihrerseits am Cholingehalt in Muttermilch für 0-6 Monate alte Säuglinge und an der notwendigen Cholinzufuhr bei Erwachsenen, um einen Anstieg der GPT (=ALT) im Serum als Zeichen einer Leberschädigung zu vermeiden, orientiert, sowie

Hochrechnungen durchgeführt nach der Formel $AI_{\text{child}} = AI_{\text{adult}} \times F$, wobei $F = (\text{weight}_{\text{child}} / \text{weight}_{\text{adult}})^{0,75} \times (1 + \text{Wachstumsfaktor})$ ist.

In der Studie von Bernhard et al. wurden diese Daten nun zur Entwicklung einer logarithmischen Funktion mit den durchschnittlichen altersbezogenen postnatalen Gewichten durchschnittlicher westeuropäischer Populationen kombiniert. Für die Berechnung der Werte für Frühgeborene wurde jeweils mit den Geburtsgewichten gerechnet. [81] Damit kann nun gewichtsabhängig die adäquate Zufuhr an Cholin für Frühgeborene abgeschätzt werden.

1.3 Die Ernährung Frühgeborener

1.3.1 Grundlagen

Im Vergleich zu reifen Neugeborenen verfügen Frühgeborene nach ihrer Geburt nur über geringe Nahrungsreserven, wie ein geringes subkutanes Fettgewebe und geringe Glykogenreserven in der Leber. Da sie einen hohen Nährstoffbedarf haben, besteht ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Hypoglykämie und für eine Wachstumsverzögerung. [4] Besonders bei extrem frühgeborenen Kindern tritt eine frühe Wachstumsverzögerung sehr häufig auf, so auch bei ungefähr 50% der Frühchen, die vor der 26.SSW geboren werden. Diese Wachstumsverzögerung kann sich auf die neurokognitive und die motorische Entwicklung negativ auswirken und sollte deshalb in jedem Fall vermieden werden. [82, 83] Ziel der Ernährung des Frühgeborenen sollte immer ein Wachstum parallel zu den intrauterinen Wachstumskurven sein. [4] Deshalb sollten laut den Ernährungsleitlinien der DGEM (Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin) alle Frühgeborenen <35 vollendete SSW einen Nahrungsaufbau unter Anwendung von (Teil-) Parenteraler Ernährung erhalten [4].

Studien, die die große Bedeutung des Wachstums für die neurokognitive Entwicklung unterstreichen, sind zahlreich und beinhalten zum Beispiel folgende: Ehrenkranz et al. berichteten 2006, dass eine größere Kopfumfangszunahme und eine höhere Gewichtszunahme von der Geburt bis zur Entlassung mit einem selteneren Auftreten von Zerebralpareesen und

unterdurchschnittlicher geistiger Entwicklung verbunden sind. [82] In einer weiteren Studie konnte in einer Kohorte mit Extremfrühgeborenen gezeigt werden, dass eine hohe Energie- und Proteinzufuhr in der ersten Lebenswoche mit einem signifikant höheren MDI (Mental Development Index) auf den Bayley Scales of Infant Development im Alter von 18 Monaten vergesellschaftet ist (4,2 Punkte pro 42 kcal/kg/d mehr an Energiezufuhr, sowie 8,2 Punkte pro Gramm Protein/kg/d mehr an Proteinzufuhr). [84] Franz et al. beobachteten 2009, dass in einer Gruppe von ehemaligen Extremfrühgeborenen eine höhere Gewichts- und Kopfumfangszunahme zwischen Geburt und Entlassung mit einem verringerten Risiko für neurokognitive Auffälligkeiten im Alter von 5 Jahren verbunden war. Ein aufholendes Wachstum des Kopfumfangs von der Geburt bis zur Entlassung war ebenso mit einem verringerten Risiko für eine eingeschränkte Mobilität des Kindes verbunden. [85]

1.3.2 Empfehlungen der DGEM

1.3.2.1 Parenterale Ernährung

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin (DGEM) empfahl 2007 für Frühgeborene eine Zufuhr von 110-120 kcal/kg/d an Gesamtenergie. Außerdem wurde eine Zufuhr von je 1 g/kg/d an Aminosäuren und Fetten ab dem ersten Lebenstag empfohlen. Im Verlauf der ersten Lebenstage wurde eine Steigerung der Aminosäurezufuhr auf 2,5-4 g/kg/d und der Fettzufuhr auf 3,5 g/kg/d empfohlen. An Glukose werden täglich ca. 10 g/kg KG/Tag (7-16 g/kg/Tag) zugeführt [4]. Die Flüssigkeitszufuhr startete bei Frühgeborenen < 1000 g Geburtsgewicht bei 90 ml/kg/d und sollte täglich um 20 ml/kg gesteigert werden, bis eine Gesamtmenge von mindestens 160 ml/kg/d erreicht wurde. [4]

1.3.2.2 Enterale Ernährung

Für Frühgeborene > 1500 g GG wurde ein Beginn der enteralen Nahrung mit kleinen Mengen bereits am ersten Lebenstag empfohlen. Für Kinder mit geringerem Geburtsgewicht (< 1000 g und < 1500 g) wurde eine Verabreichung von Minimaler Enteraler Nahrung (MEN) spätestens ab dem 2. Lebenstag empfohlen (z.B. 12 x 0,5 ml Muttermilch). Diese Minimale Enterale Nahrung soll

die Toleranz des Frühgeborenenendarms unter TPE gegenüber Nahrung fördern (MEN verbessert die Perfusion, mikrobielle Flora und Motilität des Darms, die Sezernierung von gastrointestinalen Hormonen sowie die Aktivität der dortigen Enzyme). [86] In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2000 konnte gezeigt werden, dass durch MEN eine signifikante Reduktion der Krankenhausverweildauer und der Zeit bis zum kompletten Aufbau der enteralen Ernährung erreicht werden konnte. [87]

1.3.3 Praxis in Tübingen

Die Ernährung der Frühgeborenen in der Abteilung für Neonatologie der Universitätsklinik Tübingen folgt einem standardisierten Protokoll, wobei im Folgenden das Protokoll für die Jahre 2006/2007 beschrieben wird. Die teilparenterale Nahrung wurde direkt nach Geburt mit einer Gesamtflüssigkeitszufuhr von 70-90 ml/kg/d begonnen und täglich um 20 ml/kg/d gesteigert. Bei Erreichen einer enteralen Nahrungsmenge von 140 ml/kg/d wurde die parenterale Nahrung beendet. Die Aminosäurezufuhr betrug am ersten Tag 2,5 g/kg und wurde täglich in 0,5g-Schritten auf 4g/kg/d gesteigert. Fett wurde parenteral nur dann ab dem 3. Lebenstag zugeführt, wenn die enterale Nahrung nicht ausreichend gesteigert werden konnte. Die enterale Nahrung wurde am ersten Lebenstag mit 10-15 ml/kg/d an Muttermilch oder Beba Frühgeborenenennahrung begonnen und bei guter Verträglichkeit täglich um 15-20 ml/kg/d gesteigert. Magenreste von 1-2 ml oder <30% der geplanten Nahrungsmenge wurden toleriert, solange das Abdomen klinisch unauffällig blieb.

1.4 Das Ziel dieser Arbeit

Obwohl schon viele Studien zur Ernährung Frühgeborener durchgeführt wurden und es ein gut erforschtes Feld ist, gibt es immer noch einige Frühgeborene, die sich trotz vermeintlich optimaler teilparenteraler und enteraler Ernährung suboptimal entwickeln, vor allem im Hinblick auf die spätere neurokognitive und motorische Leistungsfähigkeit. Deshalb liegt die Vermutung nahe, dass es während der Spätschwangerschaft und der frühen Neonatalzeit einen Zeitraum geben muss, während dem eine Minderversorgung mit bestimmten Nährstoffen eine verschlechterte neurologische Langzeitentwicklung nach sich ziehen kann. Für einige Stoffe wie Cholin gibt es, obwohl man bereits davon ausgeht, dass sie essentiell für die neurologische Entwicklung der Frühgeborenen sind, noch keine ausreichenden Kenntnisse über den Versorgungsstatus oder mögliche Mangelerscheinungen durch Minderversorgung. In unserer Studie wollen wir überprüfen, ob und ab welcher Nährstoffmenge die Versorgung von Frühgeborenen mit < 1000 g Geburtsgewicht oder < 28 . SSW Gestationsalter mit Cholin die neurokognitive Entwicklung im Alter von 2 Jahren beeinflusst. Dazu haben wir bei einer Kohorte von 96 Kindern die tatsächliche Versorgung mit Cholin während ihres Klinikaufenthalts von der Geburt bis zu ihrer Entlassung ermittelt und diese Daten mit den Ergebnissen einer Untersuchung ihrer neurokognitiven Entwicklung im Alter von zwei Jahren, die durch ein sozialpädiatrisches Zentrum erhoben wurde, verglichen. Wir vermuteten, dass zwischen der Menge an zugeführtem Cholin und der neurokognitiven Entwicklung der Kinder eine positive Korrelation besteht: Umso mehr Cholin die Kinder erhalten hatten, desto besser sollte nach unserer Erwartung die neurokognitive Entwicklung sein. Ziel dieser Arbeit ist es, diese Hypothese zu prüfen.

2 Patienten und Methoden

2.1 Allgemeines

Die vorliegende Untersuchung ist Teil einer prospektiven Ernährungsstudie der Universität Tübingen (Kurztitel der klinischen Studie NEO-CHOLIN), die sich mit der Versorgung Neu- bzw. Frühgeborener mit Cholin, Membranfetten und Vitaminen auseinandersetzt, und die die Optimierung der Versorgung Frühgeborener mit entwicklungsrelevanten, essentiellen Nährstoffen zum Ziel hat. Der Kenntnisstand zum Versorgungsstatus Frühgeborener mit diesen Nährstoffen ist aktuell teilweise noch sehr gering.

Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war die schriftliche Einwilligung der entbindenden Mutter, bzw. ggf. zusätzlich ihres Vormundes. Für diese Art der retrospektiven beobachtenden Studie zum Zweck der Qualitätsicherung bedarf es in Deutschland keiner Genehmigung durch die Ethik-Kommission.

2.2 Patientenkollektiv

Untersucht wurde eine Kohorte von 96 Frühgeborenen, die zwischen dem 01.01.2006 und dem 31.12.2007 in Tübingen zur Welt gekommen waren, die auf der neonatologischen Intensivstation der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen (Perinatalzentrum Level 1 nach GBA) behandelt wurden, und die darüber hinaus bei Geburt ein Gestationsalter von weniger als 28 vollendeten Schwangerschaftswochen, oder ein Körpergewicht von weniger als 1000 Gramm, aufwiesen.

3 der 96 untersuchten Kinder, die innerhalb der ersten 72 Stunden nach Geburt verstarben, wurden nachträglich aus den Untersuchungen ausgeschlossen. 4 weitere Kinder verstarben innerhalb der ersten 27 Lebenstage. Die Daten zur Ernährung dieser Kinder während ihres stationären Aufenthalts wurden in die Studie mit eingeschlossen, jedoch flossen die Daten dieser Kinder nicht in die Auswertung zur neurokognitiven Entwicklung mit ein.

2.3 Interne Ernährungsleitlinien

2.3.1 Parenterale Ernährung

Glukose- (Beginn mit 6-7 g/kg/d) und Aminosäurelösungen (Beginn mit 2,5 g/kg/d) wurden ab dem 1. Lebenstag intravenös verabreicht. Im Falle eines unzureichenden Aufbaus der enteralen Nahrung bis zum 3. Lebenstag wurde am 3. Lebenstag mit der parenteralen Zufuhr von Fett (20 %-ige Fettemulsion) und fettlöslichen Vitaminemulsionen (mindestens 4 ml/kg/d) begonnen. Lag beim Frühgeborenen eine schwere Entzündungsreaktion vor (z.B. Sepsis, NEC), so wurde die Fettzufuhr reduziert oder pausiert. Dieses Regime wurde im gesamten 2-Jahreszeitraum der Studie nicht verändert. [81]

2.3.2 Enterale Ernährung

Im Rahmen der Studie wurde am 1. Lebenstag mit der enteralen Ernährung (Muttermilch oder Frühgeborenenformulanahrung) mit einer Zufuhr von 10-15 ml/kg/d begonnen und auf 15-20 ml/kg/d gesteigert. Abgepumpte Muttermilch wurde mittels Magensonde oder Flasche gefüttert. In den letzten beiden Wochen vor Entlassung wurde mit dem Stillen begonnen. Hier ermittelte man die aufgenommene Muttermilchmenge, indem das Kind vor und nach dem Stillen gewogen, und die Gewichte voneinander subtrahiert wurden. Sobald eine Steigerung der Nahrungsmenge auf 150 ml/kg/d möglich war, wurde zur Optimierung des Nährstoffgehalts mit einer Anreicherung der Muttermilch mit Fortifiern begonnen.

2.4 Datenerhebung und Datenbeschreibung

Die Daten zur Beschreibung des Patientenkollektivs wurden retrospektiv aus dem Computerprogramm Neodat der Abteilung für Neonatologie der Universitätskinderklinik Tübingen sowie aus Entlassbriefen derselben Abteilung erhoben.

Alle Daten zur Ernährung der Frühgeborenen stammen aus den Patientenakten der Abteilung für Neonatologie, sowie aus der dort verwendeten Medipäd-Datenbank.

Zur Überprüfung der Versorgung der in diese Untersuchung eingeschlossenen Frühgeborenen mit Cholin wurden retrospektiv exakte Ernährungsprotokolle der Kinder erstellt.

Im Rahmen der Nachuntersuchung im Alter von durchschnittlich 22,2 Monaten (SDS \pm 3,2 Monate) wurden in der Entwicklungsneurologischen Abteilung der Universitätskinderklinik Tübingen die neurokognitive Entwicklung anhand des mentalen Entwicklungsindex (MDI) der Bayley Scales of Infant and Toddler Development (2nd Edition, BSID-II), sowie die psychomotorische Entwicklung anhand des Gross Motor Function Classification Systems (GMFCS) und der Motorischen Skala der BSID (Grobmotorik und Feinmotorik) beurteilt.

2.4.1 Neonatologische Daten

Zu den im Rahmen dieser Untersuchung erhobenen relevanten neonatologischen Daten gehören:

2.4.1.1 Informationen zur Schwangerschaft:

Behandlung der Mutter mit antenatalen Steroiden (Dexamethason zur Induktion der Lungenreife beim Frühgeborenen): Die Mutter erhält bei drohender Frühgeburt in einem Zyklus zwei Mal eine Injektion von je 12 mg Dexamethason i.m., die im Abstand von 24 Stunden verabreicht werden. Diese antenatale Steroidgabe soll der Entwicklung eines Atemnotsyndroms des Frühgeborenen vorbeugen, und vermindert nachweislich die neonatale Morbidität und Mortalität. Mehrfach wiederholte Gaben sind nicht mehr zu empfehlen, da sie das intrauterine Wachstum des Kindes hemmen. [88]

Schwangerschaftsrisiken: Aus den Patientenakten wurden individuelle Krankheitsdiagnosen der Mütter ermittelt, wie ein Gestationsdiabetes (GDM), ein Diabetes mellitus, eine Präeklampsie, eine Schwangerschaftsinduzierte Hypertonie (SIH), ein HELLP-Syndrom oder eine intrauterine Wachstumsretardierung (intrauterine growth restriction, IUGR) des Kindes.

2.4.1.2 Globale klinische Parameter des Kindes (aus Neodat):

- Geburtsdatum
- Gestationsalter (in Wochen + Tagen p.c.)
- Geschlecht
- Körpergewicht, Körperlänge und frontookzipitaler Kopfumfang bei Geburt (jeweils mit Perzentilen)
- Tägliches Gewicht bis Lebenstag 28, danach wöchentlich bis zur Entlassung (Tag 35, 42, 49, ...)
- Alter bei Entlassung
- Gewicht, Länge und Kopfumfang bei Entlassung

Zu den anthropometrischen Daten wurde jeweils auch die Einordnung in Perzentilen vorgenommen. Des Weiteren wurden die anthropometrischen Daten als SD-Scores angegeben. Als Referenzen für Körpergewicht, Körperlänge und Kopfumfang bei Geburt wurden die Referenzen nach Niklasson et al. verwendet. [80]

2.4.1.3 Krankheitsdiagnosen und spezifische klinische Parameter des Kindes:

Intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH): Eine Hämorrhagie des Gehirns tritt in Deutschland bei ca. 20-30 % der Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von < 32. SSW auf. Ursächlich können unter anderem eine schwere intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR), eine Hypoxie sowie eine Hypokapnie bzw. eine hohe Differenz zwischen den minimalen und maximalen arteriellen CO₂-Werten [89] oder ein postnataler Transport in den ersten Lebenstagen sein. [90, 91] Weitere Risikofaktoren sind ein niedriges Gestationsalter, keine pränatale Steroidgabe, ein Amnioninfektionssyndrom und die Gabe von Vasopressoren oder eine Pufferung am ersten Lebenstag. [92] Die Einteilung erfolgte sonographisch nach Volpe (IVH Grad I-III). [93]

Periventrikuläre Leukomalazie (PVL): Pathologisch-anatomisch zeichnet sich die PVL durch nekrotische Veränderungen der periventrikulären weißen Substanz aus. Sie ist die am häufigsten auftretende hypoxisch-ischämische Hirnschädigung des Neugeborenen und spielt eine wichtige Rolle bei der

Entstehung einer chronischen neurologischen Schädigung des Frühgeborenen. [94] Ursächlich können eine intrauterine Hypoxie, ein vorzeitiger Blasensprung, eine Präeklampsie, eine postnatale Hypokapnie [95] und eine Sauerstoffexposition mit erhöhtem Partialdruck sein. [96]

Retinopathie des Frühgeborenen: Die Retinopathia praematurorum (ROP) ist eine vasoproliferative Erkrankung der Netzhaut. Sie tritt bei 16 % aller Frühgeborenen auf, die vor der 28. SSW geboren werden, sowie bei 8 % aller Kinder mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1250 g. [97] Wichtigste Ursache der ROP ist die Frühgeburtlichkeit. Eine bedeutende Rolle spielen außerdem eine hyperoxische Beatmung, hypoxisch-hyperoxische Schwankungen, Apnoeanfälle, und vermindertes postnatales Wachstum. [98-100] Die Frühgeborenenretinopathie wird nach der ICROP (Internationale Klassifikation der ROP, 1984) in 5 Stadien eingeteilt (ROP Stadium 1-5). [101]

CRIB-Score: Clinical risk index for babies. Instrument zur Ermittlung des initialen Mortalitätsrisikos eines Neugeborenen in Abhängigkeit von der Leistungsfähigkeit des betreuenden Krankenhauses. [102]

Nekrotisierende Enterokolitis (NEC): Die NEC tritt vor allem bei sehr unreifen Frühgeborenen (Geburtsgewicht < 1500 g) auf. Es sind ungefähr 7-14 % der VLBW-Frühgeborenen betroffen, 33-50 % der betroffenen Patienten benötigen eine operative Therapie. [103, 104] Histopathologisch zeichnet sich die NEC durch einen Mukosaschaden des Darms mit submuköser Gasansammlung (Pneumatosis intestinalis) sowie transmuraler Gangrän aus. [105] Ursächlich ist meist eine Kombination aus intestinaler Ischämie, verminderter lokaler Abwehr und Besiedlung mit pathogenen Bakterien. [106] Die Einteilung erfolgt nach der Bell-Klassifikation in die Stadien Ia – IIIb. [107] Wir erfassten die NEC ab Stadium IIa und ob die NEC operativ angegangen werden musste.

Beatmung: Gesamtdauer in Tagen, CPAP-Bedarf in Tagen, Sauerstoff-Bedarf in Tagen.

Ernährung und Ausscheidungen: 1. Lebenstag mit Übergangsstuhl, letzter Lebenstag mit Mekonium, letzter Tag mit Teilsondierung von Nahrung.

2.4.2 Daten zur Ernährung der Frühgeborenen

2.4.2.1 Parenterale Ernährung (aus Medipäd-Datenbank, jeweils von 14 Uhr bis 14 Uhr des Folgetages)

- Aminoven Infant 10% (Fresenius Kabi, Deutschland) in g/kg KG/d
- Vitalipid Infant (Baxter, Deutschland) in ml absolut/d
- Clinoleic (Baxter, Deutschland) in ml absolut/d
- Soluvit (Fresenius Kabi, Schweden) in ml absolut/d
- Glukose in g/kg KG/d
- Fett in g absolut/d

2.4.2.2 Enterale Ernährung (Erfassung aus den handschriftlichen Patientenakten, jeweils von 14 Uhr bis 14 Uhr des Folgetages)

- Gefütterte Menge an Muttermilch in ml/d
- Gefütterte Menge an Beba FN (Beba Frühgeborenenennahrung der Firma Nestlé) in ml/d
- Gefütterte Menge an FM 85 (Beba FM 85 der Firma Nestlé) in g/d
- Gefütterte Menge an Glukolyt (der Humana GmbH, Herford) und Tween
- Andere Nahrung, wie beispielsweise MCT Speiseöl

Bei der Erfassung der enteralen Ernährung wurde sowohl die Stillmenge als auch die durch Sondierung (durch die Kinderkrankenschwestern oder die Eltern durchgeführt) aufgenommene Nahrungsmenge berücksichtigt. Bei Erbrechen wurde die entsprechende Menge von der Zufuhr abgezogen, oder eine Rücksondierung gegebenenfalls berücksichtigt. War aus den Akten nicht ersichtlich, ob am jeweiligen Tag Muttermilch oder BebaFN gegeben worden war, wurde ein Mittelwert errechnet.

2.4.3 Entlassdaten

- Alter bei Entlassung (Gestationsalter in Wochen und Tagen am Entlasstag)
- Körperlänge bei Entlassung
- Körpergewicht bei Entlassung
- Frontookzipitaler Kopfumfang bei Entlassung

Auch die anthropometrischen Werte bei Entlassung wurden als SD-Scores angegeben.

2.4.4 Nachuntersuchungsdaten

Aufgrund des erhöhten Risikos von Extremfrühgeborenen, im Verlauf neurologische Auffälligkeiten zu entwickeln, die förderungs- oder behandlungsbedürftig sein können, werden die Kinder nach Entlassung aus der Neonatologie in regelmäßigen Abständen in einem Sozialpädiatrischen Zentrum zur Verlaufskontrolle vorgestellt. So wurden auch die Kinder unserer Studie im korrigierten Alter von ca. 2 Jahren von erfahrenen Neuropädiatern sowie Physiotherapeuten im Sozialpädiatrischen Zentrum der Abteilung für Neuropädiatrie, Sozialpädiatrie und Entwicklungsneurologie der Universitätskinderklinik Tübingen untersucht. Die Untersucher waren für die tatsächliche Versorgung der Kinder mit Cholin geblindet. Dabei wurden erneut die anthropometrischen Daten (Körpergewicht, Körperlänge, Kopfumfang) in Form der SD-Scores erhoben, sowie folgende Daten:

2.4.4.1 Vorliegen einer Cerebralparese und Klassifikation

Bei der infantilen Cerebralparese existieren eine Vielzahl an Definitionen und Klassifikationen (unter anderem Bax 1964, Michaelis und Edebol-Tysk 1989, Hagberg und Hagberg 1993). Bax definierte 1964 die Cerebralparese als „Bewegungs- und Haltungsstörung aufgrund eines Defekts oder einer Läsion des unreifen Gehirns“. [108, 109] Bis heute konnte keine allgemeingültige und international allseitig ohne Vorbehalte akzeptierte Definition gefunden werden. Dies verdeutlicht die Komplexität des Krankheitsbildes. Eine sehr umfassende und zutreffende Definition ist jedoch z.B. die 1989 von Michaelis und Edebol-Tysk veröffentlichte: „Cerebralparesen sind bleibende, nicht progrediente, jedoch im Erscheinungsbild sich ändernde Störungen der Haltung und Bewegung, mit mehr oder weniger starker Beeinträchtigung auch der kognitiven und sprachlichen Entwicklung. Das sich entwickelnde Gehirn ist durch pränatale, natale, neonatale schädigende Faktoren in seiner Funktion beeinträchtigt und morphologisch alteriert worden“. [110, 111] Die Einteilung der

Cerebralparesen bei den Kindern unserer Studie orientiert sich an der Klassifikation nach Hagberg (mit Tübinger Modifikation zur BS-CP) [112-114]:

- Spastische Cerebralparese
 - Spastische Hemiplegie / -parese
 - Bilaterale spastische CP
 - Beinbetont (Diplegie, Beine stärker betroffen als die Arme)
 - Komplett (Tetraplegie / -parese, Arme stärker betroffen als die Beine)
- Dyskinetische Cerebralparese
 - Vorwiegend dyston
 - Vorwiegend athetoid
- Ataktische Cerebralparese
 - Non-progressive kongenitale zerebelläre Ataxie

Bei der Beurteilung der im Rahmen unserer Studie untersuchten Kinder im Hinblick auf eine Cerebralparese wurde zunächst die CP-Sicherheit abgeschätzt. Danach wurde beim Vorliegen einer Cerebralparese ein Wert von 1 bis 7 für die Beschreibung des Typen der Cerebralparese vergeben:

Wert	CP-Sicherheit	Typ der CP
1	Keine CP	Keine CP
2	Verdacht auf CP	Unilateral spastische CP
3	Sicherer Befund einer CP	Bilateral spastische CP
4		Dyskinetisch-dystone CP
5		Dyskinetisch-athetoide CP
6		Ataktische CP
7		Nicht einzuordnen

Tabelle 7: Klassifikation der Cerebralparese.

2.4.4.2 GMFCS

Das Gross Motor Function Classification System ist eine 5-Stufen-Klassifikation von Palisano et al. aus dem Jahre 2000 zur Beurteilung der motorischen Beeinträchtigung von Kindern mit einer Zerebralparese. [115] Die Einteilung erfolgt anhand der funktionellen Einschränkungen, dem Gebrauch von Gehhilfen (Unterarmstützen, Gehstöcken oder Rollator) oder von mobilen Hilfsmitteln (Rollstuhl). Dabei ist die gewöhnliche Leistung im Alltagsmaßgebend, und nicht die bestmögliche Fähigkeit, die ein Kind erreichen kann. Bei Kindern im Alter von 0-2 Jahren wird die Einteilung anhand folgender Kriterien vorgenommen [116]:

Stufe des GMFCS	Fähigkeiten des untersuchten Kindes
Stufe I	Freies Sitzen ohne Abstützen Freies Gehen im Alter von 18-24 Lebensmonaten
Stufe II	Freies Sitzen, evtl. mit Abstützen Robben oder Krabbeln, evtl. Entlanggehen an Möbeln
Stufe III	Sitzen auf dem Boden mit Stützung der LWS möglich Rollen und Robben
Stufe IV	Beim Sitzen auf dem Boden Rumpfunterstützung notwendig Kopfkontrolle vorhanden Drehen von Bauch- in Rückenlage möglich
Stufe V	Weder im Sitzen noch in Rückenlage ist ein Anheben des Kopfes entgegen der Schwerkraft möglich Zum Drehen ist eine Hilfestellung notwendig

Tabelle 8: GMFCS nach Fähigkeiten im Alter von 0-2 Jahren nach Palisano. [115, 116]

Bei Kindern im Alter von 2-4 Jahren wird die Einteilung anhand folgender Kriterien vorgenommen:

Stufe des GMFCS	Fähigkeiten des untersuchten Kindes
Stufe I	Freies Sitzen, beide Hände frei zum Hantieren oder Spielen Bevorzugte Fortbewegungsart: freies Gehen ohne Gehhilfe
Stufe II	Freies Sitzen, evtl. Gleichgewichtsprobleme beim Hantieren mit einem Gegenstand im Sitzen Bevorzugte Fortbewegungsart: Gehen mit einem Hilfsmittel oder das Entlanggehen an Möbeln
Stufe III	Sitzen auf dem Boden häufig nur im W-Sitz Bevorzugte Fortbewegungsart: Robben oder Krabbeln Gehen mithilfe eines Rollators ist möglich
Stufe IV	Das Kind kommt nur mit Hilfe in eine Sitzstellung, muss sich mit beiden Händen dabei abstützen Bevorzugte Fortbewegungsart: Rollen, Robben oder Krabbeln über eine kurze Strecke
Stufe V	Funktionelle Einschränkungen im Stehen und im Sitzen, die auch mithilfe angepasster Hilfsmittel und unterstützender Technik nicht vollständig kompensiert werden können Eigenmobilität nur mittels E-Rollstuhl möglich

Tabelle 9: GMFCS nach Fähigkeiten im Alter von 2-4 Jahren nach Palisano. [115, 116]

2.4.4.3 Bayley Scales of Infant Development (BSID-II, 1993)

Bei den Bayley Scales of Infant and Toddler Development (BSID) handelt es sich um eine Testung, in welcher verschiedene entwicklungspsychologische Grundlagen integriert sind und mit deren Hilfe Entwicklungsverzögerungen im korrigierten Alter von bis zu 42 Monaten identifiziert werden können. In den BSID-II aus dem Jahre 1993, die bei der Nachuntersuchung unserer Kinder verwendet wurden, werden die drei Dimensionen Mental Scale (Gedächtnis, Problemlösungsfähigkeit, frühe Zahlenkonzepte, Lernfähigkeit, sprachliche und kommunikative Kompetenzen), Motor Scale (Grob- und Feinmotorik) sowie die Behaviour Rating Scale (Verhalten während der Untersuchung inklusive Aufmerksamkeitssteuerung und emotionaler Regulierung) erfasst. In der 3. Auflage der BSID aus dem Jahre 2006 wurde die Mental Scale in die Cognitive und Language Scale unterteilt, und die Behaviour Rating Scale in die Social-Emotional- und die Adaptive Behaviour-Scale. [117] Die Bearbeitungszeit des Tests hängt vom Alter und der Mitarbeit des zu untersuchenden Kindes ab und

beträgt ca. 45-60 Minuten. Die Testleistung wird in Entwicklungsindizes angegeben, die ähnlich Intelligenzquotienten eine verlaufsbezogene Interpretation und den Vergleich mit anderen Kindern desselben Alters ermöglichen [118-120]. Im Rahmen der Beurteilung anhand der BSID werden Absolutwerte zwischen 55 und 120 vergeben. Außerdem wurde auch hier jeweils der Standard Deviation Score errechnet.

2.4.4.4 Motorik

Im Rahmen der Beurteilung anhand der BSID wurden auch die grob- und feinmotorischen Leistungen der Patienten untersucht und die Befunde anhand folgender Tabelle unterteilt:

Wert	Bedeutung Grobmotorik	Bedeutung Feinmotorik
1	unauffällig	altersgerecht
2	verdächtig	akzeleriert
3	ungeschickt	verdächtig
4	retardiert ohne CP	retardiert > P90
5	CP	stark retardiert

Tabelle 10: Beurteilung der Motorik im Rahmen der BSID.

2.4.4.5 Visus und Hörgeräteversorgung

Des Weiteren wurde der Visus der Kinder beurteilt, und eine Hörgeräteversorgung überprüft.

Wert	Visus	Mit einem Hörgerät versorgt
1	normal ohne Korrektur	Ja
2	normal mit Korrektur	Nein
3	schwer beeinträchtigt	
4	peripher blind	

Tabelle 11: Visus und Hörgeräteversorgung

2.4.4.6 Gesamtbeurteilung

Abschließend wurde eine Beurteilung des Gesamtbefunds vorgenommen:

Wert	Befund
1	Altersgerecht
2	Akzeleriert
3	Verdächtig
4	retardiert / förderbedürftig
5	schwer auffällig / behindert

Tabelle 12: Gesamtbeurteilung.

2.5 Datenanalyse

2.5.1 Abschätzung der adäquaten Cholinzufuhr

Die Daten zur je nach Körpergewicht adäquaten Cholinzufuhr wurden der Veröffentlichung von Bernhard et al (2013, [81]) entnommen. Hier war der Cholinbedarf nach Altersklasse und Gewicht anhand von Empfehlungen aus der Literatur zur adäquaten Cholinzufuhr für Säuglinge, Kinder und Jugendliche im Alter von 0-18 Jahren berechnet worden. [81] Dabei orientierte man sich an Daten zum Cholingehalt in der Muttermilch für 0-6 Monate alte Neugeborene und Säuglinge, an der Cholinmenge, die notwendig ist, um beim Erwachsenen einen Anstieg der Alaninaminotransferase (ALT, früher GPT) zu vermeiden, und an einer kindsadaptierten Hochrechnung nach der Formel zur Berechnung der adäquaten Cholinzufuhr $AI_{\text{Kind}} = AI_{\text{Erwachsener}} \times F$ ($F = (\text{Körpergewicht}_{\text{Kind}} / \text{Körpergewicht}_{\text{Erwachsener}})^{0,75} \times (1 + \text{Wachstumsfaktor})$). [79, 81, 121]

Diese Daten wurden mit dem nach Alter gestaffelten durchschnittlichen Körpergewicht in einer westeuropäischen Population korreliert. [80] Daraus ergab sich eine logarithmische Funktion zum gewichtsangepassten Cholinbedarf, mit absteigendem Cholinbedarf bei zunehmendem Körpergewicht (siehe Ergebnisteil). Der Bedarf von Frühgeborenen wurde nach dem Geburtsgewicht berechnet.

2.5.2 Erfassung der tatsächlichen Nahrungszufuhr

Aus den mithilfe der Patientenakten und der Medipäd-Datenbank erhobenen Daten zur enteralen und parenteralen Ernährung der Patienten wurde die tägliche Zufuhr an folgenden Stoffen und Stoffklassen ermittelt:

Cholin	(in mg absolut und mg/kg KG)
Folsäure	(in µg absolut und µg/kg KG)
Methionin	(in mg absolut und mg/kg KG)
Inositol	(in mg absolut und mg/kg KG)
Eiweiß	(in g absolut und g/kg KG)
Fett	(in g absolut und g/kg KG)
Kohlenhydrate	(in g absolut und g/kg KG)

Zusätzlich wurde die tägliche Energiezufuhr absolut sowie auf das Körpergewicht bezogen, in kcal und kJ, berechnet:

Energie	(in kcal absolut und kcal/kg KG)
Energie	(in kJ absolut und kJ/kg KG)

Dazu wurde die folgende Tabelle verwendet:

	FGB-MM (/100 ml)	FGB-Formu- lana- nahrung (/100 ml)	Fortifier (/ 5 g)	AS- Lösung (/1 ml)	Lipid- emuls. (/1 ml)	Fettlös. Vitamin- emuls. (/1 ml)	Wasserlös. Vitamin-emuls. (/1 ml)	Glukose (/1 g)
Eiweiß (g)	1,41	2,3	1	0,1	0	0	0	0
Fett (g)	3,9	4,2	0,02	0	0,2	0,1	0	0
Kohlenhyd. (g)	6,6	8,6	0,515	0	0	0	0	1
Cholin (mg)	13,7	12,4	0,58	0	1,1	1,664	0	0
Methionin (mg)	30	50	23	4,3	0	0	0	0
Folsäure (µg)	4,3	56	50	0	0	0	40	0
Inositol (mg)	14,9	5,2	0	0	0	0	0	0
Energie (kcal)	67	80	18	0,41	1,9	0,95	0	4,1
Energie (kJ)	280	335	75	1,7	8	4	0	17

Tabelle 13: Nährstoffgehalte diverser Frühchenernährungskomponenten

In Tabelle 13 sind die Nährstoffgehalte von Muttermilch und Formulanahrung (nach [78] [122]), sowie parenteraler Nahrung nach Angaben der Hersteller (Aminovenös 10 %, Clinoleic 20 %, Vitalipid infant, Soluvit, Glukoselösung) aufgeführt. FGB=Frühgeborenen, MM=Muttermilch, AS=Aminosäuren.

Diese Daten wurden teilweise der Literatur zu Nährstoffgehalten von Makro- und Mikronährstoffen in Muttermilch entnommen [78, 122]. Zum anderen Teil entstammen sie den Angaben der Herstellerfirmen der oben genannten Frühgeborenenahrungen und -supplemente. Hierbei handelt es sich um folgende Produkte: die Frühgeborenen-Formulanahrung Beba FN®, den Muttermilch-Fortifier FM85 (beide Nestlé Nutrition, Frankfurt), die Aminosäurelösung Aminoven 10% (Fresenius Kabi, Bad Homburg), die Lipidemulsion Clinoleic 20 %, die fettlösliche Vitaminemulsion Vitalipid infant (beide Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim), die wasserlösliche Vitaminemulsion Soluvit (Fresenius Kabi, Bad Homburg) und Glukoselösung.

Es wurden für jeden Nährstoff jeweils die parenterale Zufuhr, sowie die enterale und die Gesamtzufuhr, berechnet. Diese Zufuhr wurde jeweils in „mg parenteral“, „mg parenteral/kg“, „mg enteral“, „mg enteral/kg“ und „mg gesamt“ sowie „mg gesamt/kg“ für jeden einzelnen Tag des stationären Aufenthalts innerhalb der ersten 4 Lebenswochen (Lebenstag 1-28) ermittelt und dokumentiert. Dauerte der stationäre Aufenthalt länger als 4 Wochen, beschränkten wir uns in der Folgezeit auf die wöchentliche Berechnung bis zum Tag der Entlassung (Tag 35, 42, 49, ...). Die tägliche Energiezufuhr wurde anhand des Energiegehalts der Makronährstoffe berechnet (17 kJ/g für Kohlenhydrate und Eiweiß, 39 kJ/g für Fett).

2.5.3 Korrelation der Ernährung mit der neurokognitiven Entwicklung

Um zu ermitteln, ob die Versorgung der Patienten mit Cholin in den ersten 4 Lebenswochen ihre neurokognitive Entwicklung beeinflusst, wurde zunächst für jedes Kind die mittlere Zufuhr an Cholin in mg/kg für den Zeitraum der ersten 28 Lebenstage errechnet und diese Zufuhr mit dem in der Nachuntersuchung ermittelten Mental Development Index (MDI) der BSID und dem Z-Score des Kopfumfangs bei Entlassung korreliert. Die mittlere Cholinzufuhr wurde auch hier parenteral, enteral sowie in der Gesamtsumme berechnet. Nur bei 48 der ursprünglich 93 Kinder (51,6% des Kollektivs) war nach durchschnittlich 2 Jahren in der Nachuntersuchung ein Bayley-Score erhoben

worden, weshalb nur die Daten dieser 48 Kinder in die Auswertung der neurokognitiven Entwicklung mit einfließen konnten.

Außerdem wurde die Cholinzufuhr zur Vervollständigung mit weiteren Größen des neurologischen Outcomes wie einer ROP, einer Cerebralparese und der Grob- und Feinmotorik in den BSID korreliert. Dazu wurde das Kollektiv je nach Cholinzufuhr in Gruppen mit geringer mittlerer Cholinzufuhr (< 20 mg/kg/d) und höherer mittlerer Cholinzufuhr (> 20 mg/kg/d) unterteilt.

2.5.3.1 Standard Deviation Score

Die anthropometrischen Daten wie Körpergewicht, Kopfumfang und Körperlänge sowohl bei Geburt, als auch bei Entlassung und zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung im Alter von 2 Jahren wurden als Standard Deviation Score (SDS) angegeben.

Beim Standard Deviation Score handelt es sich um die standardisierte Normabweichung. Sie gibt an, wie stark ein ermittelter Messwert vom Mittelwert einer bestimmten Größe abweicht. So können zum Beispiel Parameter wie das Körpergewicht, die Körpergröße oder der Kopfumfang in einem Patientenkollektiv unabhängig vom Geschlecht oder vom Alter der Patienten zuverlässig miteinander verglichen werden. Zur Berechnung der standardisierten Normabweichung wird vom tatsächlich ermittelten Messwert bei einem Patienten (x) der Mittelwert in der Referenzpopulation für das gleiche Geschlecht und Alter für diesen Messwert (xm) subtrahiert, und das Ergebnis schließlich durch die Standardabweichung des ermittelten Messwerts vom Durchschnitt der Messwerte in der Population dividiert (SD).

Zur Berechnung der standardisierten Normabweichung für das Körpergewicht lautet die Formel damit beispielsweise:

SDS (Gewicht) = $(x - x_m) / SD$, wobei

x = gemessenes, tatsächliches Körpergewicht,

x_m = durchschnittliches Körpergewicht in diesem Geschlecht und dieser Altersklasse,

SD = Standardabweichung des ermittelten Gewichts vom durchschnittlichen Gewicht. [123-126]

2.5.3.2 Perzentilen

Die für die einzelnen Patienten ermittelten Parameter für Körpergewicht, Körperlänge und Kopfumfang wurden bei der Geburt sowie bei der Entlassung zusätzlich als Perzentilen angegeben.

Die Perzentile gibt einen Wert einer empirischen Verteilungsfunktion an, der von einem gewissen Prozentsatz aller betrachteten Werte erreicht oder unterschritten wird. [126] So gibt beispielsweise die 3. Perzentile an, dass 3 % der Norm kleiner sind, und 97 % der Norm größer. [125]

2.6 Statistische Methoden

Die Auswertung der Daten erfolgte größtenteils nach den Methoden der deskriptiven Statistik. Aus den erhobenen Daten wurden Mittelwerte, Maxima, Minima, Mediane und die Standardabweichung errechnet. Diese Berechnungen und die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgten mithilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft Excel 2010 für Windows. Lineare Regressionsanalysen und Fisher's exact-Tests wurden mithilfe der Statistiksoftware Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, USA) berechnet. Die Verwaltung der Literatur wurde mittels EndNote durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Basisdaten des Patientenkollektivs

Von den initial 96 Patientinnen und Patienten wurden 93 in die Auswertung mit eingeschlossen. Die übrigen 3 Patienten waren bedauerlicherweise innerhalb der ersten 72 Lebensstunden verstorben. Die durchschnittliche Behandlungsdauer betrug 86,8 Tage (Standardabweichung 33,7 Tage, Minimum 7 Tage, Maximum 187 Tage).

Anzahl der ausgewerteten Patienten	93
GG: Mittelwert + Standardabweichung (SD) (g)	758 ± 202
GG: Median (g)	740
GA: Mittelwert + SD (SSW)	26,1 ± 2,2
Anzahl Mädchen/Jungen	51/42
Durchschnittl. Behandlungsdauer/Aufenthaltsdauer + SD (d)	86,8 ± 33,7
Durchschnittl. GA bei Entlassung von der NICU (+ SD, SSW)	38,4 ± 4

Tabelle 14: Basisdaten des Patientenkollektivs im Überblick

3.1.1 Verteilung nach Geschlecht

Im untersuchten Patientenkollektiv besteht ein leichter Überschuss an weiblichen Patientinnen. In die Untersuchung waren 51 Mädchen (55% des Gesamtkollektivs) und 42 Jungen (45%) eingeschlossen.

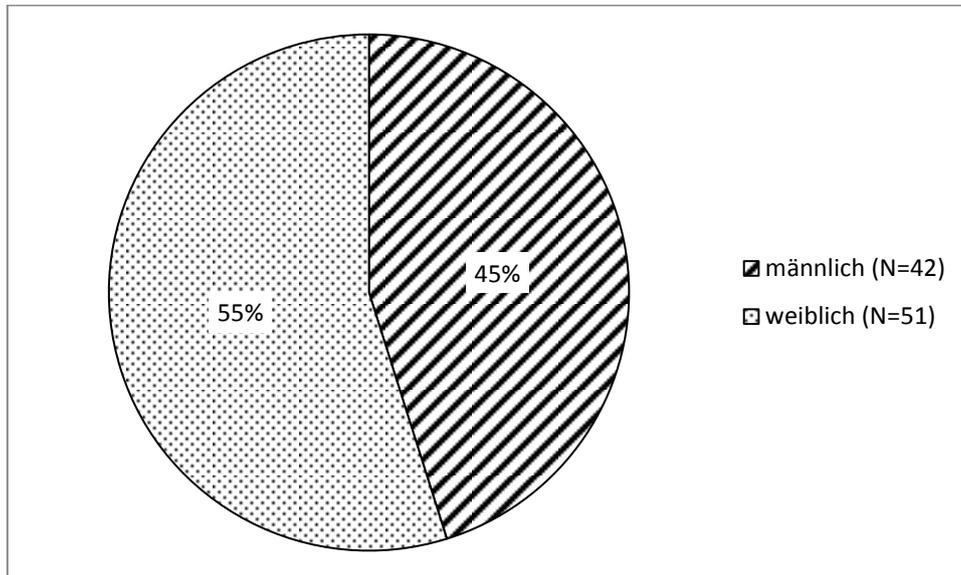


Abbildung 6: Geschlechterverteilung im Patientenkollektiv (N=93)

3.1.2 Verteilung nach vollendeter Schwangerschaftswoche

Das mittlere Gestationsalter bei Geburt beträgt in unserem Patientenkollektiv 26,1 SSW (Standardabweichung \pm 2,2 SSW; Minimum 23 vollendete SSW, Maximum 32 SSW). Unterteilt man die Patienten anhand der Schwangerschaftswoche, so wird die größte Gruppe durch jene Kinder gestellt, die zum Zeitpunkt der Geburt ein Alter von 24 vollendeten Schwangerschaftswochen hatten (N=18, 19% des Gesamtkollektivs). Ein weiterer großer Anteil entfällt auf die Kinder, die in der vollendeten 25., 26. und 27. SSW geboren wurden (N=15, 16 und 16; 16%, 17% und 17% des Gesamtkollektivs). Der Rest der Patienten verteilt sich auf die 23. (9%), sowie die 28.-32. SSW (insgesamt 22% des Gesamtkollektivs) bei Geburt.

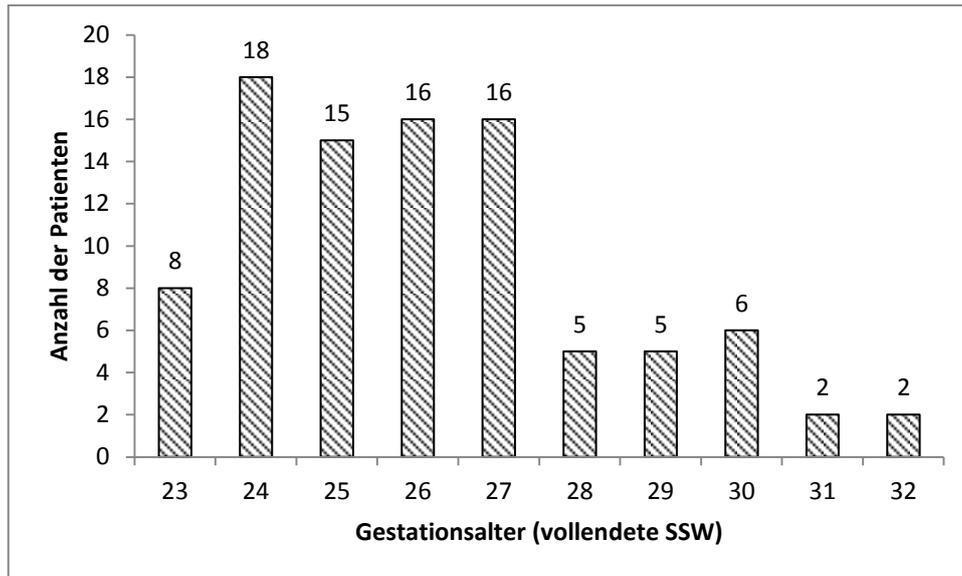


Abbildung 7: Verteilung nach Gestationsalter bei Geburt
 Das Gestationsalter ist in vollendeten Schwangerschaftswochen, die Anzahl der Patienten in absoluten Zahlen angegeben (N=93). Die Kinder wurden zwischen der vollendeten 23. und 32. Schwangerschaftswoche geboren.

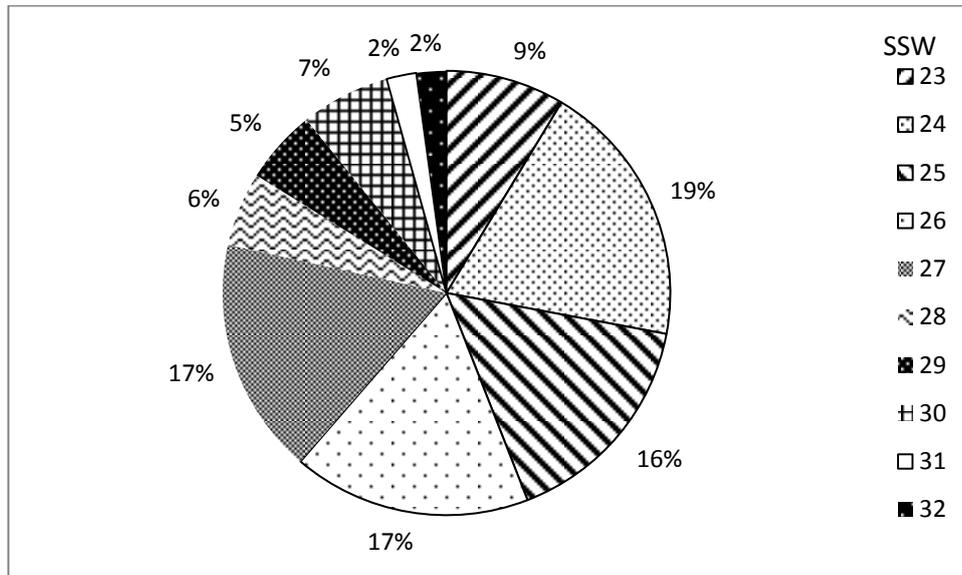


Abbildung 8: Relativer Anteil der Gestationsalter bei Geburt am Kollektiv
 Die größte Gruppe wird durch die Kinder gestellt, die in der vollendeten 24. SSW geboren wurden (19%). Die kleinste Gruppe stellen die Kinder aus der vollendeten 31. und 32. SSW (jeweils 2%).

3.1.3 Verteilung nach Geburtsgewicht

Aufgrund der extremen Unreife haben die in dieser Arbeit untersuchten Kinder erwartungsgemäß ein niedriges bis sehr niedriges Geburtsgewicht. Das mittlere Geburtsgewicht lag bei 758 g (Standardabweichung ± 202 g). 7 Kinder (8%) wogen bei Geburt weniger als 500 g (Minimum 290 g, Maximum in dieser Gruppe 490 g). Der Großteil (80 Kinder, entsprechend 86 %) wog zwischen 500 und 999 g. Nur 6 Kinder wogen 1000 g oder mehr (dabei jedoch alle weit unter 1500 g, das maximale Gewicht lag bei 1200 g).

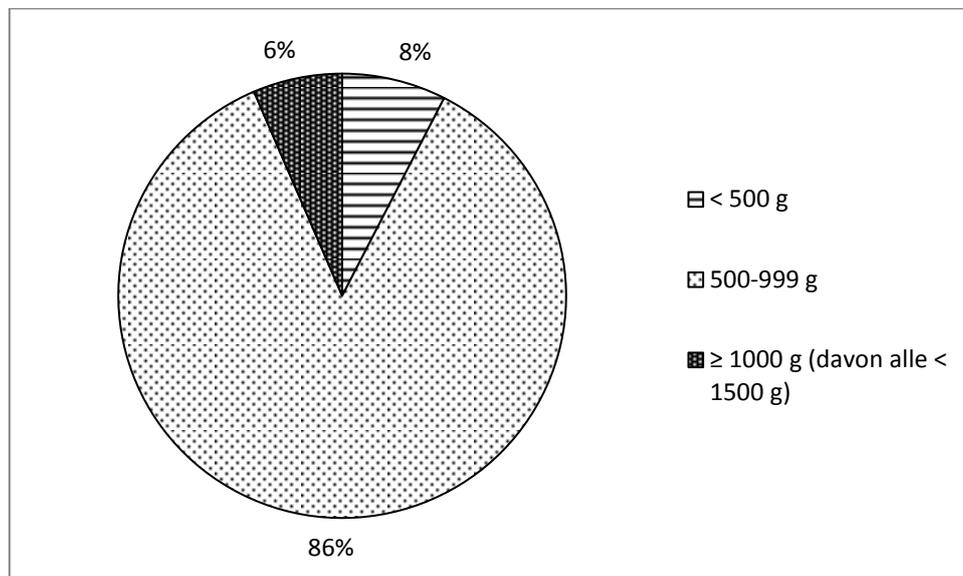


Abbildung 9: Verteilung nach Geburtsgewicht.

67 Kinder (72%) hatten sowohl ein Gestationsalter von < 28 SSW, als auch ein Geburtsgewicht von < 1000 g. Weitere 20 Kinder (22%) hatten ein Gewicht von weniger als 1000 g, waren aber reifer (≥ 28 SSW). Nur 6 Kinder (zwischen 26+6 und 27+6 SSW) wogen mehr als 1000 g.

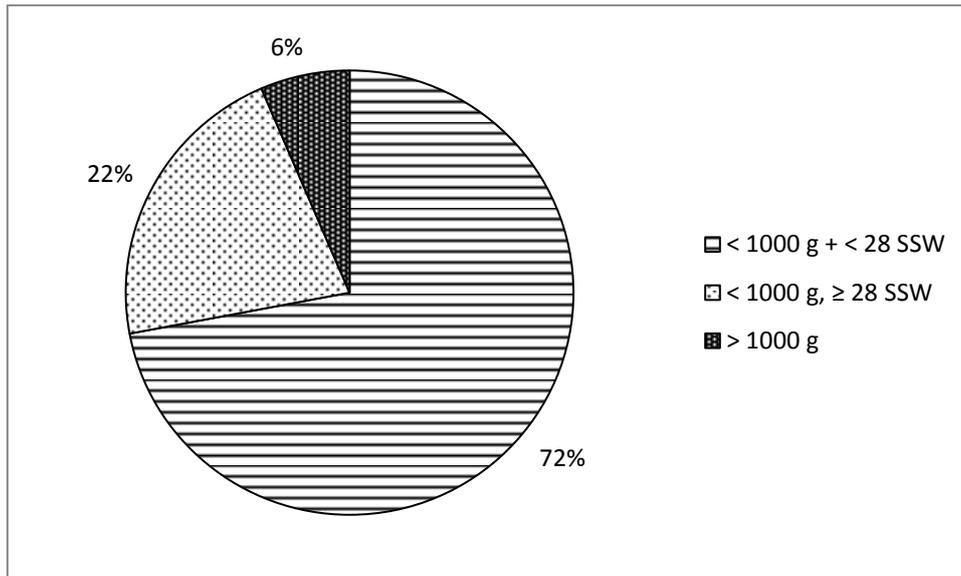


Abbildung 10: Kombinierte Einteilung nach GG und SSW

94% des Gesamtkollektivs (87 Kinder) wogen weniger als 1000 g und sind damit definitionsgemäß ELBW (extremely low birth weight). Nur 6 Kinder wogen mehr als 1000 g, jedoch weniger als 1500 g, und erfüllen damit die Kriterien für VLBW (very low birth weight).

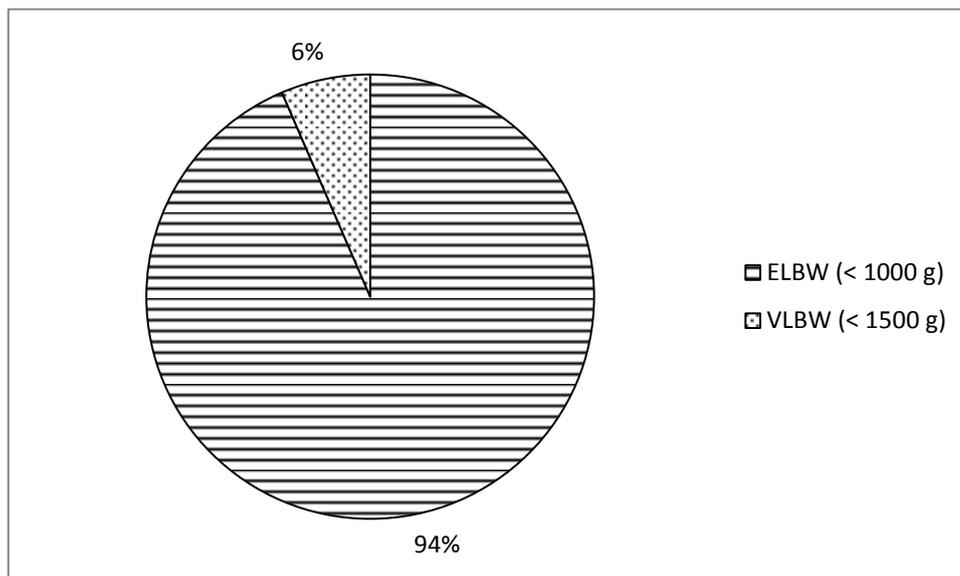


Abbildung 11: Klassifikation nach Geburtsgewicht.
 ELBW=Extremely Low Birth Weight, VLBW = Very Low Birth Weight

3.1.4 Durchschnittliches Gestationsalter bei Entlassung

Das durchschnittliche Gestationsalter bei Entlassung von der Intensivstation oder bei Verlegung auf die Neugeborenenstation betrug 38,4 SSW (Standardabweichung \pm 4 SSW). Bei 5 der Kinder handelte es sich bedauerlicherweise nicht um deren Entlassung, sondern ihr Reifealter zum Zeitpunkt ihres Todes. Sie verstarben im Alter von 6 bis 48 Lebenstagen (mit einem Gestationsalter von 25,4, 26,1, 27,8, 28,5 und 32,1 SSW). 36 Kinder wurden erst am errechneten Termin oder sogar später entlassen (mit einem Gestationsalter von 40 bis 52 SSW). Der Großteil jedoch (57 Patienten, abzüglich der 5 verstorbenen Patienten) konnte vor dem errechneten Termin aus der intensivmedizinischen Behandlung entlassen werden.

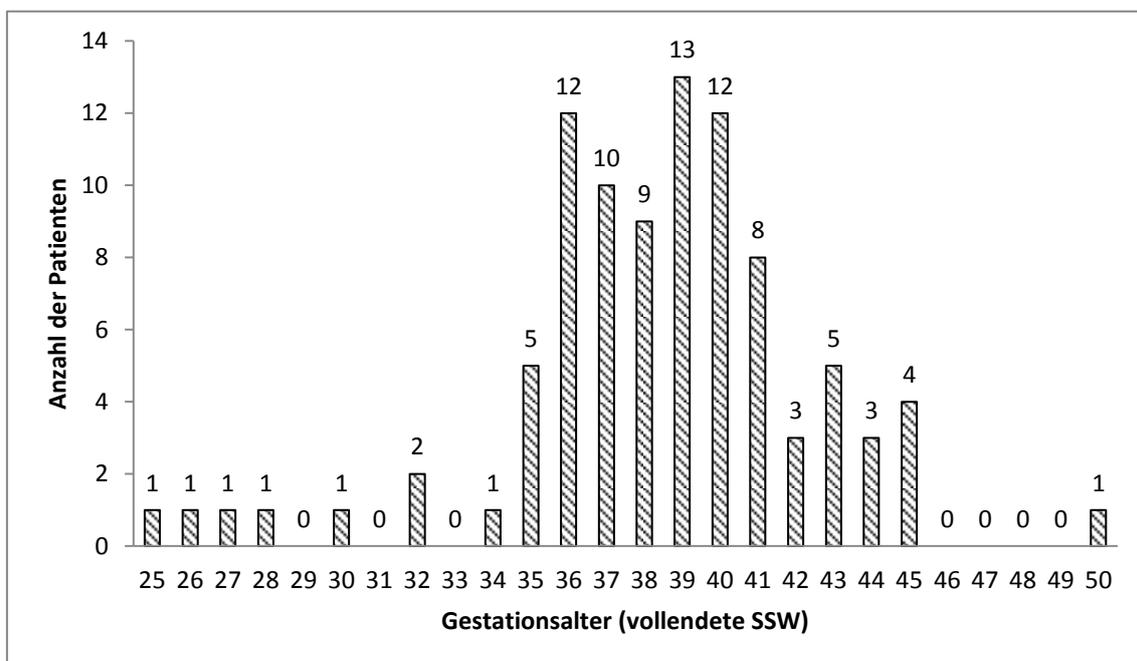


Abbildung 12: Gestationsalter bei Entlassung/Verlegung
Gestationsalter in vollendeten Schwangerschaftswochen. Bei 5 der Patienten handelt es sich um das Reifealter zum Zeitpunkt ihres Todes.

3.2 Ernährung

Das zur Zeit unserer Untersuchung gültige Regime zur enteralen und parenteralen Ernährung am Universitätsklinikum Tübingen ist in Kapitel 2.3 beschrieben. Im Durchschnitt dauerte es in unserem Kollektiv 12,3 Tage, bis bei einem Kind die enterale Nahrung komplett aufgebaut war (enterale Nahrungsmenge ≥ 140 ml/kg/d; Median 9 Tage, Standardabweichung ± 8 Tage). Alle Kinder bekamen zu Beginn auf parenteralem Wege Aminosäuren zugeführt, 8 der 93 Kinder konnten so schnell enteral aufgebaut werden, dass sie keine zusätzliche parenterale Fettzufuhr benötigten.

Durchschnittliche Dauer bis zur vollen Etablierung der enteralen Ernährung + SD (d)	12,3 \pm 8
Anzahl der Kinder, die nie parenterale Aminosäuren erhielten	0
Anzahl der Kinder, die nie parenterales Fett erhielten	8

Tabelle 15: Daten zur enteralen und parenteralen Ernährung

3.2.1 Tatsächliche Cholinzufuhr

Im Folgenden wird die tatsächlich zugeführte tägliche Cholinmenge beschrieben, unterschieden nach parenteraler und enteraler Zufuhr.

3.2.1.1 Parenterale Cholinzufuhr

In den ersten Lebenstagen, in denen die enterale Ernährung aufgrund der Unreife des Gastrointestinaltrakts erst etabliert werden muss, spielt die parenterale Cholinzufuhr zunächst eine zentrale Rolle. Im weiteren Verlauf jedoch kann, sofern die enterale Ernährung voll aufgebaut ist, auf eine parenterale Cholinzufuhr verzichtet werden. Nur in Einzelfällen, zum Beispiel bei Nahrungskarenz im Rahmen einer nekrotisierenden Enterokolitis oder eines Mekoniumpfropfsyndroms, wurde Cholin wieder parenteral, über das Fett und die Emulsion mit den fettlöslichen Vitaminen, zugeführt. Bei der parenteralen Cholinzufuhr fiel auf, dass vereinzelte Patienten eine vergleichsweise hohe Zufuhr hatten. Insbesondere fielen jene Patienten ins Auge, die Werte von > 10 mg/kg/d an parenteralem Cholin, teilweise über längere zeitliche Abschnitte, aufweisen (7 von 93 Patienten). Bei diesen Patienten handelt es sich erwartungsgemäß um Frühgeborene, die aufgrund von Komplikationen nicht rasch enteral aufgebaut werden konnten. Einer der 7 verstarb nach 16 Tagen,

ein anderer wies eine infektiöse Enterokolitis auf, 3 weitere eine intestinale Perforation. In der Gruppe dieser 6 überlebenden Patienten war der enterale Nahrungsaufbau mit 31,6 Tagen bis zum Erreichen einer ausreichenden enteralen Nahrungszufuhr (140 ml/kg/d) deutlich verzögert. Ebenso war die Entlassung deutlich verspätet (nach durchschnittlich 117,6 Tagen, im Vergleich zu 86,8 Tagen im Gesamtpatientenkollektiv). Weitere 4 Patienten erhielten ebenso eine hohe Zufuhr an parenteralem Cholin, lagen jedoch noch unterhalb der Grenze von >10 mg/kg/d. Alle 4 hatten mit gastrointestinalen Komplikationen wie einer intestinalen Perforation, einem Dünndarmvolvulus oder einem Mekoniumileus zu kämpfen.

Andererseits sind auch 8 Patienten zu beobachten, die zu keiner Zeit parenterales Cholin erhielten. Dabei handelt es sich ausnahmslos um Patienten, die im Rahmen des stationären Aufenthalts keine gastrointestinalen Komplikationen zeigten, zügig enteral aufgebaut werden konnten und somit keine parenterale Ernährung benötigten. Dementsprechend ist die Aufenthaltsdauer in diesem kleinen Kollektiv mit durchschnittlich 61 Tagen (Gesamtkollektiv: 86,8 Tage) und auch die Dauer bis zum kompletten enteralen Nahrungsaufbau (140 ml/kg/d, durchschnittlich nach 6,8 Tagen) verkürzt.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass erwartungsgemäß im Mittel jene Kinder, die am längsten für einen enteralen Nahrungsaufbau brauchten, die höchste parenterale Cholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage erhielten (siehe Abbildung 13).

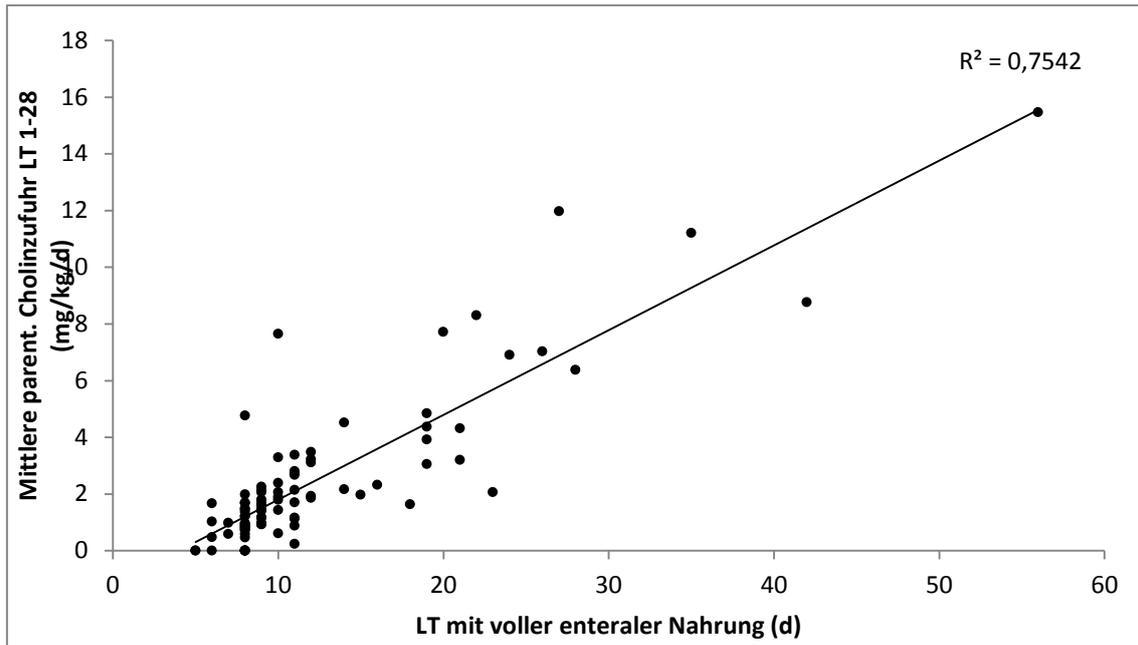


Abbildung 13: Mittl. parent. Cholinzufuhr und Dauer des Nahrungsaufbaus
 Patienten mit verzögertem Nahrungsaufbau erhielten die größten Mengen an parenteralem Cholin.

Nun stellt sich die Frage, ob die parenterale Zufuhr an Cholin auch mit dem Gestationsalter des Frühgeborenen bei Geburt korreliert. Es wäre eigentlich davon auszugehen, dass Frühgeborene, die bei Geburt sehr unreif sind, einen ebenso unreifen GI-Trakt haben, sodass der enterale Nahrungsaufbau verzögert gelingt und mehr Cholin parenteral zugeführt werden muss, als bei Kindern einer reiferen Schwangerschaftswoche bei Geburt.

Im dazu erstellten Schaubild (siehe Abbildung 14) zeigt sich diese Vermutung teilweise bestätigt. So erhielten die Patienten, die bei Geburt der vollendeten 23. Schwangerschaftswoche angehörten, tendenziell mehr parenteral zugeführtes Cholin (Mittelwert für den gesamten Aufenthalt: 5,2 mg/kg/d) als zum Beispiel Patienten, die der 27. Schwangerschaftswoche (Mittelwert 1,9 mg/kg/d) oder der 28. Schwangerschaftswoche (Mittelwert 1,8 mg/kg/d) angehörten. Jedoch ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang nachweisen ($p < 0,01$). Einzelne Ausreißerwerte zeigen sich zum Beispiel bei einem Kind der vollendeten 32. Schwangerschaftswoche. Dieser Patient erhielt laut Schaubild knapp 16 mg/kg/d, es wäre aber ein deutlich geringerer Wert zu erwarten. Diese Abweichung lässt sich dadurch erklären, dass es bei diesem Patienten aufgrund von Komplikationen zu einer deutlichen Verzögerung des

Nahrungsaufbaus kam, sodass viel parenterales Cholin zugeführt werden musste.

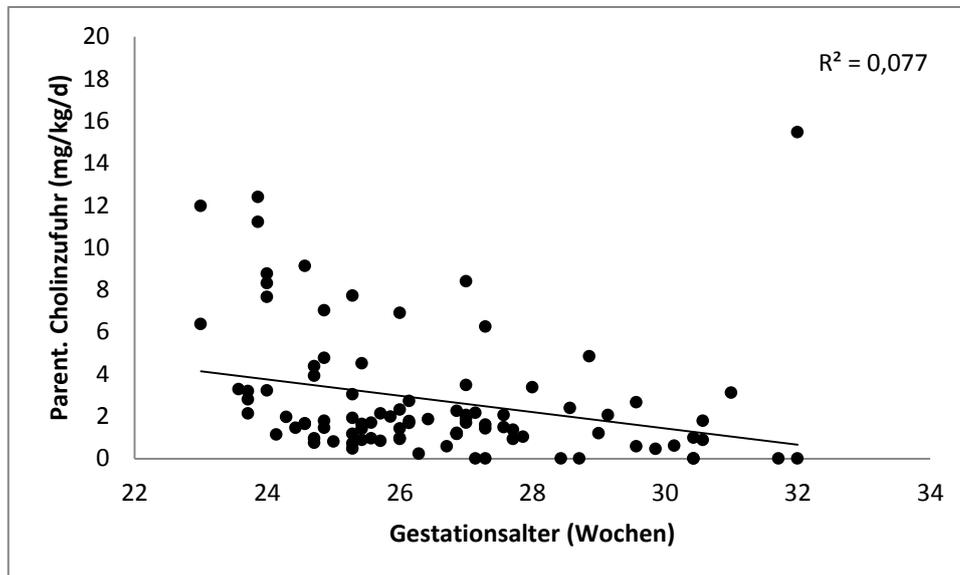


Abbildung 14: Mittlere tägliche parenterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und SSW. Gestationsalter in vollendeten Schwangerschaftswochen (23-32); $p < 0,01$

Ebenso stellte sich die Frage, ob und auf welche Weise die parenterale Cholinzufuhr mit dem Geburtsgewicht korreliert. Es wäre zu erwarten, dass die parenterale Cholinzufuhr bei niedrigerem Geburtsgewicht höher ist, da es bei leichteren (und in der Regel unreiferen Kindern) schwieriger ist, die enterale Ernährung zu etablieren. Diese Vermutung wird in der folgenden Abbildung bestätigt (siehe Abbildung 15), allerdings fallen auch hier wieder einige Ausreißerwerte ins Auge, die wieder durch komplizierte Verläufe bei Einzelschicksalen zu erklären sind, die eine hohe Zufuhr an parenteral zugeführtem Cholin erforderten.

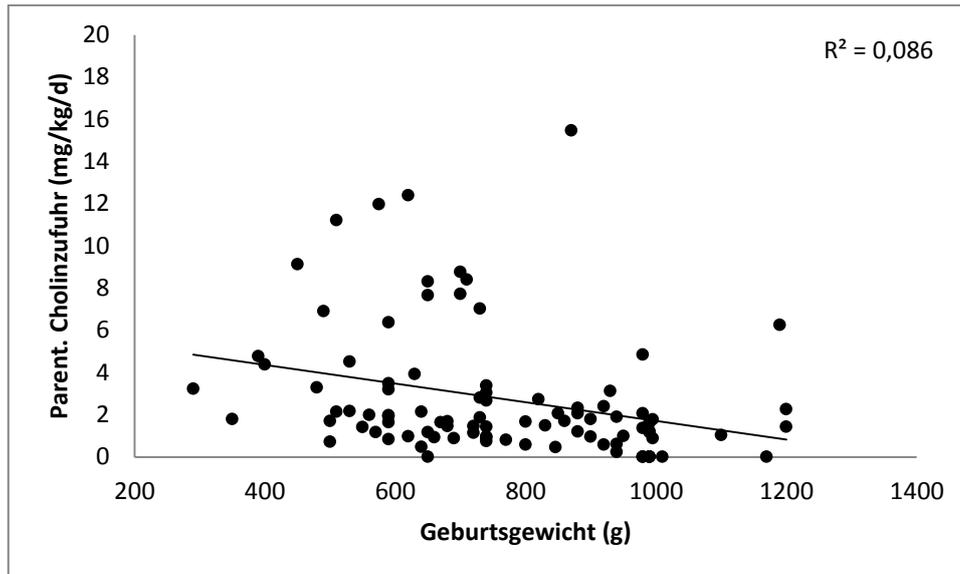


Abbildung 15: Mittlere tägliche parenterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und GG. Geburtsgewicht in Gramm (290-1200 g); $p < 0,01$

3.2.1.2 Enterale Cholinzufuhr

Während parenteral über Fettlösungen und fettlösliche Vitaminlösungen vor allem Phosphatidylcholin zugeführt wird, wird enteral vorzugsweise Phosphocholin und Glycerophosphocholin (stellen vor freiem Cholin den größten Cholinanteil in Muttermilch) oder freies Cholin und Glycerophosphocholin (stellen den größten Cholinanteil in Formulanahrung) zugeführt. [78] Die enterale Cholinaufnahme steigt in der Regel stetig mit zunehmend besserer Nahrungsverträglichkeit an, und überwiegt die parenterale Cholinaufnahme in unserem Kollektiv ab dem 6. Lebenstag (siehe Abbildung 16).

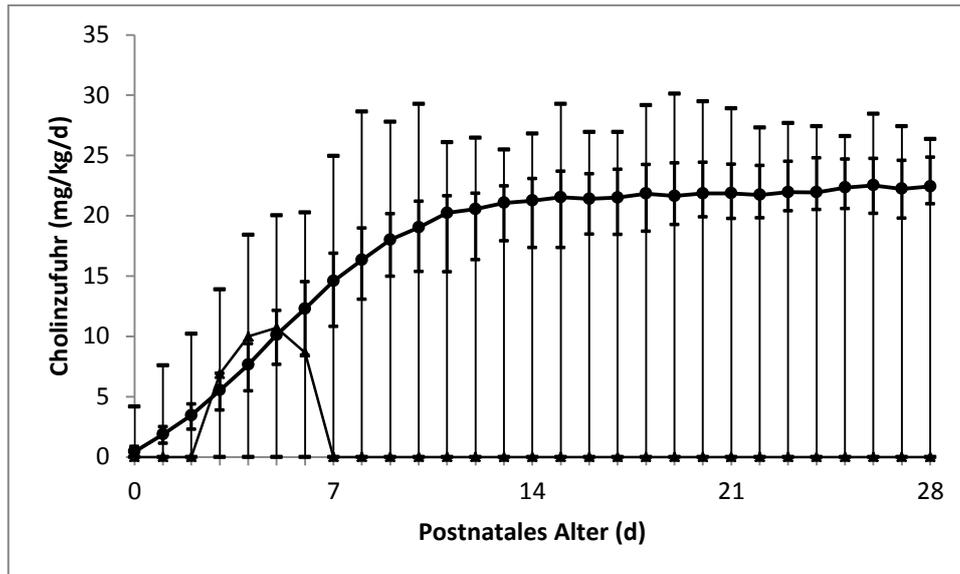


Abbildung 16: Parenterale und enterale Cholinzufuhr (LT 0-28).
 Dabei ist die enterale Zufuhr durch schwarze Punkte (verbunden durch eine dicke Linie) und die parenterale Zufuhr durch schwarze Dreiecke (verbunden durch die dünne Linie) markiert und wird in mg/kg/d angegeben. Die 25. und 75. Perzentile sind als kurze schwarze Striche, Minimum und Maximum als längere schwarze Striche dargestellt. Es wird deutlich, dass ab dem 6. Lebenstag die enterale Cholinzufuhr die parenterale überwiegt. Abbildung 16 wurde in Anlehnung an Fig. 2A aus [81] selbstständig erstellt.

Bei unreiferen Kindern gelingt es häufig langsamer, die enterale Ernährung aufzubauen. Auch in unserem Patientenkollektiv erhielten die reiferen Kinder im Rahmen des stationären Aufenthalts im Vergleich mehr enterales Cholin als die Kinder unreiferer Gestationsalter. So erhielten Kinder der vollendeten 31. SSW im Mittel 18,5 mg/kg/d, Kinder der vollendeten 28. SSW 17,5 mg/kg/d, während Kinder der vollendeten 24. und 23. SSW im Mittel nur 12,5 mg/kg/d und 10,7 mg/kg/d an enteralem Cholin erhielten. Dies wird in der folgenden Abbildung verdeutlicht:

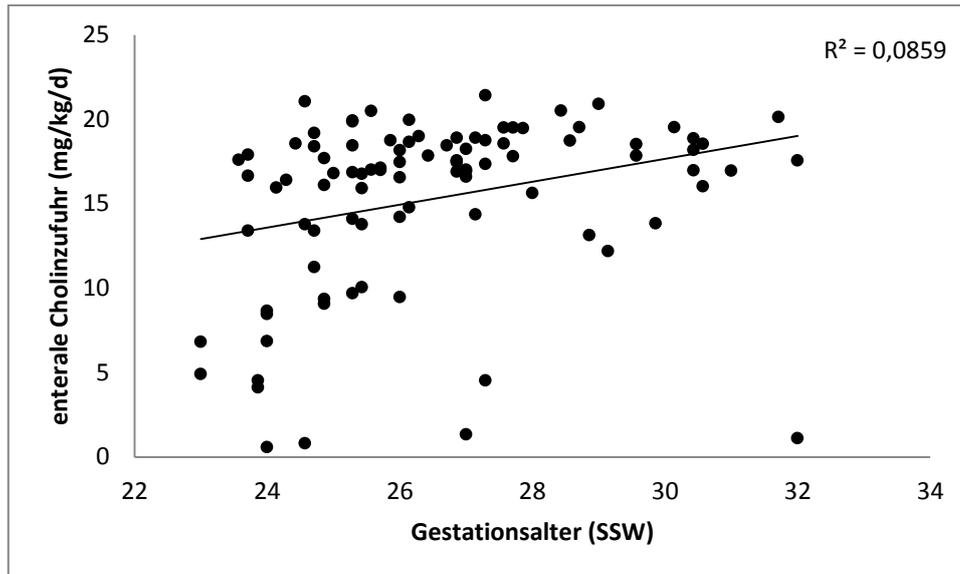


Abbildung 17: Mittlere tägliche enterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und SSW. Gestationsalter in vollendeten Schwangerschaftswochen; $p < 0,01$. Abbildung 17 wurde in Anlehnung an Fig. 3B aus [81] selbstständig erstellt.

Ebenso erhielten die Kinder mit niedrigerem Geburtsgewicht innerhalb der ersten 28 Lebenstage deutlich weniger enterales Cholin als Kinder, die bei Geburt mehr wogen. Beispielsweise erhielten Kinder mit einem Geburtsgewicht von 300-399 g im Mittel nur 13,4 mg/kg/d an enteralem Cholin, Kinder mit einem Geburtsgewicht von 600-699 g schon 15,3 mg/kg/d und Kinder mit einem Geburtsgewicht von 900-999 g 17,8 mg/kg/d (siehe Abbildung 18).

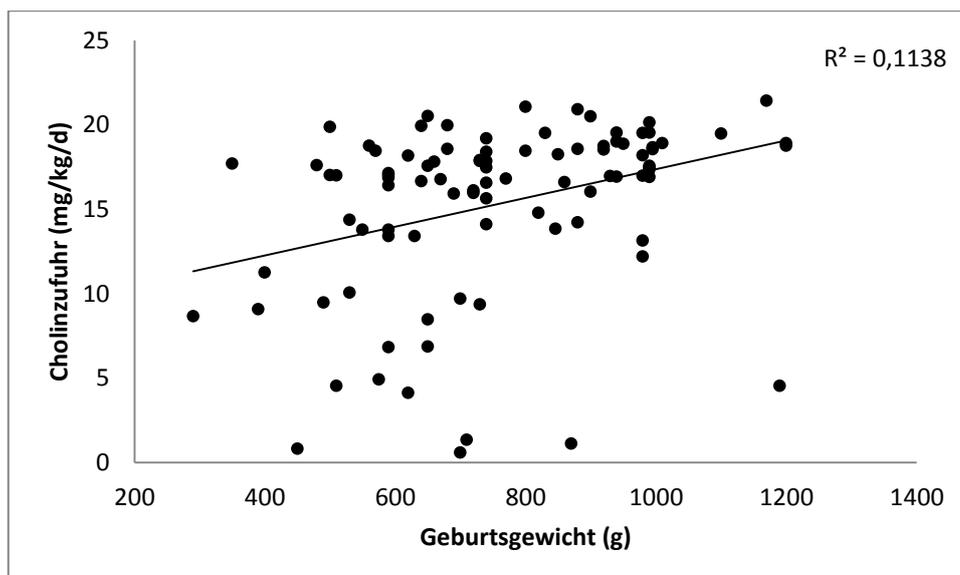


Abbildung 18: Mittlere tägliche enterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und GG. Geburtsgewicht in g; $p < 0,001$. In Anlehnung an Fig. 3A aus [81] selbstständig erstellt.

3.2.1.3 Gesamtcholinzufuhr (parenteral und enteral)

Eigentlich haben Frühgeborene mit extrem niedrigem Geburtsgewicht einen höheren Bedarf an Cholin als schwerere Frühgeborene (siehe Kapitel 2.5.1 Abschätzung der adäquaten Cholinzufuhr). Wie in Abbildung 19 dargestellt, korrelierte jedoch die tägliche Zufuhr an Gesamtcholin leicht positiv mit dem Geburtsgewicht. Dies verdeutlicht, dass es gerade bei ELBW-Frühgeborenen besonders schwer ist, die enterale Ernährung mit einer ausreichenden Zufuhr an enteralem Cholin zu etablieren.

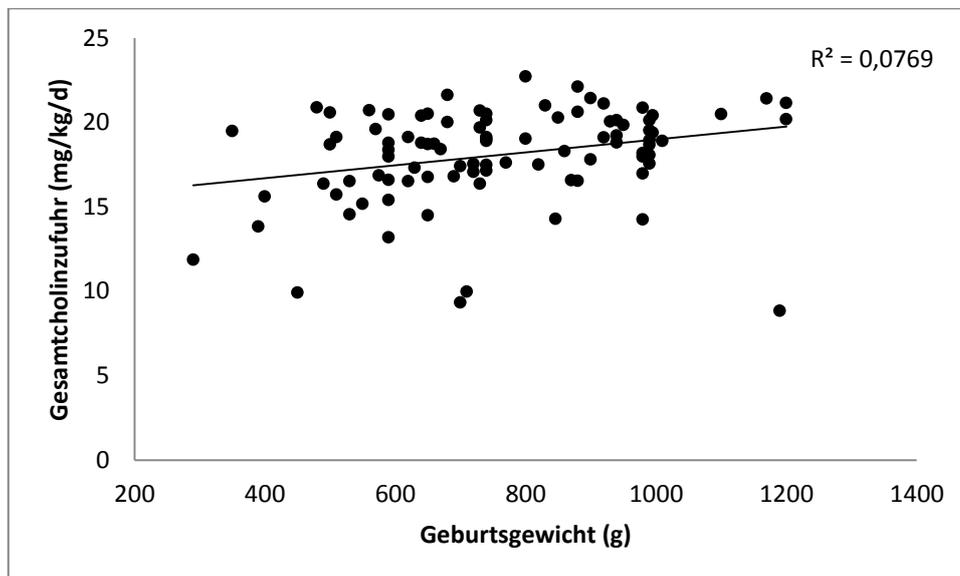


Abbildung 19: Mittlere tägliche Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28) und GG. Geburtsgewicht in g; $p=0,03$.

Ebenso korrelierte die tatsächliche Gesamtzufuhr an Cholin leicht positiv mit dem Gestationsalter (siehe Abbildung 20).

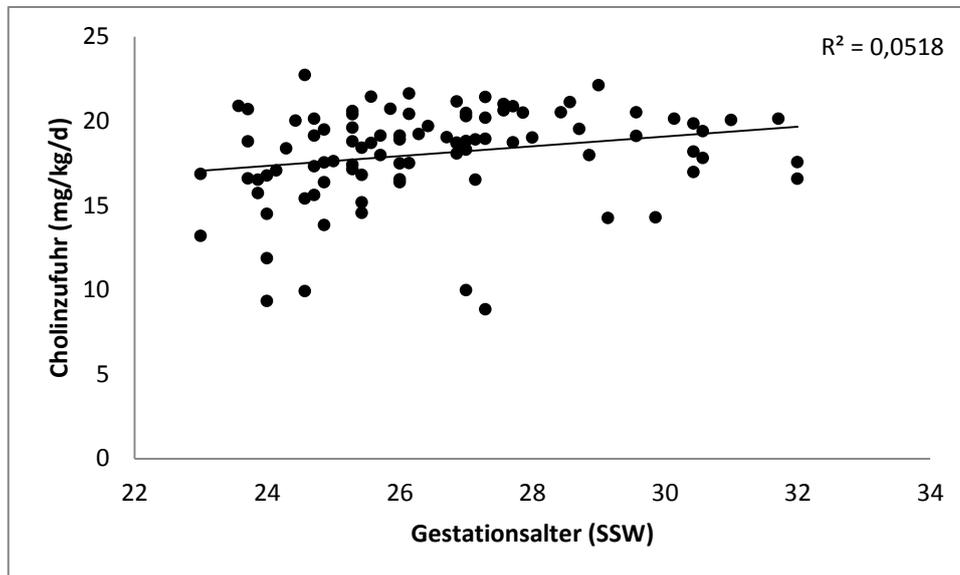


Abbildung 20: Mittlere tägliche Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28) und SSW. Gestationsalter in vollendeten Schwangerschaftswochen; $p < 0,01$.

3.2.2 Vergleich mit der empfohlenen Zufuhr

Innerhalb der ersten Lebenswoche nimmt die parenterale Cholinzufuhr eine essentielle Rolle ein. Der Median liegt um den 4. und 5. Lebenstag bei 10 mg/kg/d, fällt dann im weiteren Verlauf rasch ab und nähert sich schnell der Nulllinie. Ab dem 7. Lebenstag übernimmt die enterale Cholinzufuhr die tragende Rolle. Vom 12. Lebenstag an liegt der Median bei 21 mg/kg/d (25.-75. Perzentile: 16,3-21,8 mg/kg/d), ab dem 18. Lebenstag liegt der Median aufgerundet sogar bei 22 mg/kg/d (25.-75. Perzentile: 18,7-24,2 mg/kg/d). Es fällt jedoch auf, dass der Median immer unter der geschätzten empfohlenen Zufuhr von 27,4 mg/kg/d bleibt; nur an einzelnen Tagen liegt das Maximum im Bereich oder sogar über der empfohlenen Menge, und das Minimum ist auch noch in der 3. und 4. Lebenswoche häufig bei 0 mg/kg/d (siehe Abbildung 21).

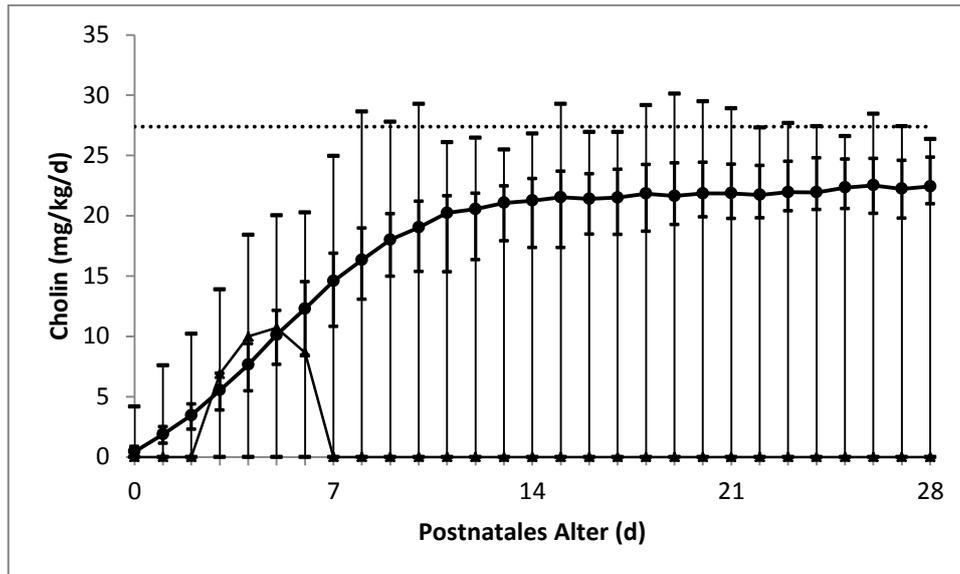


Abbildung 21: Tatsächliche Cholinzufuhr und empfohlene Zufuhr. Die Mediane der enteralen Cholinzufuhr sind als schwarze Punkte dargestellt. Darüber und darunter markieren kurze waagerechte Striche die 25. und 75. Perzentile. Die längeren waagerechten Striche markieren Minimum und Maximum. Die Mediane der parenteralen Cholinzufuhr sind als kleine Dreiecke dargestellt (verbunden durch eine dünne Linie). Die gepunktete Linie veranschaulicht die geschätzte adäquate Cholinzufuhr (27,4 mg/kg/d). Abbildung 21 wurde in Anlehnung an Fig. 3A aus [81] selbstständig erstellt.

3.2.3 Unterschiede in der Cholinzufuhr

Wie in 3.2.2 beschrieben, lag die tatsächliche tägliche Cholinzufuhr in unserem untersuchten Patientenkollektiv regelmäßig unter der geschätzten empfohlenen Zufuhr. Dabei erreichten nur an einzelnen Tagen einzelne Patienten eine Cholinzufuhr von 27,4 mg/kg/d oder darüber. Andere Patienten wiederum erhielten über längere Zeiträume nur geringe Cholinmengen (teilweise < 10 mg/kg/d) (siehe Abbildung 22).

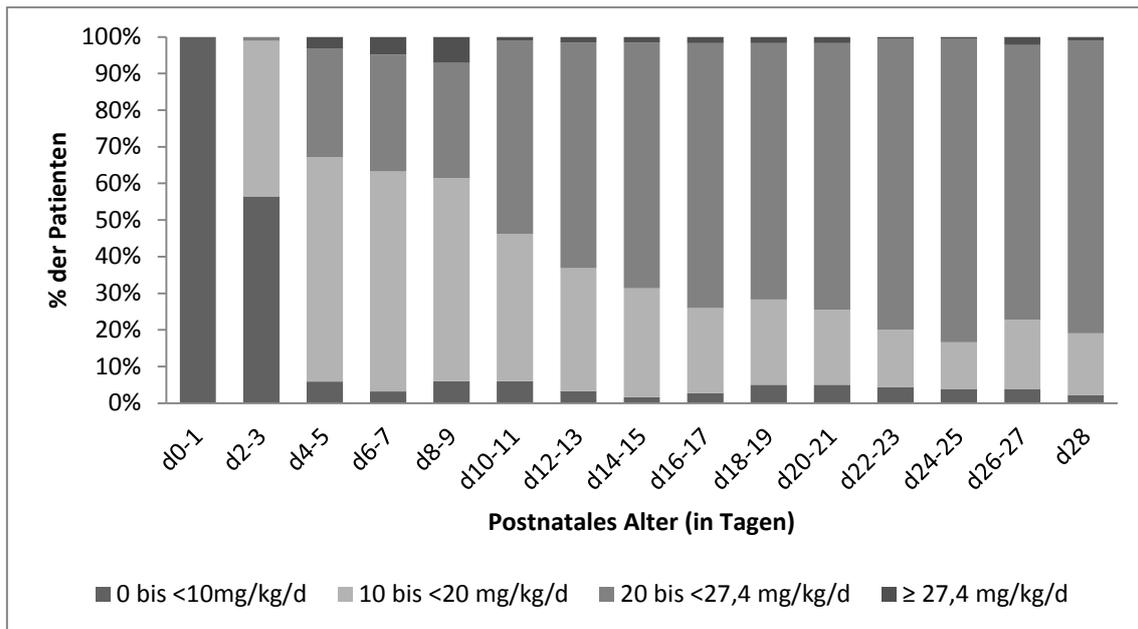


Abbildung 22: Häufigkeit der Cholinzufuhr <math>< 27,4\text{ mg/kg/d}</math>.
 Häufigkeit des Auftretens einer Gesamtcholinzufuhr unterhalb der empfohlenen Menge von $27,4\text{ mg/kg/d}$. Das Patientenkollektiv (N=93) wurde je nach täglicher Gesamtcholinzufuhr im Rahmen der ersten 28 Lebenstage (<math>< 10\text{ mg/kg/d}</math>; <math>10\text{ bis } < 20\text{ mg/kg/d}</math>; <math>20\text{ bis } < 27,4\text{ mg/kg/d}</math>; $\geq 27,4\text{ mg/kg/d}$) in 4 Gruppen unterteilt. Abbildung 22 wurde in Anlehnung an Fig. 4A aus [81] selbstständig erstellt.

Dies liegt einerseits an der extremen Unreife der Kinder, die einen enteralen Nahrungsaufbau erschwerte (siehe 3.2.1). Andererseits verminderten jedoch auch die Komplikationen, die im Rahmen extremer Frühgeburtlichkeit auftreten können, wie eine Sepsis mit verminderter parenteraler und enteraler Cholinzufuhr, oder gastrointestinale Komplikationen wie eine NEC oder ein Mekoniumpfropfsyndrom mit verzögertem enteralem Nahrungsaufbau, die Cholinzufuhr. Im Folgenden sind zur Veranschaulichung die individuellen Verläufe von fünf verschiedenen Patienten dargestellt.

3.2.3.1 Patient Nr. 5

Patient Nr. 5 war ein Frühgeborenes mit einem Gestationsalter von 26+1 SSW und einem Geburtsgewicht von 680 g. Der enterale Nahrungsaufbau gelang gut, Patient Nr. 5 war am 8. Lebenstag voll enteral aufgebaut. Das Kind setzte außerdem regelrecht Stuhlgang ab, und es kam zu keinen Komplikationen. Dementsprechend war auch die Zufuhr an Gesamtcholin zufriedenstellend; außer an einem einzigen Tag erhielt das Kind innerhalb der ersten 28 Lebenstage immer mehr Cholin als der Median des Gesamtkollektivs der Patienten. Trotzdem erreicht auch dieser Patient mit verhältnismäßig gutem Verlauf nur an einem einzigen Tag die empfohlene tägliche Zufuhr von 27,4 mg/kg/d (siehe Abbildung 23).

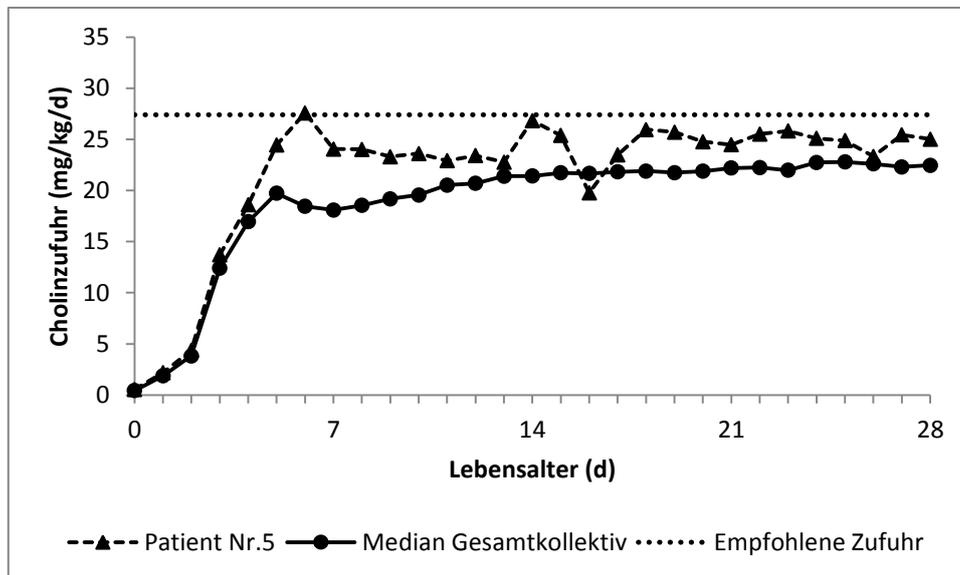


Abbildung 23: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 5 (LT 0-28).

Hier, wie in den folgenden 4 Abbildungen, sind die Mediane aus der Gesamtcholinzufuhr des Gesamtpatientenkollektivs (N=93) als schwarze Punkte dargestellt; die Werte für die Cholinzufuhr des beschriebenen Patienten (hier Patient Nr. 5) sind als Dreiecke dargestellt. Die empfohlene tägliche Zufuhr von 27,4 mg/kg/d ist als gepunktete Linie gekennzeichnet.

3.2.3.2 Patient Nr. 23

Dieser Patient war ein Zwillingenfrühgeborenes mit einem Gestationsalter von 24+0 SSW und einem Geburtsgewicht von 700 g. Am 5. Lebenstag kam es zu einer Darmperforation mit nachfolgender Nahrungskarenz über einige Tage und der operativen Anlage eines Ileostomas. Am 14. Lebenstag wurde eine Relaparotomie notwendig. Aufgrund der gastrointestinalen Komplikationen konnte erst am 22. Lebenstag endgültig wieder vorsichtig mit der oralen Nahrungszufuhr begonnen werden. Zwar wurde meistens (außer an Tagen mit wenig parenteraler Fettzufuhr aufgrund von hohen Entzündungswerten) auf parenteralem Wege Cholin zugeführt, die Menge reichte jedoch nicht aus, um an den Median des Gesamtkollektivs oder gar die empfohlene tägliche Zufuhr von 27,4 mg/kg/d heranzureichen (siehe Abbildung 24).

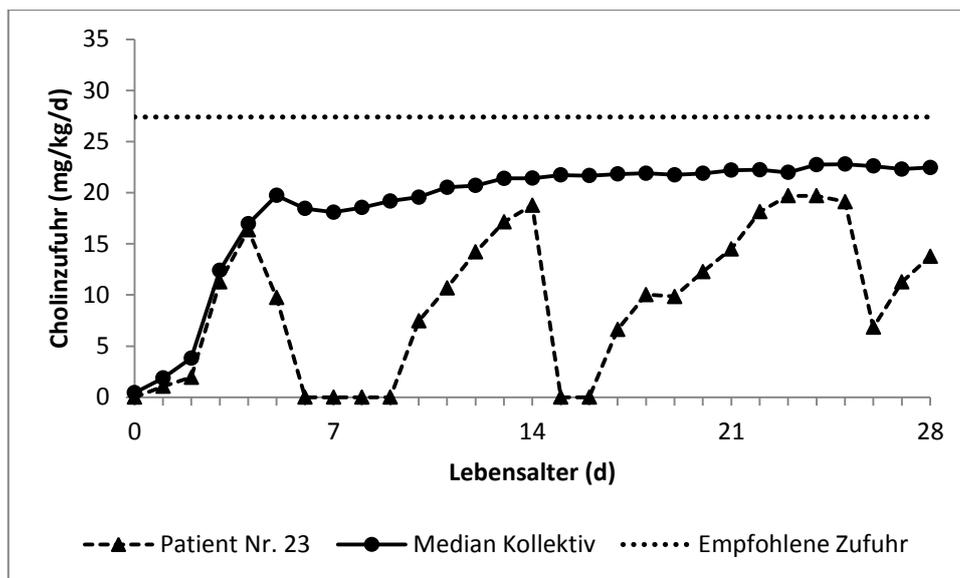


Abbildung 24: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 23 (LT 0-28).
Nach dem 5. Lebenstag (Zeitpunkt der Intestinalen Perforation) fällt die Cholinzufuhr das erste Mal ab. Ein weiterer Abfall tritt nach der Relaparotomie am 14. Lebenstag auf, die eine erneute Phase der Nahrungskarenz erforderte.

3.2.3.3 Patient Nr. 41

Dieses Frühgeborene mit einem Gestationsalter von 24+6 SSW und einem Geburtsgewicht von 730 g erlitt um den 8. Lebenstag eine infektiöse Enterokolitis, die eine enterale Nahrungskarenz von 4 Tagen erforderlich machte. Auch im weiteren Verlauf gelang dadurch der enterale Nahrungsaufbau nur zögerlich. Patient Nr. 41 war erst am 26. Lebenstag voll enteral aufgebaut (140 ml/kg/d Nahrung). Er erreichte zwar zwischenzeitlich an mehreren Tagen die empfohlene Menge von 27,4 mg/kg/d, lag jedoch andererseits die meiste Zeit unter dem Median des Gesamtkollektivs (siehe Abbildung 25).

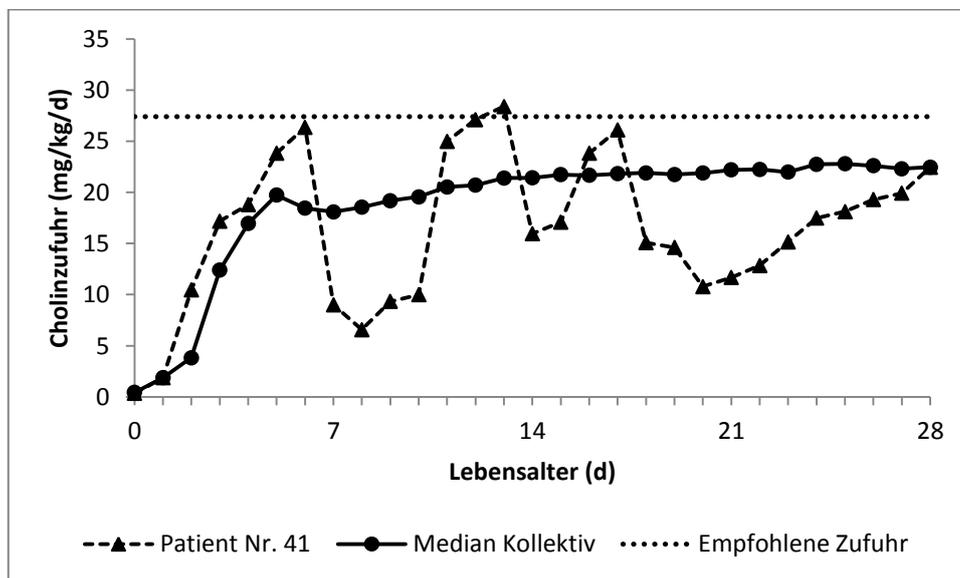


Abbildung 25: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 41 (LT 0-28). den 8. Lebenstag fällt die Cholinzufuhr aufgrund der infektiösen Enterokolitis ab. Auch im weiteren Verlauf wird deutlich, dass der endgültige enterale Nahrungsaufbau erschwert ist.

3.2.3.4 Patient Nr. 73

Patient Nr. 73 ist ein Frühgeborenes mit einem Gestationsalter von 24+6 SSW und einem sehr geringen Geburtsgewicht von 390 g. Zunächst gelang hier der enterale Nahrungsaufbau zufriedenstellend, auch die Cholinzufuhr lag zeitweise sogar über dem Median des Gesamtkollektivs. Um den 18. Lebenstag jedoch entwickelte der Patient eine NEC mit Dünndarmperforation, die eine Ileostomaanlage am 19. Lebenstag erforderlich machte. Erst um den 27. Lebenstag stieg die Cholinzufuhr wieder an, ab dem 28. Lebenstag erhielt der Patient wieder oral Nahrung (siehe Abbildung 26).

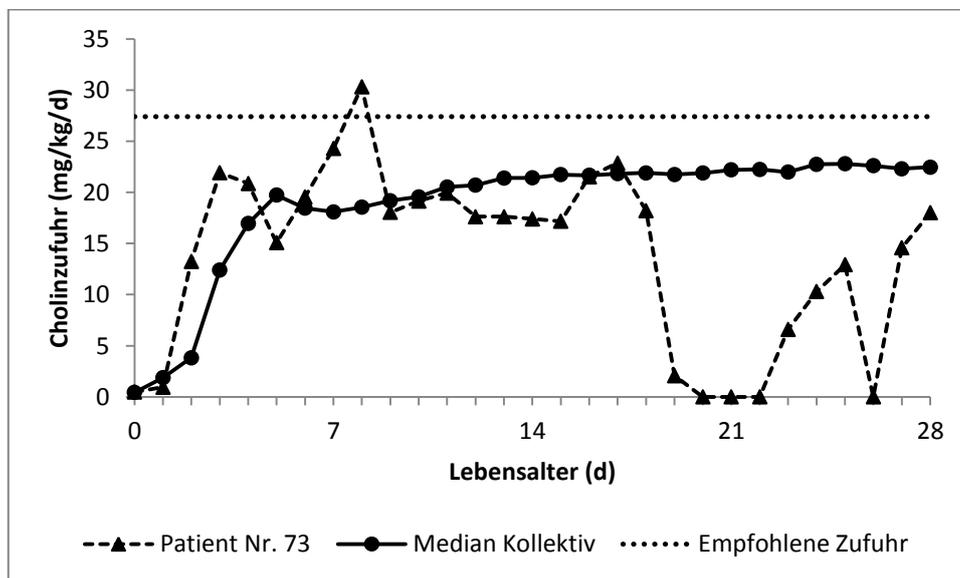


Abbildung 26: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 73 (LT 0-28).
Nach Auftreten der NEC am 18. Lebenstag nimmt die Cholinzufuhr deutlich ab.

3.2.3.5 Patient Nr. 81

Dieses Zwillingsfrühgeborene hatte ein Gestationsalter von 23+0 SSW und kam mit einem Geburtsgewicht von 590 g zur Welt. Die tägliche Cholinzufuhr verlief zunächst bis einschließlich zum 6. Lebenstag parallel zum Median des Gesamtkollektivs. Um den 8. Lebenstag fiel jedoch die Cholinzufuhr aufgrund eines akuten Abdomens, das eine operative Darmdekompression mit Ileostomaanlage und damit einhergehend eine fünftägige Nahrungskarenz notwendig machte, stark ab. Am 19. Lebenstag fiel die Cholinzufuhr erneut ab, hier trat beim Patienten aufgrund einer Sepsis mit *Staphylococcus haemolyticus* eine Episode mit Nahrungsintoleranz (gallige Magenreste und Erbrechen) auf.

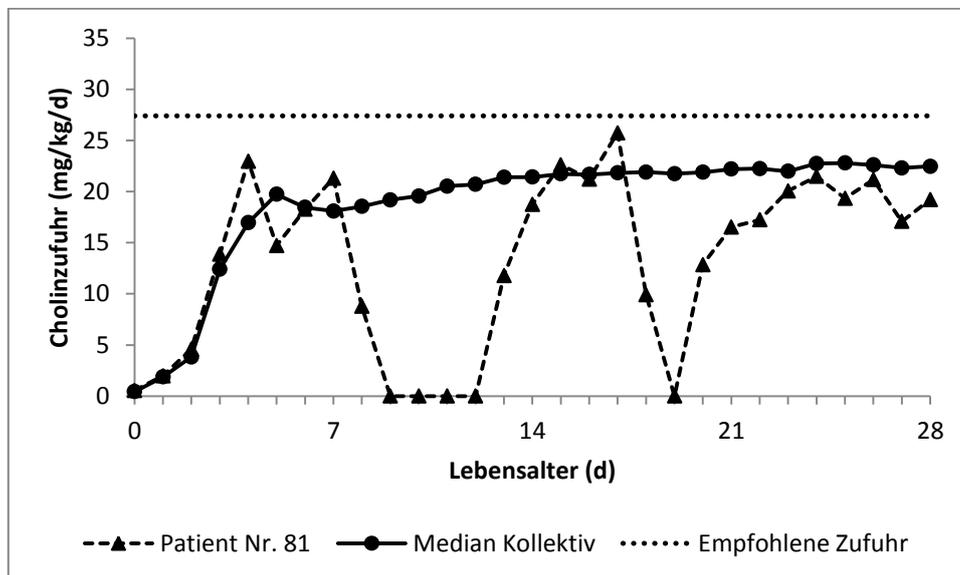


Abbildung 27: Gesamtcholinzufuhr von Patient Nr. 81 (LT 0-28). Die Cholinzufuhr wurde einmal aufgrund eines akuten Abdomens um den 8. Lebenstag und einmal aufgrund einer Sepsis mit *Staph. haemolyticus* um den 19. Lebenstag stark vermindert.

3.2.3.6 Drei Einzelschicksale im Vergleich

Zur Verdeutlichung, wie stark sich die individuelle Cholinzufuhr bei den einzelnen Patienten innerhalb der ersten 28 Lebenstage aufgrund von Komplikationen unterschied, wurden hier drei der oben beschriebenen Patienten herausgegriffen und die individuelle Cholinzufuhr in einem gemeinsamen Schaubild dargestellt.

Bei Patient Nr. 23 kam es um den 5. Lebenstag zu einer intestinalen Perforation mit Ileostomaanlage und am 14. Lebenstag wurde eine

Relaparotomie notwendig. Es sind deutlich die Einschnitte in der Cholinzufuhr an den genannten Tagen sichtbar. Patient Nr. 73 hatte in den ersten beiden Lebenswochen eine regelrechte Cholinzufuhr, die zeitweise sogar den Median des Kollektivs überstieg. Nach Auftreten einer NEC um den 18. Lebenstag fiel die Cholinzufuhr jedoch stark ab und erholte sich erst um den 27. Lebenstag. Bei Patient Nr. 81 verminderte sich die Cholinzufuhr im Rahmen eines akuten Abdomens am 6. Lebenstag und erneut im Rahmen einer Sepsis um den 19. Lebenstag.

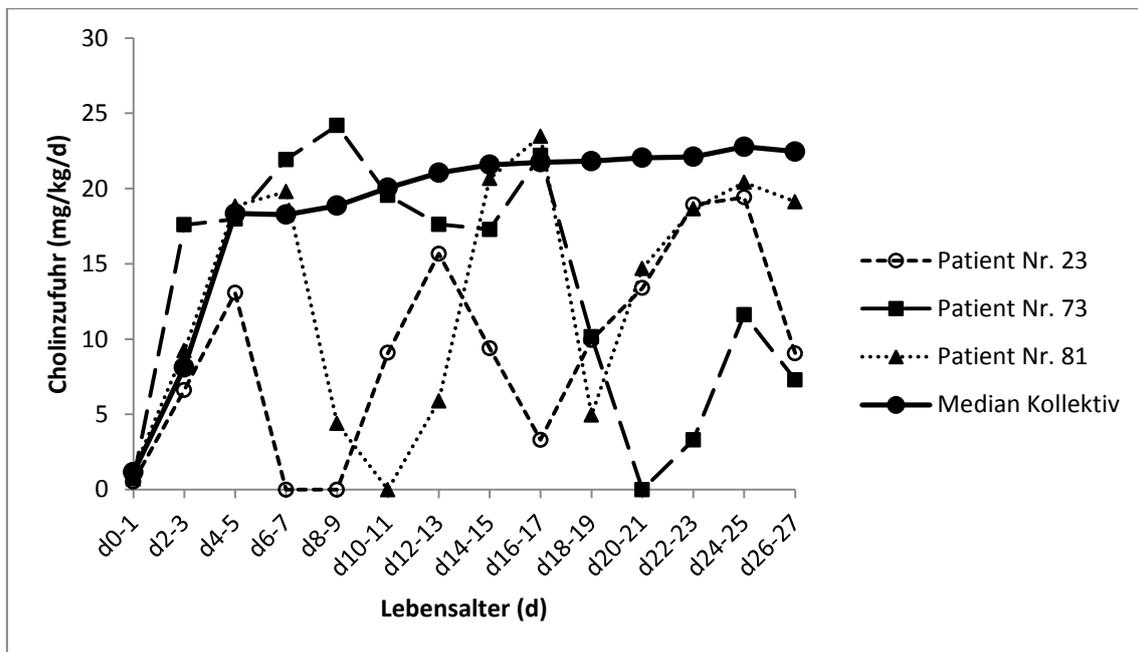


Abbildung 28: Individuelle Gesamtcholinzufuhr im Vgl. zum Gesamtkollektiv. Vergleich der individuellen Gesamtcholinzufuhren von 3 verschiedenen Patienten im Vergleich zum Median des Gesamtkollektivs. Die Mediane des Gesamtkollektivs sind als ausgefüllte Kreise dargestellt. Die Cholinzufuhrwerte von Patient Nr. 23 sind als leere Kreise dargestellt; die Werte von Patient Nr. 73 werden durch ausgefüllte Quadrate und jene von Patient Nr. 81 durch ausgefüllte Dreiecke markiert. Abbildung 28 wurde in Anlehnung an Fig. 4B aus [81] selbstständig erstellt.

3.2.4 Cholin und andere Stoffe des C1-Intermediär-Stoffwechsels

Die Stoffwechselwege von Folsäure, Methionin und Cholin hängen eng miteinander zusammen (siehe Kapitel 1.2.2). Im Folgenden ist die Versorgung der Kinder unserer Studie mit Folsäure und Methionin im Rahmen der ersten 28 Lebenstage dargestellt.

3.2.4.1 Folsäure

Die Europäische Gesellschaft für Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung (ESPGHAN) empfiehlt eine tägliche Zufuhr an Folsäure von 35-100 mg/kg [127].

In den ersten 7 Lebenstagen erfolgte die Folsäurezufuhr vor allem parenteral via i.v.-Lösung mit wasserlöslichen Vitaminen (siehe Tabelle 13). Hier lag der Median der täglichen Folsäurezufuhr schon am 3. Lebenstag über der empfohlenen Mindestmenge von 35 mg/kg, und blieb dort über 5 Tage bis inklusive zum 7. Lebenstag. Ab dem 8. Lebenstag war der Median der parenteralen Folsäurezufuhr bereits bei Null.

Die enterale Folsäurezufuhr nahm ab dem 9. Lebenstag durch die Zunahme der enteralen Nahrungsmenge (große Mengen sind in Frühgeborenenformulanahrung sowie in Muttermilch-Fortifier, aber auch in Muttermilch enthalten) stetig zu und lag bereits ab dem 10. Lebenstag über der empfohlenen täglichen Mindestmenge von 35 mg/kg/d. Im weiteren Verlauf pendelte sich der Median der täglichen Folsäurezufuhr ab der 3. Lebenswoche bei einem Wert von 88,6 mg/kg/d (25.-75. Perzentile: 70,1-97,3 mg/kg/d) ein. Im folgenden Schaubild ist ersichtlich, dass der Median der enteralen Folsäurezufuhr ab dem 10. Lebenstag dauerhaft im Bereich der empfohlenen Tagesmenge (35-100 mg/kg/d) lag; allerdings lag das Minimum im Rahmen der intensivmedizinischen Betreuung auch dauerhaft bei Null.

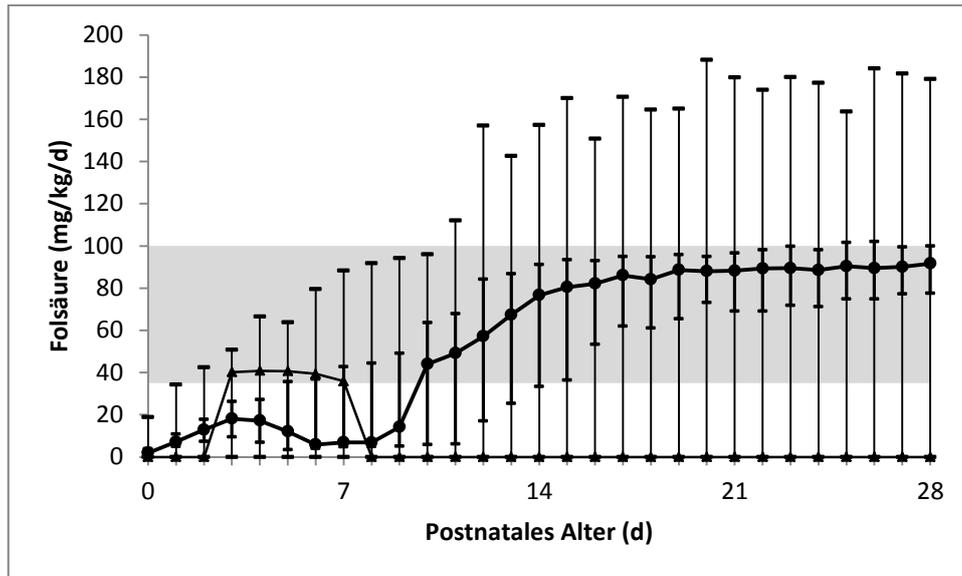


Abbildung 29: Tatsächl. tgl. Folsäurezufuhr und empfohlene Menge. Der Median der enteralen Folsäurezufuhr (LT0-28) ist als Punkte und dicke Linie dargestellt, der Median der parenteralen Folsäurezufuhr als Dreiecke und dünne Linie. Davon ausgehend markieren die dicken vertikalen Balken die 25. und 75. Perzentile; die dünnen vertikalen Balken markieren Minimum und Maximum. Das grau unterlegte Feld markiert den Bereich der empfohlenen Tagesmenge (35-100 mg/kg/d). Selbstständig erstellt in Anlehnung an Fig. 6A,B aus [81].

3.2.4.2 Methionin

Innerhalb der ersten neun Lebenstage fand der Großteil der Methioninzufuhr auf parenteralem Wege statt (über die i.v.-Aminosäurelösung, siehe Tabelle 13). Dabei lag der Median bei maximal 120,4 mg/kg/d. Bisher existieren noch keine allgemeingültigen Empfehlungen zur täglichen Aufnahme von Methionin. Allerdings empfiehlt die European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition einen Anteil von 1,4 g Methionin pro 100 g Protein, oder 24 mg Methionin pro 100 kcal, in industriell hergestellter Formulanahrung. [73]

Nach Abnahme der parenteralen Methioninzufuhr übernahm die enterale Zufuhr (v.a. über Formulanahrung, aber auch über Muttermilch und Muttermilchfortifier, siehe Tabelle 13) die Hauptrolle. Ab der 3. Lebenswoche pendelte sich die Zufuhr bei einem Median von 84,4 mg/kg/d ein (25.-75. Perzentile: 72,4-91,6 mg/kg/d). Die parenterale Zufuhr spielte ab dem 10. Lebenstag keine Rolle mehr (Median bei 0 mg/kg/d). Im Rahmen von Komplikationen und damit verbundener verminderter enteraler Nahrungszufuhr bis hin zur Nahrungskarenz lag auch das Minimum der enteralen Methioninzufuhr immer wieder bei Null.

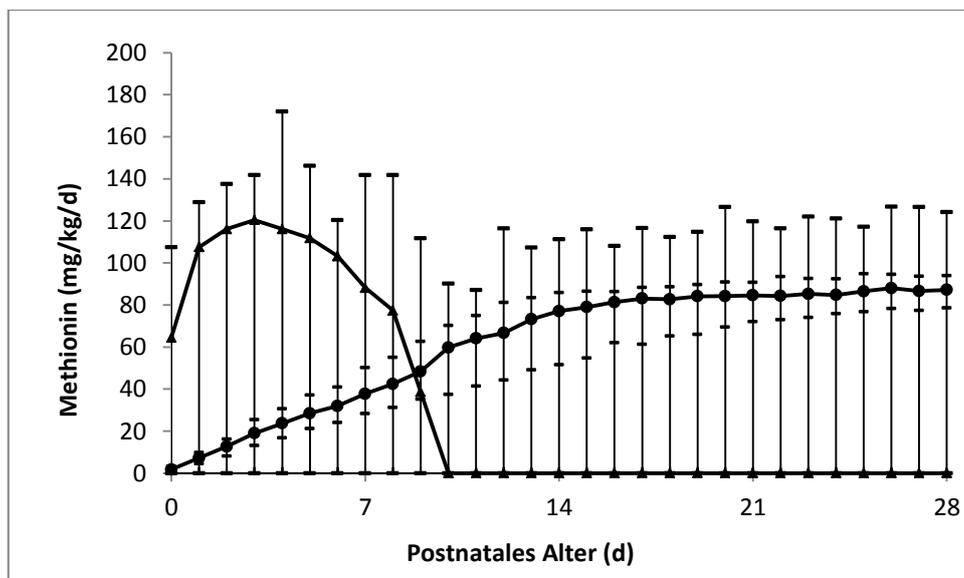


Abbildung 30: Tatsächliche tgl. Methioninzufuhr des Kollektivs (LT 0-28). Der Median der enteralen Methioninzufuhr ist als Punkte und dicke Linie dargestellt, der Median der parenteralen Methioninzufuhr als Dreiecke und dünne Linie. Davon ausgehend markieren dicke vertikale Balken P25 u.P75; die dünnen vertikalen Balken markieren Min. und Max.

3.2.5 Zufuhr anderer Makronährstoffe im Verhältnis zu Cholin

3.2.5.1 Fett

Die Zufuhr an Fett ähnelt in ihrem Verlauf deutlich dem des Cholins. Fett wurde parenteral ab dem 3. Lebenstag zugeführt, und im Verlauf zunächst gesteigert bis zu einem Median von 1,1 g/kg/d am 5. Lebenstag. Im weiteren Verlauf nahm der Median der parenteralen Fettzufuhr wieder ab und näherte sich am 7. Lebenstag der Nulllinie an. Danach wurde parenterales Fett nur noch in Einzelfällen in Phasen von enteraler Nahrungsrestriktion oder Nahrungskarenz zugeführt, und erreichte hier ein Maximum von bis zu 4 g/kg/d.

Während die parenterale Fettzufuhr nach dem 5. Lebenstag wieder abnahm, stieg die enterale Fettzufuhr vom 1. Lebenstag an kontinuierlich an und erreichte am 11. Lebenstag einen Wert von > 6 g/kg/d. Ab der 3. Lebenswoche pendelte der Median sich bei einem Wert von 6,6 g/kg/d ein (25.-75. Perzentile: 5,9-7,0 g/kg/d).

Die folgende Übersicht präsentiert die parenterale und enterale Fettzufuhr in einem gemeinsamen Schaubild und zeigt zusätzlich die durch die ESPGHAN empfohlene tägliche Fettzufuhr auf [73]. Hier wird deutlich, dass die empfohlene Fettmenge bereits ab dem 2. Lebenstag vom Großteil des Patientenkollektivs erreicht wurde. Trotzdem gab es auch immer wieder Patienten ohne Fettzufuhr (Minimum kontinuierlich 0 g/kg/d).

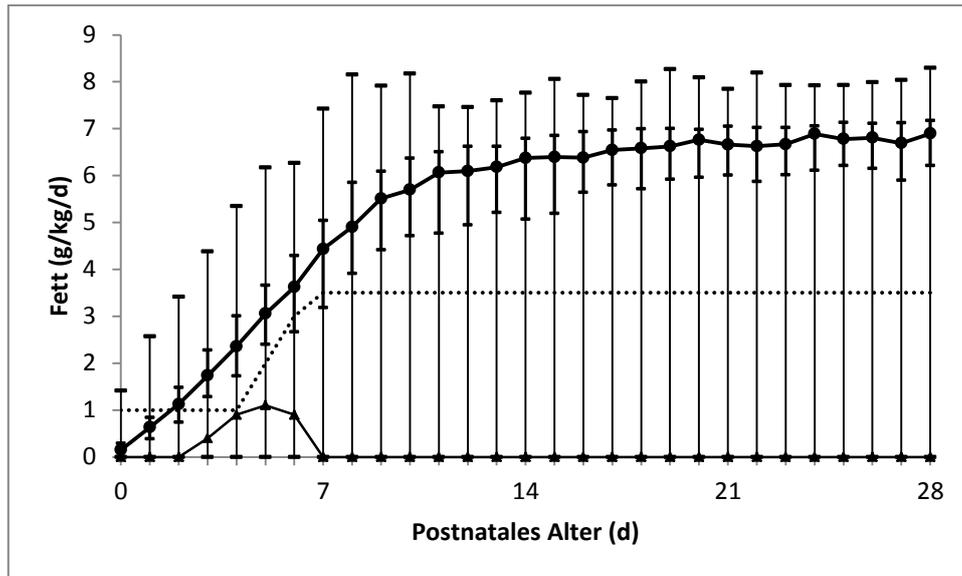


Abbildung 31: Tatsächliche tgl. Fettzufuhr und empfohlene Menge.
 Die enterale Fettzufuhr (Median) ist als schwarze Punkte dargestellt, die parenterale Fettzufuhr (Median) durch schwarze Dreiecke. Die dicken vertikalen Balken markieren die 25. und 75. Perzentile der enteralen Fettzufuhr, die dünnen vertikalen Balken Minimum und Maximum. Die empfohlene tägliche Fettzufuhr ist als gepunktete Linie dargestellt, beginnend mit 1 g/kg/d am 1. Lebenstag, ansteigend bis auf 3,5 g/kg/d ab dem 7. Lebenstag (nach den Empfehlungen der ESPGHAN von 2005). Diese Abb. wurde eigenständig erstellt in Anlehnung an Fig. 2B aus [81].

3.2.5.2 Protein

Die parenterale Proteinzufuhr begann bereits am 1. Lebenstag mit einem Median von 1,5 g/kg/d und stieg bis zum 3. Lebenstag bis zu einem Median von 2,8 g/kg/d an. Danach nahm die parenterale Proteinzufuhr bis zum 10. Lebenstag kontinuierlich wieder ab und erreichte wieder die Nulllinie.

Die enterale Proteinzufuhr hingegen stieg ab dem ersten Lebenstag kontinuierlich an, und erreichte in der 3. Lebenswoche ein Plateau (Median: 3,9 g/kg/d; 25.-75. Perzentile: 3,4-4,2 g/kg/d). In der enteralen Zufuhr wurden teilweise Maxima von über 5 g/kg/d erreicht, jedoch lag das Minimum im Rahmen von Nahrungsrestriktion auch kontinuierlich bei 0 g/kg/d.

Im folgenden Schaubild sind sowohl die parenterale, als auch die enterale Proteinzufuhr dargestellt. Zusätzlich wird die empfohlene Proteinzufuhr nach Empfehlung der ESPGHAN von 2005 aufgezeigt. [73] Hierbei wird deutlich, dass die Gesamtzufuhr an Protein in unserem Kollektiv immer im Bereich der empfohlenen Menge lag. In den ersten 5 Lebenstagen wurde die empfohlene Menge allein durch die parenterale Zufuhr erreicht; ab dem 10. Lebenstag durch die enterale Zufuhr. In den Tagen zwischen dem 5. und 10. Lebenstag wurde die empfohlene Zufuhr durch die Kombination aus parenteraler und enteraler Zufuhr erreicht. Des Weiteren wird deutlich, dass die Verläufe der Proteinzufuhr deutlich der des Methionins ähneln (siehe

3.2.4.2 Methionin), was dadurch zu erklären ist, dass Methionin im Rahmen der Proteinversorgung zugeführt wurde.

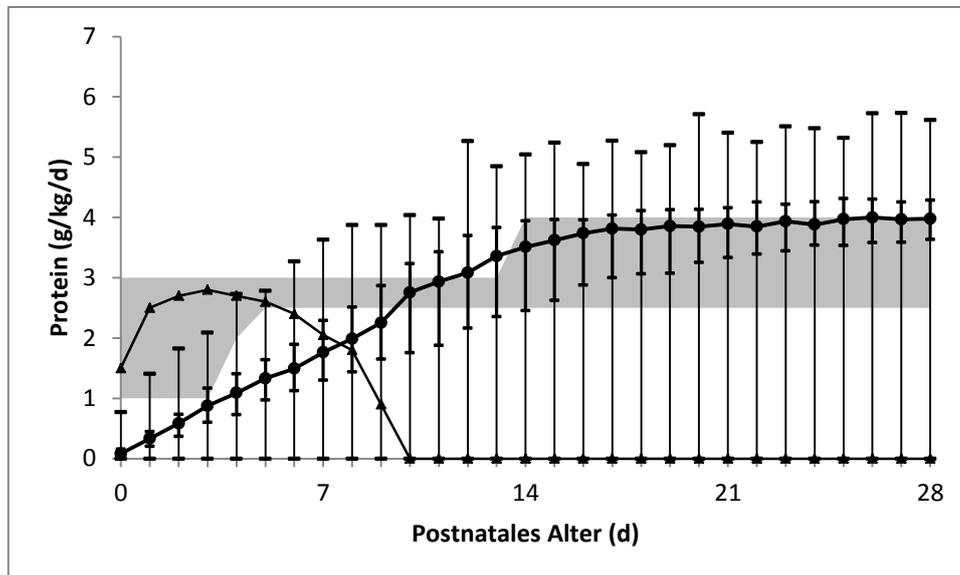


Abbildung 32: Tatsächliche tgl. Proteinzufuhr und empfohlene Menge.
 Die enterale Zufuhr ist als schwarze Punkte dargestellt, die parenterale Zufuhr als schwarze Dreiecke (jeweils Median). Die langen vertikalen Balken markieren die 25. und 75. Perzentile der enteralen Zufuhr, die kurzen vertikalen Balken Minimum und Maximum. Die empfohlene Zufuhr ist durch die grau unterlegte Fläche dargestellt. Sie variiert von 1-3 g/kg/d am 1. LT bis zu 2,5-4 g/kg/d ab dem 14. Lebenstag. Diese Abb. wurde selbstständig in Anlehnung an Fig. 5B aus [81] erstellt.

3.2.5.3 Kohlenhydrate

Die parenterale Kohlenhydratzufuhr des Gesamtkollektivs startete bei einem Median von 5 g/kg/d, und stieg dann zunächst bis zum 3. Lebenstag an (Median 6,5 g/kg/d). Danach fiel die parenterale Kohlenhydratzufuhr kontinuierlich ab und erreichte am 10. Lebenstag die Nulllinie.

Die enterale Kohlenhydratzufuhr begann ebenso bereits am ersten Lebenstag mit einer Zufuhr von 1,3 g/kg/d (Median), und stieg danach kontinuierlich an, bis sie ab dem 15. Lebenstag ein Plateau von 12,3 g/kg/d erreichte (Median; 25.-75. Perzentile: 10,9-13,6 g/kg/d).

Im Vergleich zur durch die ESPGHAN empfohlenen täglichen Zufuhr wird deutlich, dass die Gesamtzufuhr an Kohlenhydraten in unserem Kollektiv fast immer im Bereich der empfohlenen Werte lag. Die ESPGHAN empfiehlt in ihrer Leitlinie von 2005 ab dem 1. Lebenstag eine Zufuhr von 4-8 g/kg/d an Kohlenhydraten, die fast täglich gesteigert wird und ab dem 7. Lebenstag eine empfohlene Menge von 7-16 g/kg/d erreicht. [73] Einzig am 5. Lebenstag lag die Gesamtzufuhr in unserem Kollektiv im Rahmen des enteralen Nahrungsaufbaus minimal unter der empfohlenen Menge (siehe Abbildung 33).

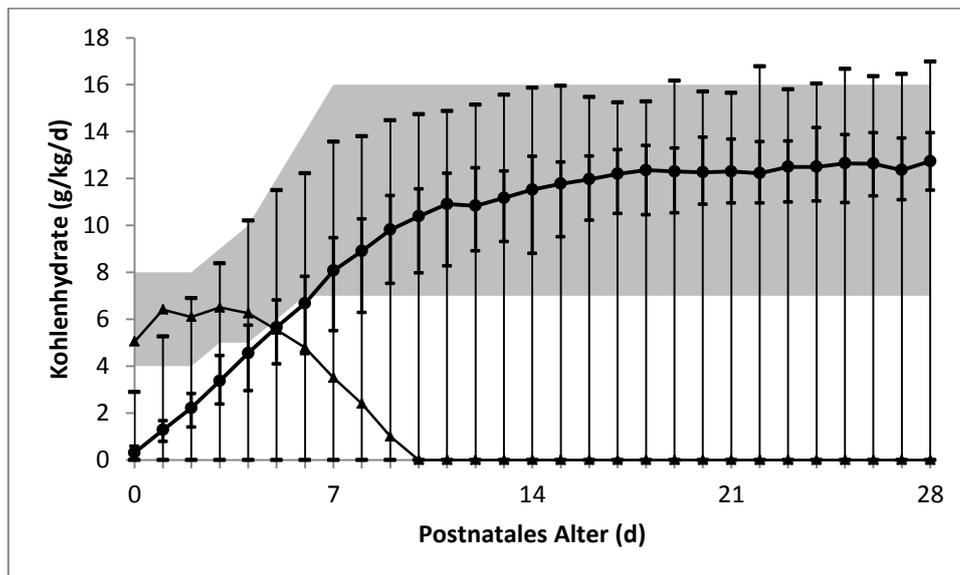


Abbildung 33: Tatsächliche tgl. Kohlenhydratzufuhr und empfohlene Menge. Die enterale Zufuhr ist als schwarze Punkte dargestellt, die parenterale Zufuhr als schwarze Dreiecke (jeweils Median). Die langen vertikalen Balken markieren P25 u. P75 der enteralen Zufuhr, die kurzen vertikalen Balken Minimum und Maximum. Die empfohlene Zufuhr wird durch die grau unterlegte Fläche veranschaulicht.

3.2.5.4 Energie

Um die Cholinzufuhr bei den Patienten unserer Untersuchung in ein Verhältnis zu der Gesamtaufuhr an allen Nährstoffen setzen zu können, wird im Folgenden zur Vervollständigung noch die Gesamtaufuhr an Energie (durch Fett, Proteine und Kohlenhydrate) dargestellt. Hier wird deutlich, dass bis einschließlich zum 4. Lebenstag der Hauptteil der Gesamtenergie auf parenteralem Wege zugeführt wurde. Danach überstieg ab dem 5. Lebenstag die Menge an enteral zugeführter Energie die der parenteral zugeführten Energie. Ab dem 10. Lebenstag waren die Patienten zum größten Teil komplett enteral aufgebaut und die Energiezufuhr geschah fast nur noch auf enteralem Wege. In der 3. Lebenswoche erreichte der Median ein Plateau von 137 kcal/kg/d (25.-75. Perzentile: 121,9-146,6 kcal/kg/d). Auch für die Energiezufuhr spricht die ESPGHAN eine Empfehlung aus, jedoch erst ab dem 6. Lebenstag. Hier wird eine Zufuhr von 70-160 kcal/kg/d empfohlen. Der Median der Energiezufuhr unseres Kollektivs lag bereits ab dem 7. Lebenstag im empfohlenen Bereich, und ab der 3. Lebenswoche siedelte sich der Median sogar im oberen Drittel der empfohlenen Menge an (siehe Abbildung 34).

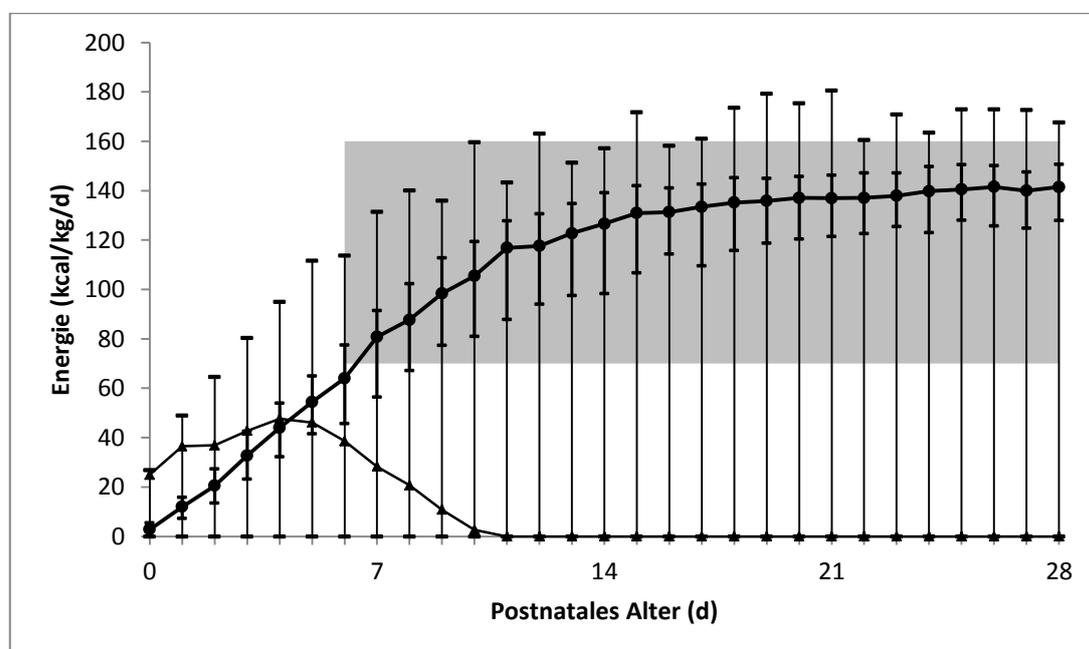


Abbildung 34: Tatsächliche tgl. Energiezufuhr und empfohlenen Menge. Die enterale Zufuhr (in kcal/kg/d) wird durch schwarze Punkte, die parenterale Zufuhr durch schwarze Dreiecke markiert. Die empfohlene Menge ist durch die grau unterlegte Fläche dargestellt. Abbildung selbstständig erstellt in Anlehnung an Fig. 5A aus [81].

3.3 Nachuntersuchung

Prozentualer Anteil der Kinder, die zu den BSID vorgestellt wurden (N=57)	61 %
Prozentualer Anteil der Kinder mit MDI (N=48)	51%
Durchschnittl. korr. Alter bei Vorstellung zu den BSID+SD (m)	22,2 ±3,2

Tabelle 16: Daten zur Nachuntersuchung im Alter von ca. 2 Monaten.

BSID = Bayley Scales of Infant Development; SD=Standard Deviation; m=Monate.

3.3.1 Anteil der Kinder, die zu den Bayley Scales vorgestellt wurden

57 der 93 im Rahmen unserer Studie untersuchten Patienten wurden von ihren Eltern im Sozialpädiatrischen Zentrum der Universitätskinderklinik Tübingen zur Erhebung der Bayley Scales of Infant and Toddler Development wieder vorgestellt. Damit konnten nur bei 61 % des Gesamtkollektivs die Bayley Scales erhoben werden. Bei den übrigen 39 % lagen für ein Versäumen der Wiedervorstellung Gründe wie ein Umzug der Familie mit unbekannter neuer Adresse (2 Patienten), eine ausbleibende Rückmeldung auf die Einladung ins SPZ (2 Patienten), oder das Aufsuchen eines anderen, heimatnahen SPZs (2 Patienten) vor. Des Weiteren wünschten die Eltern von 9 weiteren Patienten keine Erhebung der Bayley Scores. 3 weitere der 93 Patienten waren innerhalb der ersten 3 Lebenstage verstorben. Bei 9 der 57 vorgestellten Patienten wurde die Untersuchung zur Erhebung des mentalen Entwicklungsindex (MDI) der Bayley Scales durchgeführt, jedoch lieferten die Untersuchungen keine auswertbaren Ergebnisse, z.B. aufgrund von Unruhe während der Untersuchung, oder weil das Kind sich nicht auf die Testung einlassen konnte. Somit liegen nur bei 48 Kindern verwertbare Mental Development Indices der Bayley Scales vor (51,6 % des Gesamtkollektivs).

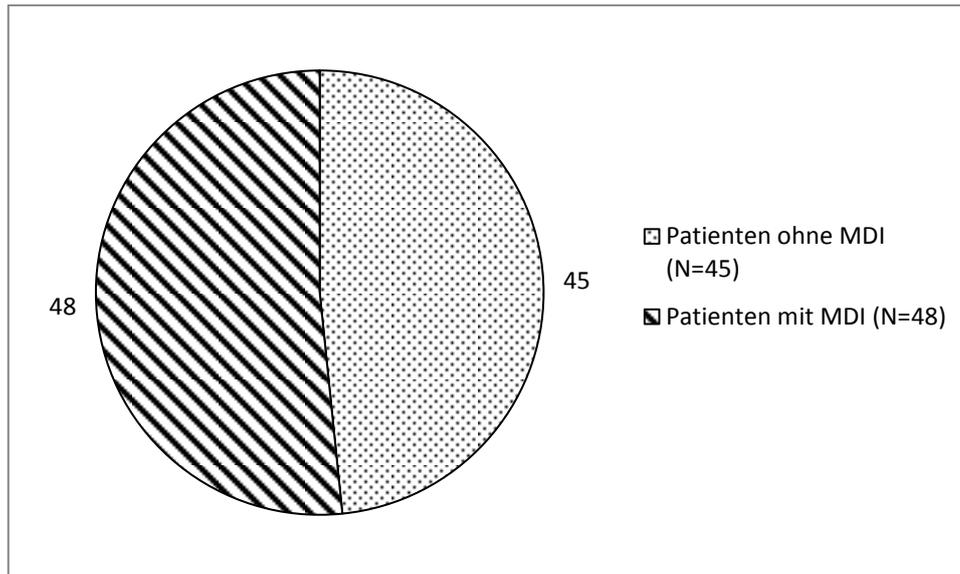


Abbildung 35: Anteil der Patienten mit verwertbarem MDI
Mental Development Index (MDI) der Bayley Scales of Infant Development (BSID); Anteil am
Gesamtkollektiv.

3.3.2 Durchschnittliches Alter bei Vorstellung zu den Bayley Scales

Das durchschnittliche korrigierte Alter bei Vorstellung zur Erhebung des mentalen Entwicklungsindex MDI der Bayley Scales of Infant Development betrug 22,3 Monate (Median; Standardabweichung: 2,5 Monate). Das Maximum war bei 30,9 Monaten zu verzeichnen, das Minimum bei 19,8 Monaten. Das chronologische Alter lag bei 25,5 Monaten (Median).

3.3.3 Ergebnis des MDI der Bayley Scales

3.3.3.1 Der MDI der BSID in unserem Kollektiv

Die 48 untersuchten Kinder in unserem Patientenkollektiv erzielten im Mittel einen mentalen Entwicklungsindex des BSID von 95,5 (Median; Standardabweichung 11,9). Damit liegen sie im Schnitt 4,5 Punkte unter dem Mittelwert für nicht frühgeborene Kinder (100), jedoch noch im Normbereich (85-115).

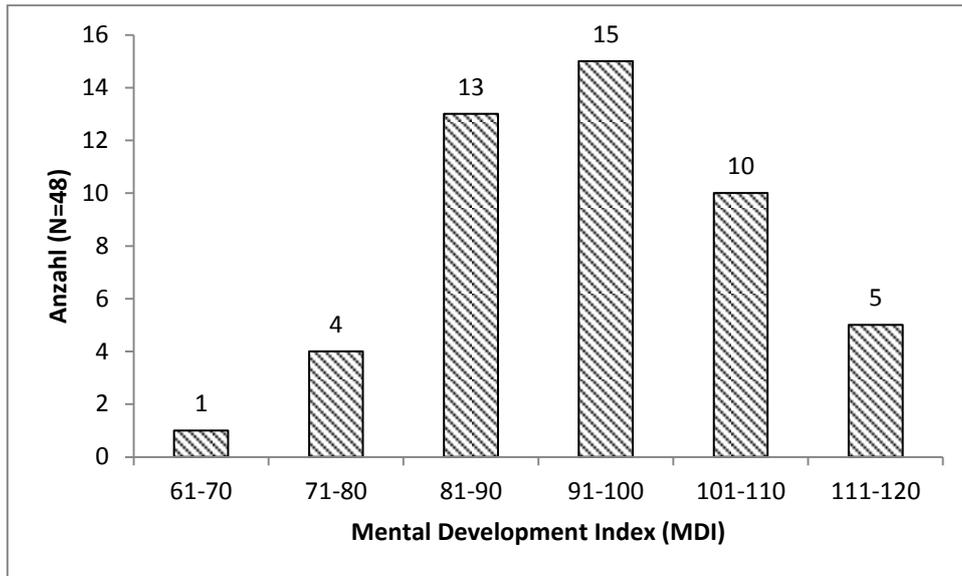


Abbildung 36: Ergebnis des MDI in unserem Kollektiv

Insgesamt erzielten 7 Kinder einen unterdurchschnittlichen MDI von < 85 (14,6%), 39 Kinder einen durchschnittlichen MDI (85-115, 81,3%), und 2 Kinder einen überdurchschnittlichen MDI von >115 (4,2%).

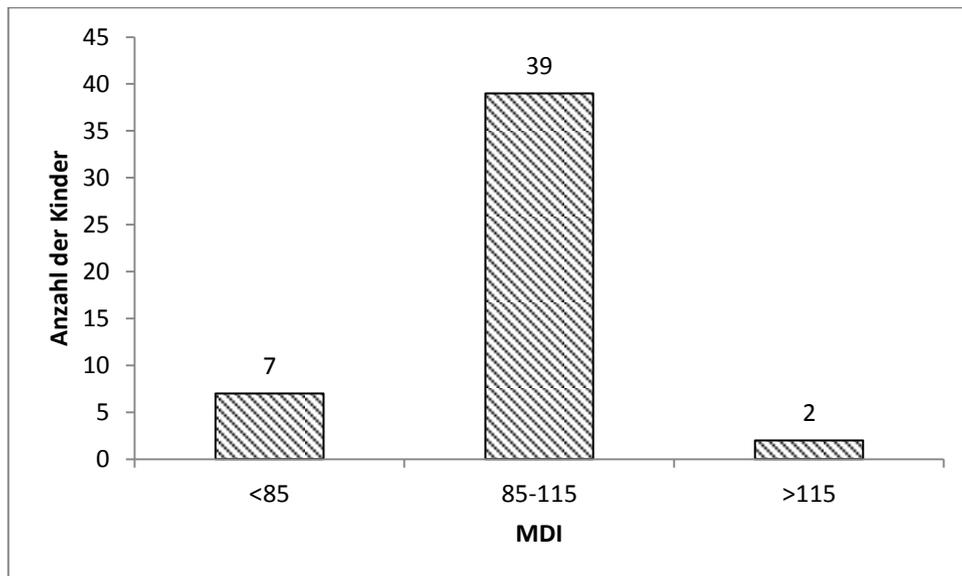


Abbildung 37: Leistungsbeurteilung nach MDI
(unterdurchschnittlich: <85, durchschnittlich: 85-115, überdurchschnittlich: >115).

3.4 Cholinzufuhr und neurokognitive Leistungen

3.4.1 Cholinzufuhr und MDI der Bayley Scales

Um zu bestimmen, ob sich eine erhöhte Cholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage positiv auf die neurokognitive Entwicklung von extremen Frühgeborenen auswirkt, wurden hier die Mental Development Indices (MDI) der Bayley Scales of Infant Development im Alter von ca. 2 Jahren ins Verhältnis zur individuellen Cholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage gesetzt.

3.4.1.1 Cholin parenteral

Zunächst wird die parenterale Cholinzufuhr betrachtet. Auf parenteralem Wege wurde Cholin in den ersten Lebenstagen häufig, aber nicht bei allen Kindern, parenteral über die Fettlösung und die Infusionslösung mit den fettlöslichen Vitaminen zugeführt. Betrachtet man die mittlere tägliche parenterale Cholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage, so kann kein Zusammenhang zwischen parenteraler Cholinzufuhr und der neurokognitiven Leistung hergestellt werden ($p = 0,92$, siehe Abbildung 38).

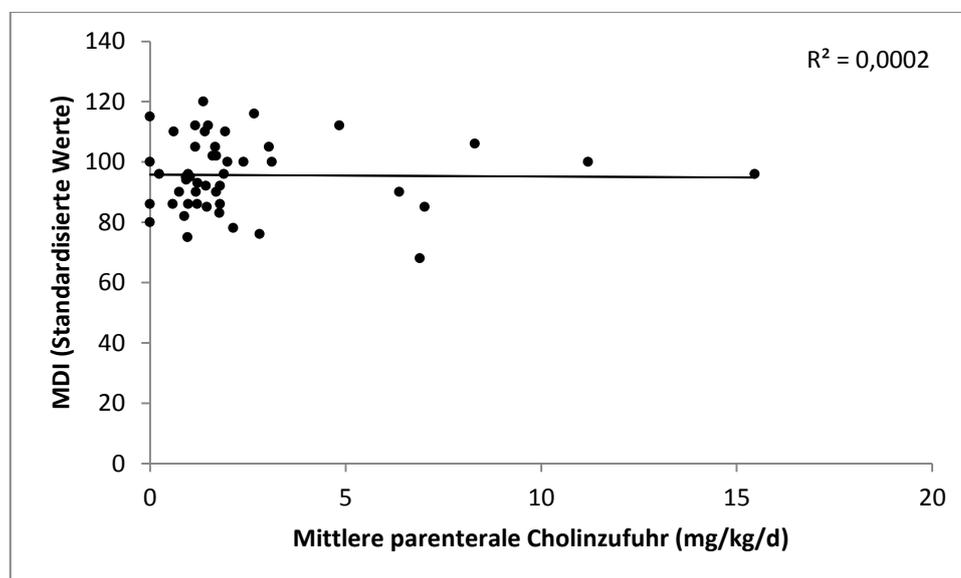


Abbildung 38: MDI und mittlere tgl. parenterale Cholinzufuhr (LT0-28). MDI der 48 untersuchten Kinder (standardisierte Werte), mittlere tägliche parenterale Cholinzufuhr in mg/kg/d; $p=0,92$.

3.4.1.2 Cholin enteral

Die tägliche enteral zugeführte Cholinmenge stieg in der Regel in unserem untersuchten Patientenkollektiv innerhalb der ersten Lebenstage ab dem 1. Lebenstag stetig an und überwog die parenterale Cholinzufuhr ab dem 6. Lebenstag. Setzt man nun die mittlere tägliche enterale Cholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage in ein Verhältnis mit dem Mental Development Index im BSID, so ergibt sich auch hier kein statistisch signifikanter Zusammenhang ($p=0,85$; siehe Abbildung 39).

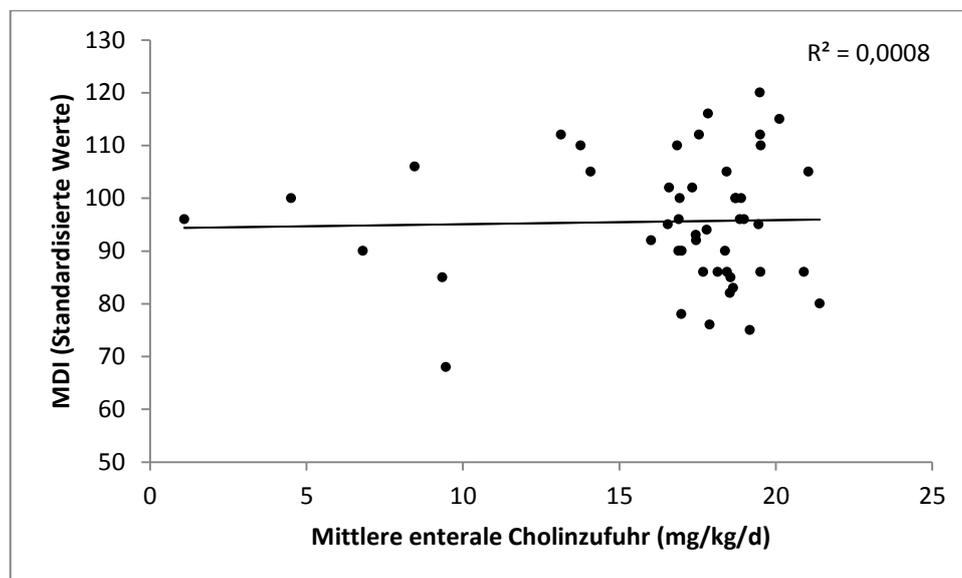


Abbildung 39: MDI und mittlere tgl. enterale Cholinzufuhr (LT 0-28). MDI der 48 untersuchten Kinder (standardisierte Werte), mittlere tägliche enterale Cholinzufuhr in mg/kg/d; $p=0,85$

3.4.1.3 Gesamtcholin

Die Gesamtcholinzufuhr setzt sich aus der parenteralen und der enteralen Cholinzufuhr zusammen. Setzt man die MDIs des BSID ins Verhältnis zur individuellen mittleren täglichen Gesamtcholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage, so zeigt sich auch hier kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der zugeführten Menge an Gesamtcholin und dem MDI des BSID ($p=0,78$, siehe Abbildung 40).

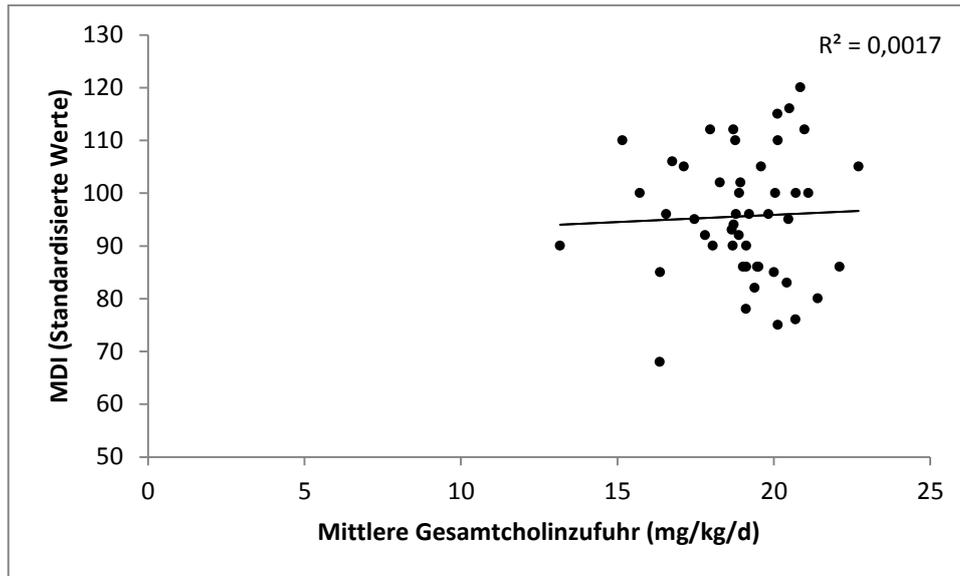


Abbildung 40: MDI und mittlere tgl. Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28)
 MDI: standardisierte Werte, mittlere tägliche Gesamtcholinzufuhr in mg/kg/d; $p=0,78$

3.4.2 Cholinzufuhr und SD-Score des Kopfumfangs

Es ist bekannt, dass ein größerer Kopfumfang bei VLBW-Frühgeborenen mit einem besseren neurologischen Outcome (IQ sowie Test of Motor Impairment) assoziiert ist. [128] [129] Deshalb untersuchten wir, ob die Menge an zugeführtem Cholin positiv mit dem Kopfumfang assoziiert ist. Da besonders die Differenz aus dem SD-Score des Kopfumfangs bei Entlassung und dessen bei Geburt (und damit das frühe postnatale Kopfumfangswachstum) das neurologische Outcome beeinflussen [85], zogen wir zur Auswertung den SD-Score des Kopfumfangs bei Entlassung heran.

3.4.2.1 Parenterale Cholinzufuhr und Kopfumfang

Setzt man die parenterale Cholinzufuhr über die ersten 28 Lebenstage und den SDS des Kopfumfangs bei Entlassung in ein Verhältnis zueinander, so sieht man, dass diejenigen Kinder, die höhere Cholinmengen auf parenteralem Wege bekamen, einen tendenziell niedrigeren SDS des Kopfumfangs bei Entlassung hatten ($p=0,03$, siehe Abbildung 41).

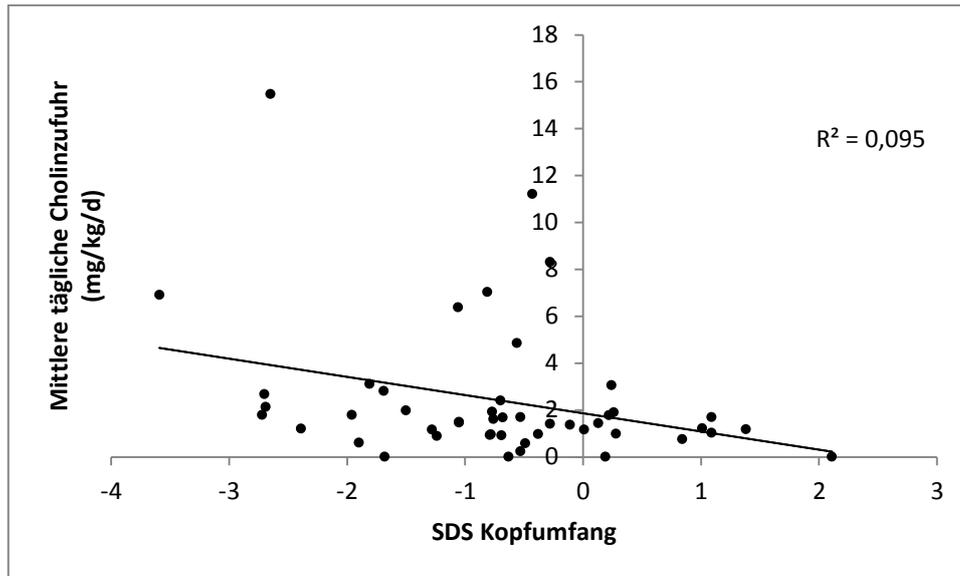


Abbildung 41: Parent. Cholinzufuhr (LT 0-28) und SDS des Kopfumfangs.
SDS: Standard Deviation Score; Kopfumfang zum Zeitpunkt der Entlassung; $p=0,03$

3.4.2.2 Enterale Cholinzufuhr und SD Score des Kopfumfangs

Hier zeigte sich bei Kindern mit einer höheren enteralen Cholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage bei Entlassung tendenziell ein größerer Kopfumfang (siehe Abbildung 42). Dies ist jedoch nur als Beobachtung und nicht als statistisch signifikant zu werten ($p=0,19$).

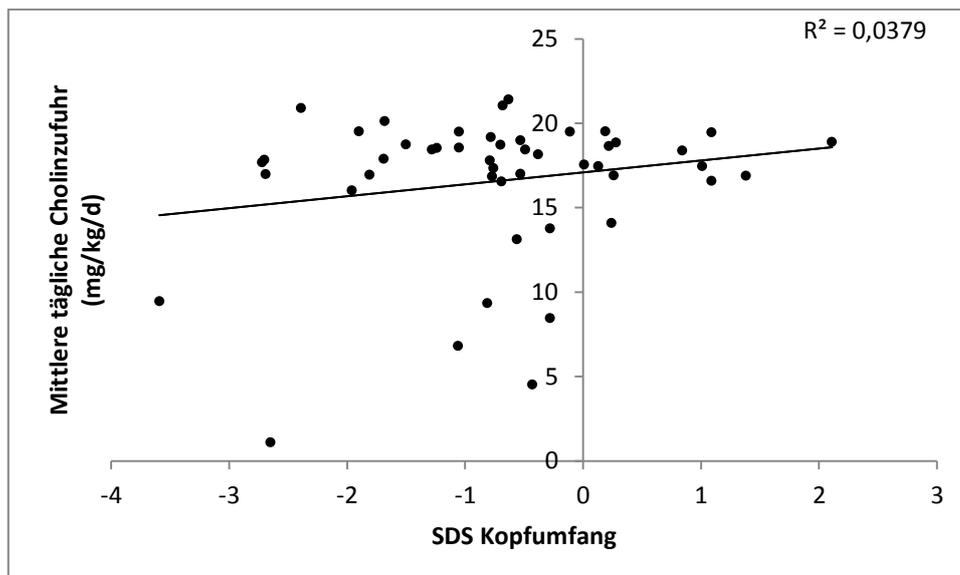


Abbildung 42: Enterale Cholinzufuhr (LT 0-28) und SDS des Kopfumfangs.
SDS: Standard Deviation Score; Kopfumfang zum Zeitpunkt der Entlassung; $p=0,19$

3.4.2.3 Gesamtcholinzufuhr und Kopfumfang

Setzt man die Gesamtcholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage in ein Verhältnis zum SDS des Kopfumfangs, so zeigt sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang. Ebenso wie beim parenteralen Cholin lässt sich ein tendenziell leicht negativer Zusammenhang ohne statistische Signifikanz ($p=0,76$) beobachten. Kinder, die mehr Gesamtcholin innerhalb der ersten 28 Lebenstage erhalten hatten, zeigten tendenziell kleinere Kopfumfänge (siehe Abbildung 43). Patienten, die > 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhielten, hatten mit einem SDS von im Mittel $-1,085$ bei Entlassung einen kleineren Kopfumfang als Patienten, die < 20 mg/kg/d an Gesamtcholin bekommen hatten (SDS $-0,529$).

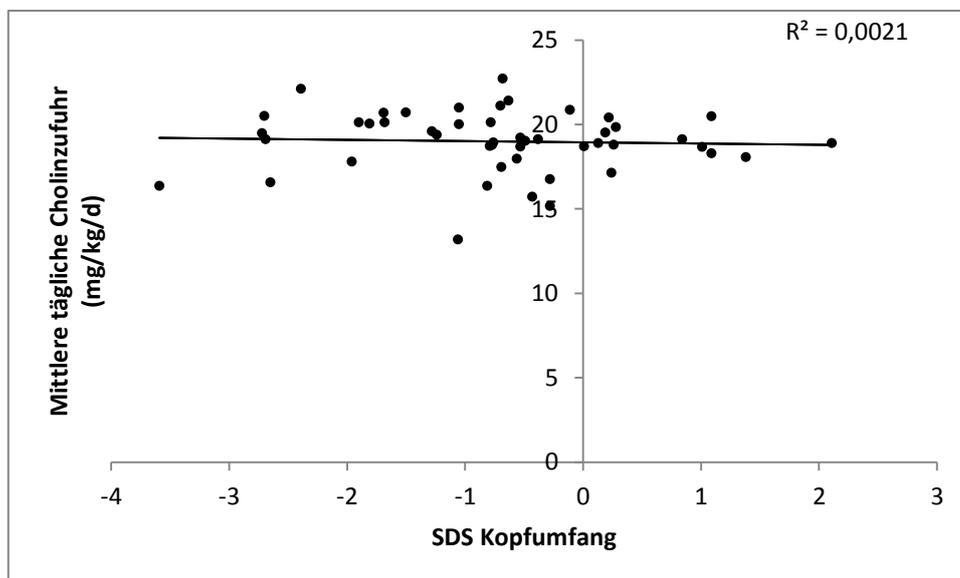


Abbildung 43: Gesamtcholinzufuhr (LT 0-28) und SDS des Kopfumfangs.
SDS: Standard Deviation Score; Kopfumfang zum Zeitpunkt der Entlassung; $p=0,76$

3.4.3 Cholinzufuhr und weitere neurologische Outcomegrößen

Um herauszufinden, ob die Menge an zugeführtem Cholin auch eine Auswirkung auf andere Outcomegrößen hat, wird im Folgenden die Rate an Zerebralpareesen, Frühgeborenenretinopathie (Retinopathia praematurorum), sowie die Ergebnisse in der Motorischen Skala der Bayley Scales of Infant Development (Fein- und Grobmotorik) und der GMFCS in Abhängigkeit von der Cholinzufuhr untersucht.

3.4.3.1 Cholinzufuhr und Entwicklung einer Cerebralparese

Für 70 von den ursprünglich 96 Patienten wurden Daten zum Vorliegen einer Zerebralparese erhoben. Nur 2 der 70 Patienten hatten bei Nachuntersuchung eine Zerebralparese, dabei handelte es sich um jeweils eine unilateral-spastische CP (Patient Nr. 65), sowie eine bilateral-spastische CP (Patient Nr. 23). Beide Patienten gehörten zur Gruppe der Kinder, die innerhalb der ersten 28 Lebenstage < 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatten (insgesamt 47 von 70 Kindern); interessanterweise waren sie auch die beiden einzigen Kinder, die sogar < 10 mg/kg/d an Gesamtcholin bekommen hatten. Alle 23 Kinder mit einer Gesamtcholinzufuhr von > 20 mg/kg/d hatten keine Cerebralparese (siehe Abbildung 44).

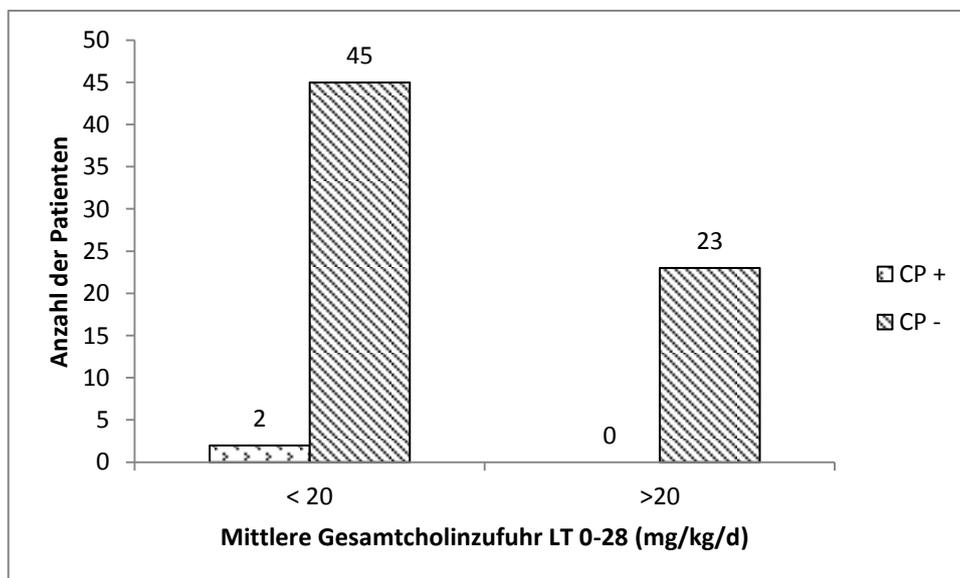


Abbildung 44: CP in Abhängigkeit von der Gesamtcholinzufuhr.
Fisher's Exakt-Test: $p=1$; CP+: Vorliegen einer Cerebralparese, CP-: Keine Cerebralparese

Damit lag bei 4,3 % der Patienten, die < 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatten, eine CP vor, während in der Gruppe mit einer Zufuhr von > 20 mg/kg/d keine CP auftrat. Dies ist jedoch nur als Beobachtung, nicht als Tatsache von statistischer Signifikanz ($p=1$ im Fisher's Exakt-Test) zu werten. Es ließ sich kein relevanter Zusammenhang nachweisen.

3.4.3.2 Cholin und Grobmotorik (Motor Scale des BSID)

Als nächstes wurde der Zusammenhang zwischen der Gesamtcholinzufuhr und der Beurteilung der Grobmotorik in der Motor Scale der Bayley Scales of Infant Development betrachtet. Es lag für 70 der ursprünglich 96 Kinder ein Wert für die Grobmotorik vor. Aus der Gruppe der Patienten mit < 20 mg/kg/d Gesamtcholinzufuhr in den ersten 28 Lebenstagen zeigten 69% eine unauffällige Grobmotorik, 19% eine verdächtige Grobmotorik und 8% erwiesen sich als ungeschickt im Bereich der Grobmotorik. Weitere 4% zeigten sich retardiert in der Grobmotorikuntersuchung, ohne eine Cerebralparese vorzuweisen (siehe Abbildung 45).

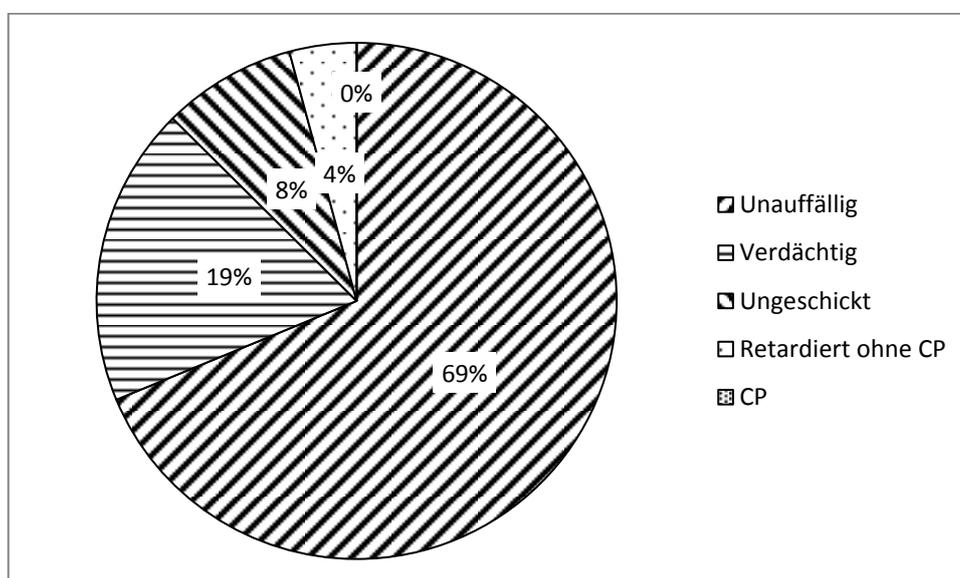


Abbildung 45: Grobmotorik bei Gesamtcholinzufuhr < 20 mg/kg/d (n=48).
31% der Kinder mit einer Gesamtcholinzufuhr < 20 mg/kg/d zeigten sich auffällig im Bereich der Grobmotorik.

22 der 70 auf Grobmotorik untersuchten Kinder hatten innerhalb der ersten 28 Lebenstage > 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten. Aus dieser Gruppe zeigte mit 86% ein größerer Anteil eine unauffällige Grobmotorik, 9% eine verdächtige Grobmotorik und 5% erwiesen sich als ungeschickt im Bereich der Grobmotorik (siehe Abbildung 46).

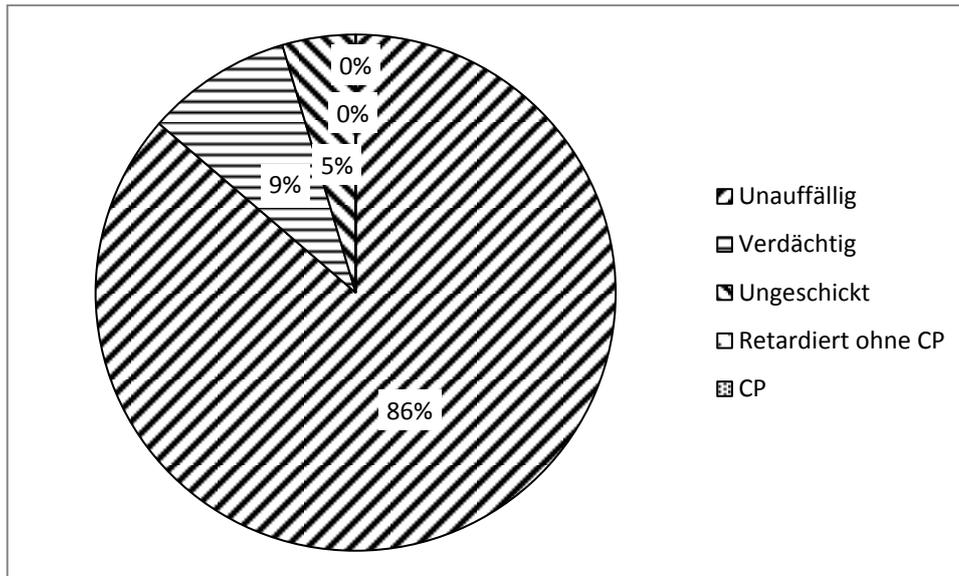


Abbildung 46: Grobmotorik bei Gesamtcholinzufuhr > 20 mg/kg/d (n=22).
Nur 14% der Kinder mit einer Gesamtcholinzufuhr > 20mg/kg/d zeigten sich im Bereich der Grobmotorik auffällig.

Insgesamt lässt sich tendenziell ein besseres Abschneiden der Kinder mit der höheren Gesamtcholinzufuhr beobachten, jedoch besteht kein relevanter Zusammenhang (siehe Abbildung 47).

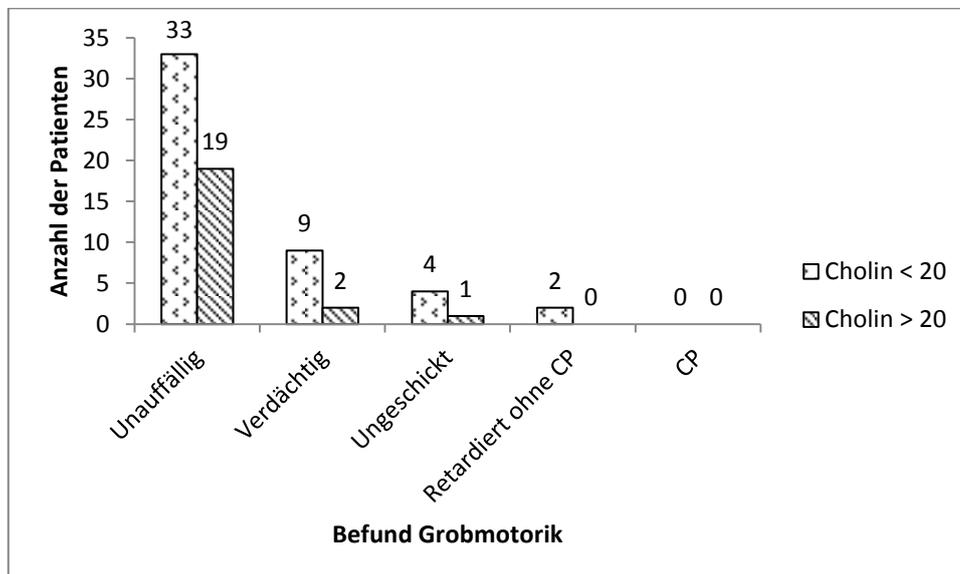


Abbildung 47: Vergleich der Grobmotorik bei unterschiedlicher Cholinzufuhr.
Cholin < 20: Gesamtcholinmenge LT 0-28 < 20 mg/kg/d, Cholin > 20: Gesamtcholinmenge LT 0-28 > 20 mg/kg/d.

3.4.3.4 Cholin und Feinmotorik (Motor Scale des BSID)

In der Gruppe der Kinder, die innerhalb der ersten 28 Lebenstage < 20 mg/kg/d Gesamtcholin erhalten hatten (n=50), zeigten 43 Kinder (86%) eine unauffällige Feinmotorik, 1 Kind zeigte sich ungeschickt (2%), 4 Kinder (8%) waren im Bereich der Feinmotorik als retardiert einzustufen ohne Vorliegen einer Cerebralparese, und bei 2 Kindern (4%) lag eine Cerebralparese mit deutlicher Einschränkung der Feinmotorik vor (siehe Abbildung 48).

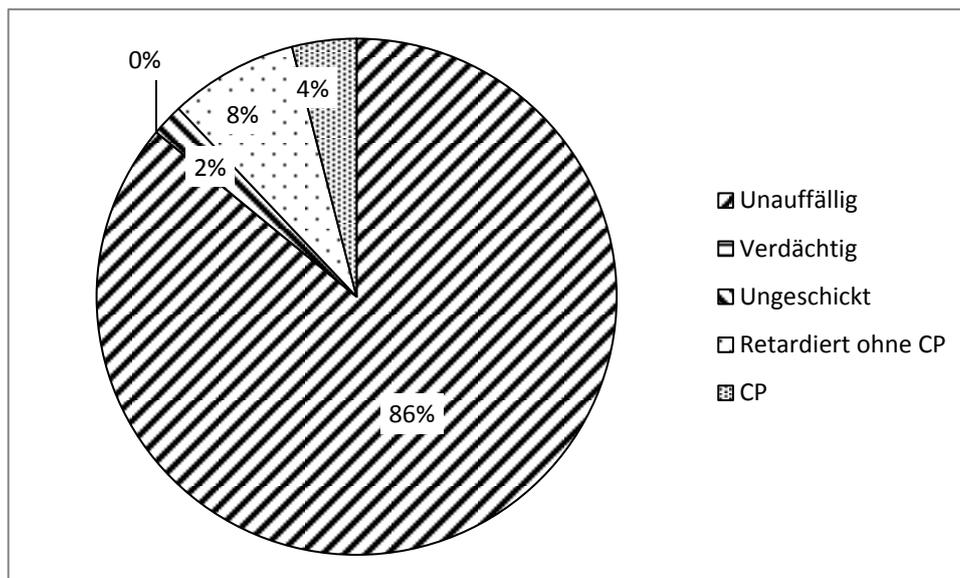


Abbildung 48: Feinmotorik bei Gesamtcholinzufuhr < 20 mg/kg/d (n=50).

14% der Kinder mit einer Gesamtcholinzufuhr < 20mg/kg/d zeigten sich auffällig im Bereich der Feinmotorik.

22 der 72 auf Feinmotorik untersuchten Kinder hatten innerhalb der ersten 28 Lebenstage > 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten. Aus dieser Gruppe zeigte mit 95% ein größerer Anteil eine unauffällige Feinmotorik, und nur 5% erwiesen sich als ungeschickt im Bereich der Feinmotorik (siehe Abbildung 49).

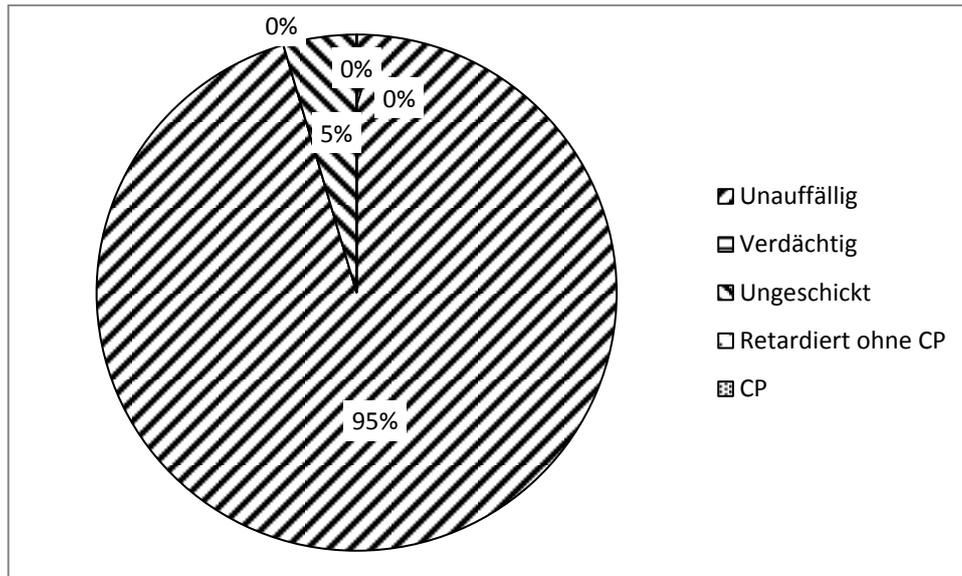


Abbildung 49: Feinmotorik bei Gesamtcholinzufuhr > 20 mg/kg/d (n=22).
 Nur 5% der Kinder mit einer Gesamtcholinzufuhr > 20 mg/kg/d zeigte sich auffällig im Bereich der Feinmotorik.

Insgesamt lässt sich auch hier tendenziell ein besseres Abschneiden der Kinder mit der höheren Gesamtcholinzufuhr beobachten, jedoch kein relevanter Zusammenhang (siehe Abbildung 50).

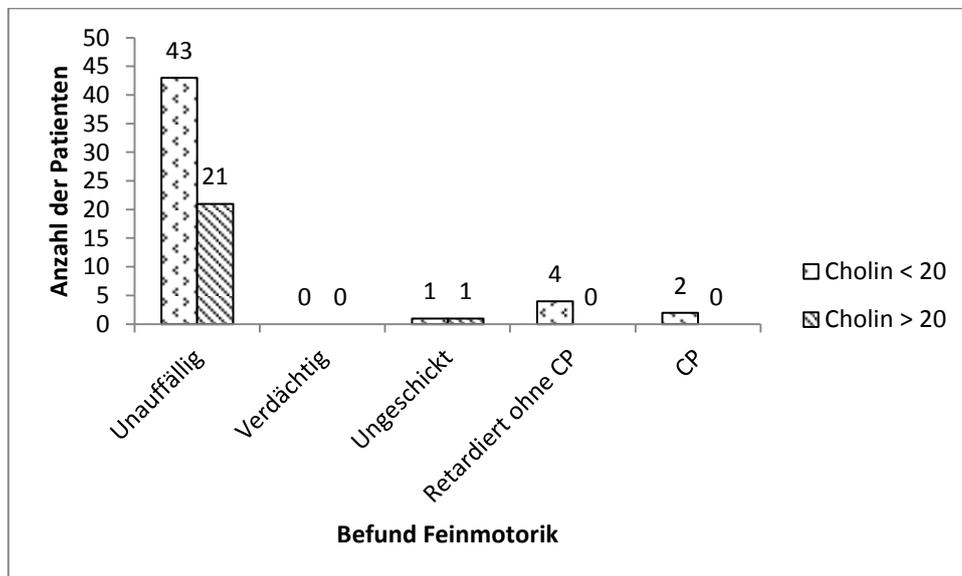


Abbildung 50: Vergleich der Feinmotorik bei unterschiedlicher Cholinzufuhr.
 Cholin < 20: Gesamtcholinmenge LT 0-28 < 20 mg/kg/d, Cholin > 20: Gesamtcholinmenge LT 0-28 > 20 mg/kg/d.

3.4.3.5 Cholin und ROP

Zu 87 von 96 Kindern lagen Angaben zum Auftreten einer Retinopathia praematurorum vor. In dieser Gruppe hatten 62 Kinder innerhalb der ersten 28 Lebenstage < 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten. Davon litten 44% der Kinder zu keiner Zeit an einer Retinopathia praematurorum (n=27). Bei 18 Kindern erreichte der maximale Grad der ROP Grad I; 9 Kinder litten an einer ROP II° und 8 Kinder an einer ROP III° (siehe Abbildung 51).

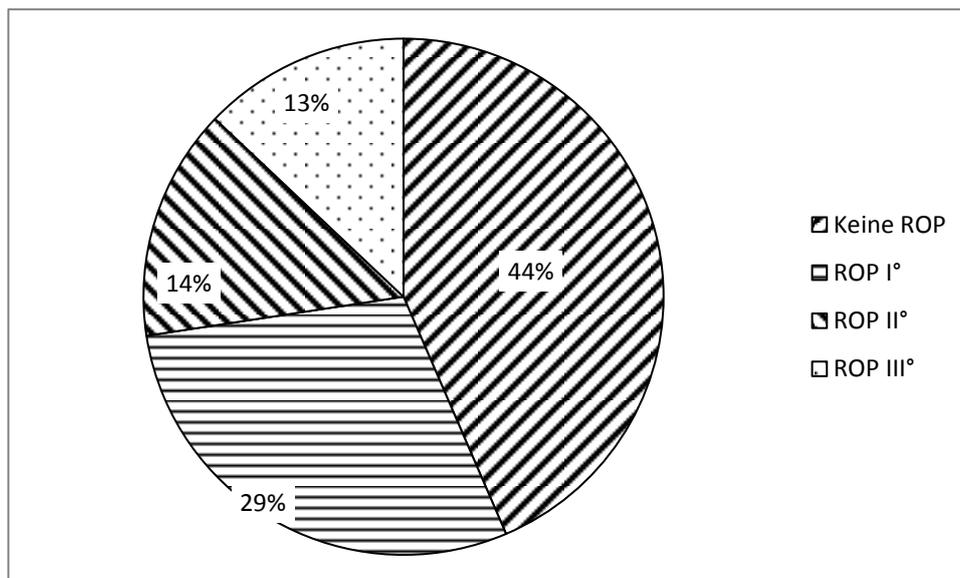


Abbildung 51: ROP bei Gesamtcholinzufuhr < 20 mg/kg/d (n=62).

Nur 44 % der Kinder mit <20 mg/kg/d Gesamtcholinzufuhr hat keine Retinopathie entwickelt. Bei den Kindern mit Retinopathie ist die ROP I° am stärksten vertreten. Nur 13% entwickelten zum Zeitpunkt der maximalen Schwere eine ROP III°.

In der Gruppe der Patienten, die innerhalb der ersten 28 Lebenstage > 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatte, sind 25 Kinder mit zuverlässigem Wert zur ROP vertreten. Hier entwickelten 14 Kinder keine Retinopathie (56%), 7 eine ROP I° (28%), 2 eine ROP II° (8%) und 2 Kinder eine ROP III° (8%; siehe Abbildung 52).

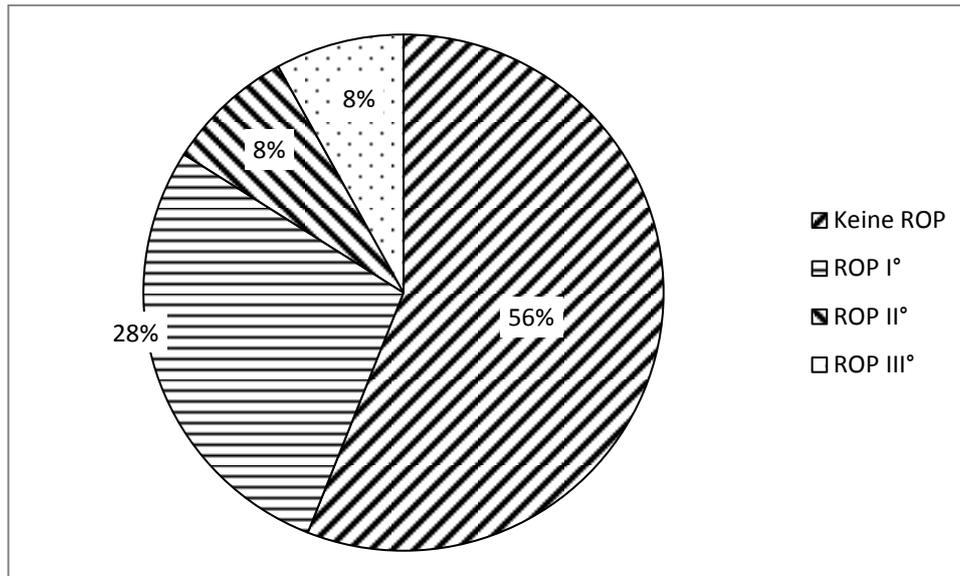


Abbildung 52: ROP bei Gesamtcholinzufuhr > 20 mg/kg/d (n=25).
 Hier entwickelten 56 % der Kinder in der Gruppe mit >20 mg/kg/d Gesamtcholinzufuhr keinerlei Retinopathie. Bei den Kindern mit Retinopathie ist auch die ROP I° am stärksten vertreten.

Damit entwickelte in der Gruppe der Kinder mit einer höheren Cholinzufuhr ein kleinerer Anteil eine Retinopathie (44%) im Gegensatz zu 56 % in der Gruppe mit der niedrigeren Cholinzufuhr. Dies ist jedoch ebenso als Beobachtung, nicht als Tatsache von statistischer Signifikanz zu werten ($p=0,35$ im Fisher's Exakt-Test).

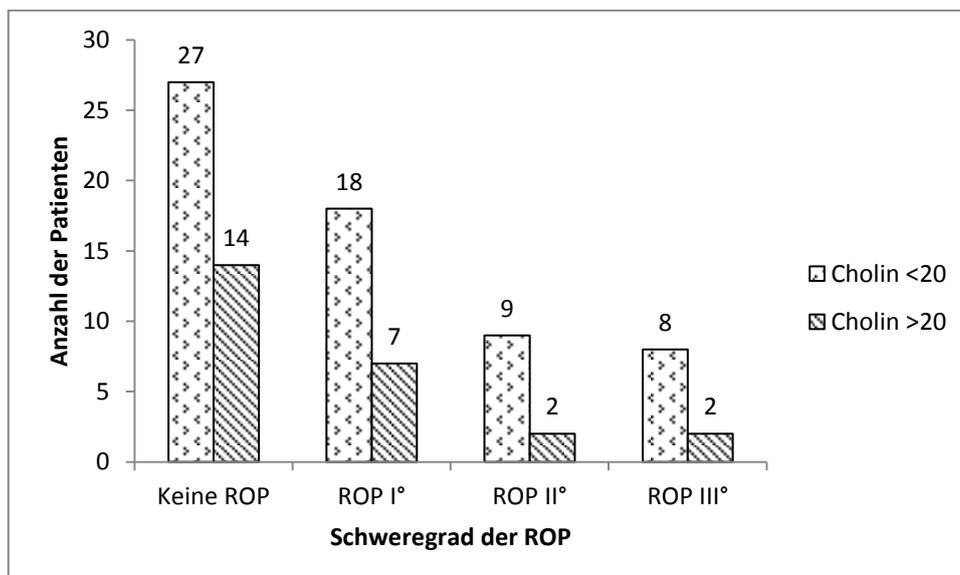


Abbildung 53: Auftreten einer ROP bei unterschiedlicher Cholinzufuhr.
 Tendenziell zeigen die Patienten mit einer geringeren Zufuhr ein erhöhtes Risiko für eine höhergradige ROP; $p=0,35$.

4 Diskussion

Ziel der Studie war es, herauszufinden, wie der aktuelle tatsächliche Versorgungsstand Extremfrühgeborener mit Cholin ist. Des Weiteren sollte ermittelt werden, ob bei den Extremfrühgeborenen unserer Studie ein Zusammenhang zwischen der Versorgung mit Cholin und ihrer neurokognitiven Entwicklung im Alter von 2 Jahren besteht. Im Folgenden sollen zunächst die in meiner Doktorarbeit angewendeten Methoden hinterfragt werden. Danach wird die tatsächliche Versorgung unserer Patienten mit Cholin und den weiteren untersuchten Nährstoffen kritisch beleuchtet. Abschließend werden die Ergebnisse der Nachuntersuchung im Alter von ca. zwei Jahren und ein möglicher Zusammenhang mit der Versorgung der Frühgeborenen mit Cholin diskutiert.

4.1 Methodenkritik

4.1.1 Patientengut

Das Patientenkollektiv bestand insgesamt aus 96 Extremfrühgeborenen mit einem Reifealter von ≤ 28 vollendeten SSW und/oder einem Geburtsgewicht von < 1000 g. Drei dieser Kinder verstarben noch innerhalb der ersten 72 Lebensstunden und konnten deshalb nichts zur allgemeinen Versorgung mit Cholin beitragen. Sie wurden daher nachträglich von der Untersuchung ausgeschlossen. Damit umfasste das Patientenkollektiv bei der Untersuchung der tatsächlichen postnatalen Nährstoffversorgung 93 Kinder.

Vier weitere Patienten verstarben innerhalb der ersten 27 Lebenstage und ein Patient am 48. Lebenstag. Die Daten zur Ernährung dieser fünf Kinder wurden im Rahmen unserer Studie verwendet, allerdings waren bei ihnen keine Daten zur neurokognitiven Entwicklung im Alter von zwei Jahren verfügbar. Bei der Untersuchung der neurokognitiven Entwicklung konnten insgesamt nur 48 Kinder (51,6 % des Gesamtkollektivs) miteinbezogen werden, da fünf Kinder verstorben waren, einige Kinder von ihren Eltern im Alter von zwei Jahren nicht im SPZ vorgestellt wurden (unbekannt verzogen, Aufsuchen eines heimatnahen SPZ, ausbleibende Rückmeldung auf die Einladung ins SPZ, Erhebung der

Bayley Scales nicht erwünscht; 31 Kinder) oder die Erhebung des MDI trotz zeitgerechter Vorstellung im SPZ nicht möglich war (Unruhe des Kindes bei der Untersuchung, unzureichendes Einlassen auf die Testung, 9 Kinder). Geht man von 88 Patienten aus, die bis zu einem Alter von 2 Jahren überlebt hatten und theoretisch für eine entwicklungsneurologische Untersuchung zur Verfügung standen, so liegt bei den im Endeffekt 57 vorgestellten Kindern die Dropout-Rate bei 35,3 % und damit über dem maximal tolerablen Wert von 20 % [130]. Geht man davon aus, dass nur bei 48 Kindern ein verwertbarer MDI-Wert vorlag, so liegt die Dropout-Rate sogar bei 45,5 %. Bei Dropout-Raten in dieser Höhe müssen alle Ergebnisse mit großer Vorsicht interpretiert werden.

Des Weiteren könnten die Ergebnisse für die MDI-Werte insofern verfälscht sein, als dass erfahrungsgemäß in der Regel vor allem jene Kinder zur Nachuntersuchung nach 2 Jahren vorgestellt werden, die höhere Entwicklungsquotienten vorweisen können, als die Kinder, die nicht vorgestellt werden [131]. Der bei uns vorliegende Verlust an Patienten deckt sich jedoch gut mit den Beobachtungen anderer wissenschaftlicher Arbeiten, wo nachgewiesen werden konnte, dass 10-26 % aller Patienten pro Jahr für Nachfolge-Untersuchungen (sogenannte „Follow-Up-Untersuchungen“) verlorengehen. [132]

Die Patientenzahl von 93 Kindern ist im Vergleich mit anderen in wissenschaftlichen Journalen veröffentlichten Arbeiten zur neurokognitiven Entwicklung Extremfrühgeborener eher gering (1056 Patienten in [132], 872 Patienten in [133, 134], 1151 Patienten in [135], 2707 Patienten in [136], 283 Patienten in [137], 490 Patienten in [82] und 221 Patienten in [138]). Allerdings handelt es sich bei diesen Arbeiten überwiegend um multizentrische Studien (außer bei [133, 134, 138]). In anderen Single-Center-Studien wiederum, die hier zum Vergleich herangezogen wurden, war die Patientenzahl ähnlich oder geringer als in unserer Arbeit (98 Patienten in [139], 54 Patienten in [140] und 24 Patienten in [141]). Im Wesentlichen lassen so geringe Patientenzahlen jedoch keine fundierten Schlussfolgerungen zu, insbesondere sind

differenzierte multivariate Analysen in der Regel nicht möglich. Dies gilt auch für die vorliegende Untersuchung.

Die Stärke unserer Studie besteht jedoch darin, dass es sich um ein Kollektiv besonders unreifer Kinder handelt. Das durchschnittliche Gestationsalter unseres Patientenkollektivs lag bei $26,1 \pm 2,2$ SSW. Die größte Gruppe bildeten diejenigen Kinder, die mit 24 vollendeten SSW geboren waren (19% unseres Kollektivs). In vergleichbaren Studien, in denen die neurokognitive Entwicklung von Extremfrühgeborenen beurteilt wurde, waren die Kinder durchschnittlich ähnlich unreif (26 SSW in [132], $25,6 \pm 2,1$ SSW in [133, 134], 26 SSW in [135], $\leq 25+6$ SSW in [137]) oder sogar reifer ($26,3 \pm 1,9$ SSW in [142], 26,4 SSW in [138], 26,4 SSW in [82], $26,6 \pm 2$ SSW in [143], $27,2 \pm 2$ SSW in [140], $27,3 \pm 2,2$ SSW in [141]). Ebenso ist unser Patientenkollektiv verhältnismäßig leicht; das durchschnittliche Geburtsgewicht lag bei 758 ± 202 g und ist damit ähnlich wie das durchschnittliche Geburtsgewicht in [142] (792 ± 134 g), in [132] (796 g), in [135] (GG 796 ± 135 g), in [82] (800,5 g), in [144] (811 g), und in [140] (864 ± 99 g).

Damit liegen die Schwächen unseres Patientenkollektivs in der verhältnismäßig niedrigen Patientenzahl und der hohen Dropout-Rate bei der Nachuntersuchung; die Stärken dafür in der extremen Unreife der Kinder mit sehr unreifem Gestationsalter, niedrigem Geburtsgewicht und einem Anteil von 95% an ELBW-Kindern am Gesamtkollektiv. Aufgrund der genannten Schwächen müssen alle Analysen als explorativ, Hypothesen-generierend, eingeschätzt werden. Insbesondere alle Betrachtungen, die sich auf die langfristige Entwicklung der Kinder beziehen, lassen keine verallgemeinerbare Schlussfolgerung zu.

4.1.2 Erfassung der tatsächlichen Nährstoffzufuhr

Die Daten zur parenteralen Ernährung wurden direkt der Medipäd-Datenbank der Abteilung für Neonatologie entnommen, und sind somit wenig fehleranfällig. Die Daten zur enteralen Ernährung jedoch mussten aus den handschriftlichen Einträgen aus Papierkrankenakten abgelesen werden. Hierbei konnte an vereinzelten Tagen bei manchen Kindern nicht eindeutig zugeordnet werden,

ob ein Kind Muttermilch oder stattdessen Frühgeborenenahrung erhalten hatte. In diesen Fällen wurde ein Mittelwert gebildet und mit diesem Mittelwert die Nährstoffzufuhr berechnet. Dies könnte die Werte der tatsächlichen Nährstoffzufuhr verfälschen. Ebenso unterscheidet sich der Nährstoffgehalt von Muttermilch von verschiedenen Müttern, und je nach zeitlichem Abstand zur Geburt, oder sogar je nach Tageszeit, in der Zusammensetzung teilweise erheblich voneinander. [72, 145-148] Diese intra- und interindividuellen Unterschiede in der Zusammensetzung der Muttermilch führen ebenso dazu, dass die tatsächliche Nährstoffzufuhr beim Frühgeborenen nicht ganz exakt eingeschätzt werden kann – vielmehr wurde ein durchschnittlicher Gehalt der Muttermilch über die gesamte Laktationsperiode und das gesamte Kollektiv angenommen.

Zuletzt ist auch die individuelle Makronährstoffaufnahme des einzelnen Frühgeborenen aufgrund der Unreife des Darms, aufgrund des First-Pass-Effekts im Splanchnikusgebiet mit einer Utilisation von mehr als 50% des enteral zugeführten Proteins, und aufgrund von Erkrankungen und damit einhergehenden Komplikationen wie NEC und darauffolgende Enterostoma-Anlagen sehr unterschiedlich, sodass selbst bei exakt gleicher Nährstoffzufuhr noch nicht davon auszugehen ist, dass alle Patienten die Nährstoffe zu gleichen Anteilen aufnehmen und verwerten konnten. [149]

4.1.3 Die Bayley Scales of Infant and Toddler Development

Es ist schon lange bekannt, dass besonders Frühgeborene mit niedrigem Geburtsgewicht (wie ELBW- und VLBW-Kinder) ein hohes Risiko für neurokognitive und körperliche Beeinträchtigungen tragen. [133, 150-159] Insbesondere ehemaligen Extremfrühgeborenen drohen in ihrer weiteren Laufbahn neben kognitiven Einschränkungen und Entwicklungsverzögerungen nicht selten auch Lernbehinderungen, Verhaltensauffälligkeiten und emotionale Störungen. [160] In einer Studie von Saigal et al. (2003) benötigten mehr als die Hälfte der 532 untersuchten ehemaligen ELBW-Frühgeborenen aus Bayern, Ontario, New Jersey und den Niederlanden im Alter von 8-11 Jahren eine spezielle Lernförderung und/oder hatten eine Klasse wiederholt. [161] Auch im

jungen Erwachsenenalter haben ehemalige ELBW-Frühgeborene ein höheres Risiko für eine kognitive Einschränkung als reifgeborene Kinder. In einer Studie von Lefebvre et al. (2005) hatten ehemalige ELBW-Frühgeborene im Alter von 18 Jahren im Schnitt einen IQ im Normbereich, jedoch lag der Mittelwert des Kollektivs eine Standardabweichung unter dem Mittelwert gleichaltriger ehemaliger Reifgeborener. [162] Deshalb ist eine regelmäßige und engmaschige Untersuchung der ehemaligen Extremfrühgeborenen auf Entwicklungsdefizite unabdingbar, damit rechtzeitig Fördermaßnahmen zum Ausgleich der Defizite ergriffen werden können. Die Kinder unseres Kollektivs wurden bezüglich ihrer neurokognitiven Leistungen anhand der 2. Fassung der Bayley Mental Scale aus dem Jahre 1993 untersucht. [118] Bei den Bayley Scales of Infant and Toddler Development handelt es sich um das am häufigsten verwendete entwicklungsdiagnostische Verfahren zur Beurteilung der kognitiven und psychomotorischen Leistungen von Kleinkindern bis zu einem Alter von 42 Monaten. [144, 163] Die BSID-II lagen seit 2007, und damit auch zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung unseres Patientenkollektivs (2008-2009), in einer deutschsprachigen Version vor, jedoch ohne deutsche Normierung. [163] Die BSID-II waren in Anlehnung an die Bevölkerungsverteilung der USA im Jahre 1988 erarbeitet worden; damit stammte die Normierung von englischsprachigen Kindern und es lag für anderssprachige Patientengruppen keine Standardisierung vor. [141] Es ist also möglich, dass für eine zuverlässigere Beurteilbarkeit unseres Kollektivs eine Normierung für den deutschsprachigen Raum angepasst hätte werden müssen; dies geschah jedoch erst im Jahre 2015 für die 2006 für den angloamerikanischen Raum erarbeiteten, und 2014 durch Rosenkranz et al. ins Deutsche übersetzten, Bayley Scales of Infant and Toddler Development-III. [163] Außerdem wurde nachgewiesen, dass die kognitiven Leistungen von VLBW-Frühgeborenen, wenn sie mit Hilfe der BSID-II ermittelt werden, häufig überschätzt werden, sofern die Testergebnisse mit den im Handbuch angegebenen Standardisierungswerten verglichen werden. [164, 165] Wolke et al. (1997) zeigten, dass bei mehr als doppelt so vielen ehemaligen VLBW-Frühgeborenen eine neurokognitive Beeinträchtigung nachgewiesen konnte, wenn ihre

Leistungen anstatt mit den Standardisierungswerten aus dem Handbuch des BSID-II, mit aktuellen Normwerten von einer repräsentativen Normierungsstichprobe reifer Kinder desselben Jahrgangs verglichen wurden. [164] Dies liegt daran, dass hier zum Vergleich ein Kollektiv mit vergleichbaren Ausgangsparametern in vergleichbarem kulturellem und sozialem Umfeld herangezogen wurde, während die Untersuchung der Kinder unseres Kollektivs erst 20 Jahre nach der Untersuchung des Normierungskollektivs der BSID-II erfolgte. Dieses Phänomen wurde unter dem Begriff „Flynn-Effekt“ bekannt, welcher besagt, dass Entwicklungs- und Intelligenzquotienten in Gesellschaften mit sozioökonomischer Entwicklung im zeitlichen Verlauf zunehmen [166]. So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass die durchschnittliche Leistung kanadischer Kinder im Grundschulalter auf der Columbia Mental Maturity Scale zwischen 1956 und 1976 im Schnitt um 0,53 Punkte/Jahr zunahm [167], und auch für die IQ-Scores konnte sowohl im Bereich der Erwachsenen- als auch der Kinder- und Jugendlichentestung ein Anstieg von 0,2-1,2 IQ-Punkten/Jahr nachgewiesen werden. [167-171] Aylward et al. berichteten eine Verbesserung des Mental Development Index des BSID-II von 3-5 Punkten pro Jahrzehnt. [172] Dafür wird in erster Linie eine Verbesserung der Ernährung, aber auch der kindlichen Frühförderung, der Schulbildung, sowie der medizinischen Versorgung verantwortlich gemacht. [171] Vor diesem Hintergrund wird deutlich, dass der Vergleich der Kinder unseres Kollektivs mit dem Normierungskollektiv von 1988 in seiner Aussagekraft nicht ganz zuverlässig ist; besser wäre ein Vergleich mit den Leistungen einer Kontrollgruppe reifer Neugeborener, die demselben Geburtsjahrgang entstammt. Zusammenfassend muss also bei der Interpretation der Bayley-Daten dieser Studie beachtet werden, dass der mittlere MDI-Score die tatsächliche kognitive Entwicklung der Kinder überschätzt. Allerdings sollte der Vergleich zwischen Kindern mit höherer und weniger hoher Cholinzufuhr dennoch möglich sein. Auch spielt der Flynn-Effekt im Vergleich zum Effekt einer hohen Dropout-Rate und den Effekten einer zu kleinen Stichprobe eine eher untergeordnete Rolle.

Darüber hinaus wurde in mehreren Studien gezeigt, dass eine Nachuntersuchung im korrigierten Alter von 2 Jahren noch keine zuverlässige

Aussage über eine mögliche Beeinträchtigung im Schulalter treffen kann. [144, 173-175] So waren bei Hack et al. (2005) im korrigierten Alter von 20 Monaten 39% der untersuchten ELBW-Frühgeborenen kognitiv beeinträchtigt (MDI < 70), im Alter von 8 Jahren waren es in derselben Gruppe jedoch nur noch 16% (Kaufman Assessment Battery For Children, Mental Processing Composite < 70). [144] Auch Hoekstra et al. (2004), Voss et al. (2006) und Doyle et al. (2012) konnten nachweisen, dass nicht in Untersuchungen in einem jungen Lebensalter mittels Bayley Scales of Infant Development, durchaus jedoch in Untersuchungen zu einem späteren Zeitpunkt, eine zuverlässige Aussage zu späteren kognitiven Leistungen (IQ mit 8-9 Jahren; Denver Developmental Screening Test mit 3-6 Jahren; Achenbach Behaviour Checklist, Mental Processing Composite der Kaufman Assessment Battery for Children mit 8,5 Jahren) getroffen werden konnte. [173-175] Voss et al. untersuchten 129 ELBW-Kinder auf bleibende neurologische Beeinträchtigungen. Dabei war die Prognose für bleibende Beeinträchtigungen am Entbindungstermin nur in 49% der Fälle korrekt, im Alter von 12 Monaten bei 59% der Kinder, und mit 3 Jahren bei 70%. Nach Meinung des genannten Autors können reliable Einschätzungen zur neurokognitiven Entwicklung erst im Alter von 6 Jahren vorgenommen werden. [174]

4.1.4 Confounder

Zuletzt muss noch berücksichtigt werden, dass in unserer Nachuntersuchung ausschließlich der Mental Development Index (MDI) der Bayley Scales of Infant and Toddler Development zur Beurteilung der neurokognitiven Entwicklung herangezogen wurde; die kognitiven Leistungen des ehemaligen Frühgeborenen werden jedoch mit zunehmendem Alter auch durch den mütterlichen IQ, den sozioökonomischen Status und die Qualität der häuslichen Umgebung beeinflusst. [176] Diese Faktoren wurden im Rahmen unserer Untersuchung nicht beachtet. Idealerweise würden solche Confounder im Rahmen multivariater Analysen mit berücksichtigt. Dies war jedoch aufgrund der kleinen Stichprobe bzw. der unvollständigen Nachuntersuchung nicht möglich.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es sich bei den Bayley Scales of Infant and Toddler Development um ein vorbildlich validiertes und zuverlässiges Testverfahren mit hervorragenden psychometrischen Eigenschaften handelt, das weiterhin als Goldstandard in der Entwicklungsdiagnostik angesehen wird. [117, 177] Hinzu kommt, dass inzwischen auch eine aktuelle deutschsprachige Version mit deutscher Normierung vorliegt. [163] Die BSID besitzen jedoch gewisse Limitationen, die unter Umständen zur Unterschätzung der tatsächlichen Defizite von Hochrisiko-Kindern führen. [164] Dies sollte in der Folge nicht bedeuten, dass der Bedarf an besonderer Förderung von Hochrisiko-Kindern verkannt oder zu spät bemerkt wird. Im Rahmen einer ersten orientierenden Untersuchung zum potentiellen Zusammenhang von Cholinzufuhr und kognitiver Entwicklung von Frühgeborenen sollten die MDI-Scores jedoch ausreichen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Versorgung mit Cholin

4.2.1.1 Versorgung mit parenteralem Cholin

Der parenterale Cholinanteil wurde intravenös zusammen mit dem parenteralen Fettanteil, sowie über die Emulsion mit den fettlöslichen Vitaminen, verabreicht. Die parenterale Zufuhr stieg zunächst bis zum 5. Lebenstag zügig an, fiel danach rasch wieder ab und war bereits am 7. Tag im Mittel wieder auf „0“ gesunken. Dabei erhielten in unserem Kollektiv die unreiferen (23. SSW: 5,2 mg/kg/d vs. 28. SSW: 1,8 mg/kg/d) und leichteren Kinder (200-299 g GG: 3,21 g/kg/d vs. 900-999 g GG: 1,24 g/kg/d) mehr parenterales Cholin als die reiferen und schwereren Kinder, da es im Falle der unreiferen Frühgeborenen schwieriger war, rasch eine volle enterale Ernährung zu etablieren, und infolgedessen länger, und eine größere Menge an parenteraler Nahrung zugeführt werden musste. Beim parenteral verabreichten Cholin handelt es sich vorzugsweise um Phosphatidylcholin; dieses kann nicht zur Vorhinderung einer PN-assoziierten oder cholindefizienzassoziierten Steatosis hepatis genutzt werden, weil parenteral verabreichtes Phosphatidylcholin im Wesentlichen von peripheren Organen, nicht aber von der Leber, aufgenommen wird. Dafür wäre eine Supplementation von freiem Cholin notwendig. [81]

4.2.1.2 Versorgung mit enteralem Cholin

Beim enteral zugeführten Cholin (aus Muttermilch, sowie Formulanahrung) handelt es sich in erster Linie um Phosphocholin, Glycerophosphocholin und freies Cholin. [78, 178] Die mittlere enterale Cholinzufuhr stieg im Kollektiv von Tag zu Tag mit zunehmender enteraler Nahrungsverträglichkeit an, und überstieg ab dem 6. Lebenstag die parenterale Cholinzufuhr. Im Falle des enteral verabreichten Cholins erhielten die reiferen Frühgeborenen innerhalb der ersten 28 Lebenstage eine größere Menge des Nährstoffs als die unreiferen Frühgeborenen. Kinder der vollendeten 31. SSW erhielten im Mittel 18,5 mg/kg/d, Kinder der vollendeten 28. SSW 17,5 mg/kg/d, während Kinder der vollendeten 24. und 23. SSW im Mittel nur 12,5 mg/kg/d und 10,7 mg/kg/d an enteralem Cholin erhielten. Ebenso bekamen diejenigen Kinder mit einem

höheren Geburtsgewicht mehr Cholin als die Frühchen mit niedrigerem Geburtsgewicht: Beispielweise erhielten die Frühgeborenen mit einem GG von 300-399 g im Mittel nur 13,4 mg/kg/d an enteralem Cholin, während Kinder mit einem Geburtsgewicht von 600-699 g 15,3 mg/kg/d und Kinder mit einem Geburtsgewicht von 900-999 g im Mittel 17,8 mg/kg/d erhielten. Diese Beobachtung widerspricht den Empfehlungen von Bernhard et al. (2013), die besagen, dass der Cholinbedarf mit abnehmendem Körpergewicht ansteigt. [81]

4.2.1.3 Versorgung mit Gesamtcholin

In den ersten 5 Lebenstagen geschah die Cholinzufuhr hauptsächlich auf parenteralem Wege, im weiteren Verlauf erhielten die Kinder größtenteils enteral zugeführtes Cholin. In Einzelfällen jedoch musste auch lange jenseits des 5. Lebenstages noch Cholin in größeren Mengen parenteral zugeführt werden, wenn aufgrund von gastrointestinalen oder septischen Komplikationen eine enterale Zufuhr unmöglich war.

Insgesamt zeigte sich, dass Kinder mit einem höheren Geburtsgewicht mehr Gesamtcholin erhielten als leichtere Frühgeborene. Ursache dafür, dass das Cholindefizit gerade bei den unreiferen Kindern entstand, war, dass bei diesen der enterale Nahrungsaufbau in den ersten Lebenstagen erschwert war, und auch nicht durch die parenterale Cholinzufuhr ausgeglichen werden konnte.

4.2.1.4 Cholin: Vergleich mit der empfohlenen Zufuhr

Bisher herrscht Unklarheit zum exakten Cholinbedarf beim Frühgeborenen, und es existieren keine allgemeingültigen Empfehlungen wie eine Recommended Dietary Allowance (RDA) [9]. Für die von Bernhard et al. in Anlehnung an die Empfehlungen zur adäquaten Zufuhr (AI) für reife Neugeborene, Kinder und Erwachsene der National Academy of Sciences berechnete Bedarfsmenge von 25,2-31,4 mg/kg/d spricht jedoch, dass diese Menge wiederum dem 3-4-Fachen der für den Erwachsenen empfohlenen Tagesmenge von 550 mg/70 kg Körpergewicht/d oder 8 mg/kg/d entspricht [81, 178]. Außerdem untermauern zwei Experimente an erwachsenen Patienten und Mäusen mit deuterium-markiertem Cholin, die von Bernhard et al. ebenso zur Begründung herangezogen werden, diese Hypothese. [81, 179, 180] Hier wurde deuterium-

markiertes Cholinchlorid intravenös an Patienten verabreicht, um anschließend in Plasma und Sputum die daraus entstandenen Phospholipide zu untersuchen. Es ergab sich ein Umsatz des verabreichten Cholins innerhalb von 3 Stunden. [179, 180] Geht man nun von einem Erwachsenen mit einem Körpergewicht von 70 kg, einem Körperwasseranteil von 60% und einer Cholinplasmakonzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ [72] aus, so erhält man einen Cholinpool von 420 μmol oder 43,7 mg. [81] Nimmt man nun einen kompletten Verbrauch des Cholins innerhalb von 3 Stunden an, so erhält man einen Cholinbedarf von 350 mg/Tag, und damit 5 mg/kg/Tag. [81] Dies ist nicht weit entfernt vom unteren Wert der Empfehlung der European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition für Frühgeborene, die mit 8-55 mg/kg/d jedoch sehr vage ist [81, 127]; dagegen ist es nur etwas mehr als die Hälfte der vom Food and Nutrition Board empfohlenen 550 mg/d für erwachsene Männer [9]. Berechnet man den gleichen Wert nun für einen Fötus von 1000 g Körpergewicht, einem Körperwasseranteil von 70% und einer physiologischen Plasmacholinkonzentration von 36 $\mu\text{mol/l}$ [81, 181], erhält man einen Cholinpool von 30,6 $\mu\text{mol/kg}$ Geburtsgewicht. [81] Unter der Annahme, dass der fetale Organismus ebenso effektiv wie der erwachsene arbeitet, ergibt sich daraus ein Bedarf von 245 $\mu\text{mol/kg/d}$, oder 25,46 mg/kg/d, was dem durch Bernhard et al. berechneten AI entspricht, und ebenso im durch die ESPGHAN empfohlenen Bereich liegt. [81, 127]

Beim Patientenkollektiv der vorliegenden Studie ließ sich nun beobachten, dass sich die Gesamtcholinversorgung gerade innerhalb der ersten 1-2 Lebenswochen deutlich von der kontinuierlichen intrauterinen Cholinzufuhr unterschied. [178] Bis zum 5. Lebenstag wurde Cholin vor allem auf parenteralem Wege zugeführt, ab dem 7. Lebenstag überwog deutlich die enterale Cholinzufuhr und der Median der parenteralen Zufuhr ging rasch in den zu vernachlässigenden Bereich zurück. Jedoch lag über den gesamten Zeitraum der ersten 28 Lebenstage immer wieder das für das Kollektiv zu verzeichnende Minimum der Gesamtcholinzufuhr bei 0 mg/kg/d, was bedeutet, dass immer wieder Frühgeborene tageweise oder gar über längere Zeiträume kein Cholin erhalten hatten. Diese Beobachtung lässt sich dadurch erklären,

dass in dem sehr unreifen Kollektiv unserer Studie der enterale Nahrungsaufbau durch die extreme Unreife des Magen-Darm-Trakts deutlich erschwert war und sich dadurch verzögerte, weshalb weniger Cholin als beabsichtigt, und als eigentlich benötigt, enteral zugeführt werden konnte. In einer Hochrechnung von Maas et al. (2016) entsteht beim Frühgeborenen allein in der Phase der Umstellung von parenteraler auf enterale Ernährung innerhalb der ersten 7 Lebenstage ein Cholindefizit von 70 mg/kg. [178]

Zum anderen kamen bei einigen Patienten durch die Unreife bedingte Komplikationen hinzu, welche einen enteralen Nahrungsaufbau weiterhin erschwerten, wie intestinale Perforationen (Patient Nr. 23), eine nekrotisierende Enterokolitis (Patient Nr. 73), oder eine infektiöse Enterokolitis (Patient Nr. 41). Die nekrotisierende Enterokolitis stellt nach wie vor den häufigsten Grund für eine Not-Operation auf der neonatologischen Intensivstation dar und betrifft in >90% der Fälle Frühgeborene, wovon 90% weniger als 2000 g wiegen. [104] Die Therapie der höhergradigen NEC sowie der FIP umfasst häufig eine Resektion von Darmanteilen, sowie nicht selten eine transiente Anus-Praeter-Anlage, mit nachfolgender Nüchternzeit von mehreren Tagen, was den bisher erfolgten enteralen Nahrungsaufbau zunichtemacht. [182] Laut Maas et al. würde beim Frühgeborenen bei einem langsamen, linearen Aufbau der enteralen Ernährung über 30 Tage sogar ein Cholindefizit von 276 mg/kg entstehen. [178] Dabei wäre noch nicht einmal eine postoperative Nüchternzeit von mehreren Tagen mit einberechnet, sodass das Cholindefizit bei den betroffenen Frühgeborenen unseres Kollektivs wahrscheinlich noch größer ist. Natürlich erhalten Frühgeborene, die keine enterale Nahrung erhalten können, eine Substitution der Nährstoffe mittels parenteraler Ernährung, jedoch muss im Falle einer Sepsis, was im Rahmen einer FIP oder einer NEC durchaus sekundär auftreten kann, die i.v.-Fettzufuhr deutlich reduziert werden, sodass wiederum das entstandene Cholindefizit nicht ausgeglichen werden kann.

Die Cholinzufuhr war also einerseits von Pausen unterbrochen und damit im Gegensatz zur intrauterinen Zufuhr in diesen Schwangerschaftswochen diskontinuierlich. Darüber hinaus lag auch der Median der Gesamtcholinzufuhr

über den gesamten Beobachtungszeitraum unter der durch Bernhard et al. errechneten empfohlenen Menge von 27,4 mg/kg/d. [81] Noch am 7. Lebenstag, wo erstmals die enterale Cholinzufuhr die parenterale überwog, lag der Median der Gesamtcholinzufuhr nur bei 18 mg/kg/d; am 12. Lebenstag wurde erstmals ein Median von aufgerundet 21 mg/kg/d (25.-75. Perzentile: 16,3-21,8 mg/kg/d), ab dem 18. Lebenstag ein Median von 22 mg/kg/d (25.-75. Perzentile: 18,7-24,2 mg/kg/d) erreicht. Nur das Maximum der Gesamtaufuhr erreichte an vielen Tagen (Tag 5-10, Tag 12-21, Tag 23-28) Werte von 27,4 mg/kg/d oder sogar darüber (27,4-35,8 mg/kg/d). Dies waren jedoch maximal 7,7 % der Patienten (7 Patienten am 9. Lebenstag); an Lebenstag 11, 22 und 25 erreichte sogar keiner der Patienten einen Wert von 27,4 mg/kg/d oder darüber. Das Minimum des Kollektivs lag dafür auch nach dem 5. Lebenstag häufig bei 0 mg/kg/d.

Damit war die postnatale Versorgung mit dem essentiellen Nährstoff Cholin bei den Patienten unseres Kollektivs unter den aktuellen Ernährungsregimes vermutlich nicht ausreichend. Diese Unterversorgung könnte jedoch schwerwiegende Folgen für die neurokognitive Entwicklung der Frühgeborenen haben, da Frühgeborene sich in einer Phase erhöhten Organwachstums mit raschen Wachstumsraten von bis zu 20 g/kg/d befinden, in der besonders viel Cholin unter anderem für das Wachstum des zentralen Nervensystems benötigt wird [80, 183, 184]. Darüber hinaus dient Cholin in Form von Phosphatidylcholin in VLDL als Transporter für mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie die Docosahexaensäure von der Leber zum zentralen Nervensystem, und ist so auch indirekt für die Entwicklung des kindlichen Gehirns verantwortlich. [179, 184, 185]

Die große Bedeutung des Cholins für den wachsenden Organismus wird darüber hinaus auch daran deutlich, dass das fetale bzw. das kindliche Plasma direkt nach Geburt im Vergleich zum mütterlichen Plasma eine 3-4-fach höhere Konzentration an Cholin enthält (36 $\mu\text{mol/l}$ vs. 10-12 $\mu\text{mol/l}$ [46]; 41,4 $\mu\text{mol/l}$ vs. 14,1 $\mu\text{mol/l}$ [184]). Innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Geburt des Frühgeborenen fällt die Plasmakonzentration dann rasch auf die Hälfte bzw. ein

Drittel der vorherigen Konzentration ab. [184] Dies bedeutet, dass der Umsatz in diesem jungen Alter besonders hoch ist, um die rasch wachsenden Organe mit ausreichenden Mengen an Cholin zu versorgen. Wird nun das Frühgeborene nach Geburt, wie in unserer Studie unter den aktuellen Ernährungsregimes, nicht ausreichend mit Cholin versorgt, entsteht schnell ein Defizit. Dieses Defizit kann jedoch vermutlich postpartal nicht gebührend gedeckt werden, da, wie in unserer Studie gezeigt, die enterale Cholinzufuhr zu gering ist. Hinzu kommt der geringe Cholingehalt von Muttermilch von Müttern frühgeborener Kinder im Vergleich zu Muttermilch von Müttern reifer Kinder [178]). Zusätzlich verlieren die Kinder über den Stuhl und den Urin das Stoffwechselprodukt Betain [186]. Theoretisch könnte natürlich, wie in Kapitel 1.2.2 beschrieben, Cholin auch endogen über den PEMT-Pathway synthetisiert werden [187, 188]; dazu wird jedoch S-Adenosylmethionin benötigt. [189] Methionin kann entweder exogen zugeführt werden (enteral über die enterale Proteinaufnahme, sowie parenteral über parenterale Aminosäuren), oder aber aus Homocystein oder Betain synthetisiert werden. [81, 189] Ist allerdings die enterale Cholinzufuhr niedrig, so ist auch damit zu rechnen, dass die enterale Methioninzufuhr niedrig ist, da sowohl enterales Fett als auch enterale Aminosäuren gleichermaßen in geringer Menge zugeführt werden, und parenterales Methionin wird eher in peripheren Geweben transaminiert, als dass es zur Methylgruppenbereitstellung zur Cholinsynthese in der Leber genutzt wird. [81, 190] Außerdem ist die PEMT-Aktivität in der unreifen Leber des Frühgeborenen vermutlich noch vermindert, zumindest ist dies bei Rattenföten zu beobachten. [50] Zusätzlich zur verminderten PEMT-Aktivität von Frühgeborenen mag die um 99% verminderte Östrogenkonzentration nach Trennung des fetalen vom mütterlichen Kreislauf ebenso bewirken, dass das Cholindefizit in den ersten Lebenswochen nicht durch eine endogene Cholinsynthese ausgeglichen werden kann. [17, 37, 191]

4.2.2 Versorgung von mit Cholin zusammenhängenden Nährstoffen

Die parenterale *Folsäurezufuhr* fand hauptsächlich innerhalb der ersten 7 Lebenstage über die Lösung mit den wasserlöslichen Vitaminen statt. Bereits ab dem 3. Lebenstag lag der Median der Zufuhr des Gesamtkollektivs über der

von der ESPGHAN empfohlenen Mindestmenge von 35 mg/kg/d [127], blieb dort bis zum 7. Lebenstag und fiel ab dem 8. Lebenstag im Mittel wieder auf Null mg/kg/d ab. Dafür stieg die enterale Folsäurezufuhr ab dem 9. Lebenstag durch die Zunahme der enteralen Nahrungsmenge (Folsäure ist reichlich in Frühgeborenenformulanahrung sowie in Muttermilch-Fortifier, aber auch in Muttermilch enthalten) stetig an und lag bereits ab dem 10. Lebenstag über der empfohlenen täglichen Mindestmenge von 35 mg/kg/d. Im weiteren Verlauf pendelte sich der Median der täglichen Folsäurezufuhr ab der 3. Lebenswoche bei einem Wert von 88,6 mg/kg/d (25.-75. Perzentile: 70,1-97,3 mg/kg/d) ein und lag damit immer im Bereich der empfohlenen Tagesmenge (35-100 mg/kg/d); allerdings lag das Minimum im Rahmen der intensivmedizinischen Betreuung auch häufig bei Null.

Auch die *Methioninzufuhr* wurde anfangs von der parenteralen Zufuhr dominiert (über die i.v.-Aminosäurelösung); dabei lag der Median bei maximal 120,4 mg/kg/d. Ab dem 10. Lebenstag überwog dann die enterale Methioninzufuhr (v.a. in Formulanahrung, aber auch in Muttermilch und Muttermilchfortifiern). Bisher existieren noch keine allgemeingültigen Empfehlungen zur täglichen Aufnahme von Methionin. Allerdings empfiehlt die European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition einen Anteil von 1,4 g Methionin pro 100 g Protein, oder 24 mg Methionin pro 100 kcal, in industriell hergestellter Formulanahrung. [192] Wenn man davon ausgeht, dass ab dem 3. Lebenstag ein Median von 3,7 mg/kg/d (Min. 1,99 –Max. 4,57 g/kg/d) und ab dem 23. Lebenstag ein Median von 4 g/kg/d Protein zugeführt wurde, so sollten mindestens 0,056 g/kg/d (entsprechend 56 mg/kg/d) an Methionin zugeführt werden, was mit einem Median von 84,4 mg/kg/d (25.-75. Perzentile: 72,4-91,6 mg/kg/d) ab der 3. Lebenswoche gut übereinstimmt (oder sogar etwas überstiegen wird).

Wie bereits in Kapitel 1 beschrieben, hängen die Stoffwechselwege von Cholin, Folsäure und Methionin eng miteinander zusammen: So kann Cholin beispielsweise enzymatisch zu Betain oxidiert werden, und nachfolgend durch die Betain-Homocystein-Methyltransferase Methylgruppen von Betain auf

Homocystein übertragen werden, wodurch Methionin entsteht. [19] Damit kann Cholin zum Abbau von Homocystein verwendet werden, welches als Risikofaktor für Arteriosklerose und venöse Thrombosen, sowie in der Schwangerschaft für Präeklampsie, schwangerschaftsassozierte Hypertonie, vorzeitige Plazentalösung und Neuralrohrdefekte gilt. [54] Alternativ kann Methionin durch Übertragung von Methylgruppen von Methyltetrahydrofolat auf Homocystein erschaffen werden, wodurch wieder potenziell schädliches Homocystein inaktiviert wird. Aus Methionin kann wiederum durch die Methionin-Adenosyl-Transferase S-Adenosylmethionin entstehen, welches als Methylgruppendonor für enzymatische Methylierungen, wie zum Beispiel Phosphatidylcholin aus Phosphatidylethanolamin, die Methylierung von DNA, oder für die Entstehung von Kreatin, oder Carnitin genutzt werden kann. [49, 193]

4.2.3 Versorgung mit Makronährstoffen

Die Zufuhr an *Fett* ähnelt im Verlauf deutlich dem des Cholins. Fett wurde parenteral ab dem 3. Lebenstag zugeführt, und im Verlauf zunächst gesteigert bis zu einem Median von 1,1 g/kg/d am 5. Lebenstag. Bei Zunahme der enteralen Fettzufuhr nahm die parenterale Zufuhr ab dem 6. Lebenstag wieder ab und erreichte am 7. Lebenstag die Nulllinie. Danach wurde parenterales Fett nur noch in Einzelfällen in Phasen von enteraler Nahrungsrestriktion oder Nahrungskarenz zugeführt, und erreichte hier ein Maximum von bis zu 4 g/kg/d. Ab dem 11. Lebenstag erreichte die Gesamtfettzufuhr einen Wert von > 6 g/kg/d. Ab der 3. Lebenswoche pendelte sich der Median bei einem Wert von 6,6 g/kg/d ein (25.-75. Perzentile: 5,9-7,0 g/kg/d). Bereits ab dem 2. Lebenstag lag der Median der Gesamtfettzufuhr im Bereich der empfohlenen Menge und hielt sich dort durchgehend. [73] Trotzdem gab es auch immer wieder Patienten ohne Fettzufuhr (die minimale tägliche Fettzufuhr lag im Gesamtkollektiv kontinuierlich bei 0 g/kg/d). Fett ist als hochkalorischer Energieträger ein sehr wichtiger Bestandteil der Ernährung Frühgeborener, die häufig in den ersten Lebenstagen nach der Trennung der fetomaternalen Einheit ein Nährstoffdefizit entwickeln und dazu tendieren, Gewicht zu verlieren, da sie nur über geringe endogene Fettreserven verfügen. [194, 195] Desweiteren kommt Fett eine

wichtige Bedeutung zu, da es die Versorgung mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren und den fettlöslichen Vitaminen sicherstellt. [127] Die Verfügbarkeit von mehrfach ungesättigten Fettsäuren beeinflusst unmittelbar Membran- und kognitive Funktionen, da mehrfach ungesättigte Fettsäuren in großen Mengen in der grauen Substanz des Gehirns und in der Retina enthalten sind, und eine wichtige Rolle in der Synaptogenese und Myelinisierung im zentralen Nervensystem spielen. [127, 196] Prä- und postnatale Unterversorgung mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren resultiert in einer verminderten Körper- und Gehirnmasse [194], während das Verabreichen von LC-PUFA wie Arachidonsäure und Docosahexaensäure über die Muttermilch oder Anreicherung in Formulanahrung nachweisliche positive Effekte auf den Mental Development Index und Psychomotor Development Index der Bayley Scales, sowie auf den IQ ehemaliger Frühgeborener erbrachte. [197-201] Des Weiteren wurde wiederholt die positive Wirkung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren auf die Entwicklung der Sehschärfe nachgewiesen. [202-204] Für die parenterale Fettzufuhr wird ein Beginn mit 0,5-1 g/kg/d empfohlen, danach soll eine Steigerung auf maximal 2-3 g/kg/d durchgeführt werden [194, 205]. Dennoch macht es nach einer Metaanalyse der Cochrane Database keinen Unterschied für die Mortalität oder Morbidität der Frühgeborenen, ob früh (noch am ersten Lebenstag) oder spät (am fünften Lebenstag) mit der Fettzufuhr begonnen wird [194]. Für die enterale Fettaufnahme beim Frühgeborenen empfiehlt die ESPGHAN eine Menge von 4,8-6,6 g/kg/d, mit einem Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren von minimal 55 mg/kg/d an α -Linolensäure, 12-30 mg/kg/d Docosahexaensäure (DHA) und 18-42 mg/kg/d an Arachidonsäure (AA). [127] Für Formulanahrung empfiehlt die ESPGHAN einen Fettgehalt von 4,4-6 g/100 kcal, was etwa 40-56% des Gesamtenergiegehalts ausmacht, wie man es auch in Muttermilch vorfindet. [192, 195]. Die Versorgung unseres Kollektivs mit Fett lag mit einem Median von 6,6 mg/kg/d ab der 3. Lebenswoche im oberen Bereich der ESPGHAN-Empfehlungen.

Die parenterale *Proteinzufuhr* begann bereits am 1. Lebenstag mit einem Median von 1,5 g/kg/d, stieg bis zum 3. Lebenstag bis zu einem Median von 2,8

g/kg/d an und nahm danach wieder ab, bis sie am 10. Lebenstag die Nulllinie erreichte. Die enterale Proteinzufuhr hingegen stieg ab dem ersten Lebenstag kontinuierlich an, und erreichte in der 3. Lebenswoche ein Plateau bei einem Median von 3,9 g/kg/d (25.-75. Perzentile: 3,4-4,2 g/kg/d). Teilweise wurden innerhalb der ersten 28 Lebenstage bei der enteralen Zufuhr Maxima von über 5 g/kg/d erreicht, jedoch lag das Minimum im Rahmen von Nahrungsrestriktion auch häufig bei 0 g/kg/d. Trotzdem lag die Gesamtzufuhr zu jeder Zeit im Bereich der empfohlenen Zufuhr. [4, 127, 206] Eine optimale Versorgung mit Eiweiß in den ersten Lebenswochen ist essenziell für die Entwicklung des Frühgeborenen. Wenn Frühgeborene postnatal eine Wachstumsverzögerung zeigen, so ist dies in den meisten Fällen durch einen Proteinmangel verschuldet. [83, 148, 207, 208] Eine postnatale Wachstumsverzögerung ist wiederum mit einem schlechteren neurokognitiven Outcome verknüpft [82]. In einer Studie von Loys et al. konnte durch einen früheren Beginn und eine höhere Menge an parenterale Lipid- und Proteinzufuhr, durch eine stärkere Anreicherung von Muttermilch mit Eiweiß und die frühere Umsetzung auf eiweißreiche Frühgeborenenennahrung in einem Kollektiv von ELBW-Frühgeborenen eine bessere Längenzunahme bewirkt werden. [209] In einer Studie von Stephens et al. wirkte sich jedes zusätzlich verabreichte Gramm Protein in der ersten Lebenswoche mit einem Anstieg des mentalen Entwicklungsindex der Bayley Scales von 8,2 Punkten im Alter von 18 Monaten aus. [84] Ehrenkranz et al. zeigten, dass bei einer höheren täglichen Rate der Gewichtszunahme des Frühgeborenen nach Geburt der MDI im Alter von 2 Jahren um bis zu 5 Punkte höher war als bei einer niedrigeren Rate. [82] Daran wird die immense Bedeutung von Proteinen in der Ernährung des Frühgeborenen deutlich.

Die parenterale *Kohlenhydratzufuhr* begann bei einem Median von 5 g/kg/d, stieg dann zunächst bis zum 3. Lebenstag an (Median 6,5 g/kg/d) und fiel dann kontinuierlich ab, bis am 10. Lebenstag die Nulllinie erreicht wurde. Die enterale Kohlenhydratzufuhr begann am ersten Lebenstag mit einer Zufuhr von 1,3 g/kg/d (Median), stieg kontinuierlich an und erreichte ab dem 15. Lebenstag ein Plateau von 12,3 g/kg/d (Median; 25.-75. Perzentile: 10,9-13,6 g/kg/d). Die

Kohlenhydratzufuhr lag damit fast immer im Bereich der durch die Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin in Anlehnung an die Empfehlungen der ESPGHAN empfohlenen Menge (ab dem 1. Lebenstag 4-8 g/kg/d, beinahe tägliche Steigerung bis auf 7-16 g/kg/d). [4] Einzig und allein am 5. Lebenstag lag die Gesamtzufuhr in unserem Kollektiv im Rahmen des enteralen Nahrungsaufbaus minimal unter der empfohlenen Menge. Von der ESPGHAN wird ein minimaler Anteil von 10,5 g Kohlenhydraten/100 kcal für Frühgeborenennahrung empfohlen. [127]

4.2.4 Versorgung mit Energie

Bis einschließlich zum 4. Lebenstag wurde in unserem Kollektiv der Großteil der Gesamtenergie auf parenteralem Wege zugeführt. Danach überstieg ab dem 5. Lebenstag die Menge an enteral zugeführter Energie die parenterale. Ab dem 10. Lebenstag fand die Energiezufuhr in der Regel fast nur noch auf enteralem Wege statt. In der 3. Lebenswoche wurde ein Plateau von 137 kcal/kg/d erreicht (25.-75. Perzentile: 121,9-146,6 kcal/kg/d). Dies liegt im Bereich der durch die ESPGHAN empfohlenen 70-160 kcal/kg/d. [127] Bereits ab dem 7. Lebenstag lag der Median unseres Gesamtkollektivs immer im empfohlenen Bereich, ab der 3. Lebenswoche siedelt sich der Median sogar im oberen Drittel der empfohlenen Menge an. Beim Frühgeborenen ist der Energiebedarf aufgrund des raschen Wachstums pro Kilogramm Körpergewicht höher als beim älteren pädiatrischen Patienten. [4] Andererseits kann sich eine unangemessen hohe Energiezufuhr beim Säugling in Form einer metabolischen Programmierung des Krankheitsrisikos in einem späteren Lebensabschnitt nachteilig auf die weitere Entwicklung auswirken. [4, 210] Deshalb ist ein exaktes Einhalten der Ober- und Untergrenzen in der täglichen Energiezufuhr unabdingbar. Es ist jedoch bekannt, dass es häufig einige Zeit dauert, bis Frühgeborene die von Ernährungsgesellschaften empfohlenen Nahrungsmengen tatsächlich zu sich nehmen, und selbst danach kann die empfohlene Menge häufig nicht dauerhaft eingehalten werden, wie man auch am individuell unterschiedlichen Verlauf der Patienten unseres Kollektivs sieht. Bei einer nach heutigen Kenntnissen noch eher knapp bemessenen Energiezufuhr von 120 kcal/kg/d und einer Proteinzufuhr von 3 g/kg/d ergibt sich dadurch bei einem

Frühgeborenen < 31 SSW innerhalb der ersten 5 Lebenswochen ein Nährstoffdefizit von 23 g Eiweiß/kg, sowie 813 kcal/kg. Dieses postnatale Nährstoffdefizit kann in direkte Relation zur postnatalen Wachstumsretardierung gesetzt werden. [83] Dabei hing in einer Studie von Ernst et al. (2003) die Höhe des Protein- und Energiedefizits invers mit dem Gestationsalter zusammen, was bedeutet, dass gerade die leichtesten und unreifsten Kinder mit der höchsten Wachstumsrate die größten Defizite vorzuweisen hatten. Nach Ansicht dieses Autors sind eine Proteinzufuhr von 4 g/kg/d und eine Energiezufuhr von 140 kcal/kg/d notwendig, um ein aufholendes Wachstum zu ermöglichen. [211]

4.2.5 Neurokognitive Entwicklung

4.2.2.1 Testergebnisse des Patientenkollektivs

Die 48 Patienten unseres Kollektivs erzielten im Mittel einen MDI von 95,6 (Mittelwert; Median 95,5; SD \pm 11,9) und lagen damit formal im Normbereich (MDI 85-115). 7 Kinder (14,6 %) erzielten einen unterdurchschnittlichen Wert von < 85, 2 Kinder (4,2 %) einen überdurchschnittlichen Wert von > 115. Ein Wert von < 70 wird in der aktuellen Literatur als mentale Retardierung gewertet [135, 144], dies war in unserem Kollektiv bei nur einem Mädchen der Fall. (2% des Kollektivs mit verwertbarem MDI-Wert). In einer Studie von Lupton et al. (2005) wurden 1992-1995 geborene ELBW-Kinder untersucht, hier wiesen ganze 25,3% einen MDI von <70 auf, allerdings waren diese Kinder bei der Nachuntersuchung deutlich jünger als die Kinder unseres Kollektivs. [142] Überraschend ist jedoch, dass die Kinder der Lupton-Studie alle nach einem unauffälligen Schädelsonographie-Befund am 6. und 47. Lebenstag ausgesucht worden waren, sodass eigentlich eine geringere Rate an mentaler Retardierung in diesem Kollektiv zu erwarten gewesen wäre, da bekannt ist, dass beispielsweise intraventrikuläre Hämorrhagien ein Risikofaktor für neurokognitive Entwicklungsauffälligkeiten sind. [94, 138] Insgesamt erzielten die Kinder unserer Studie einen vergleichsweise guten Mental Development Index. In vergleichbaren Studien zur neurokognitiven Entwicklung von Extremely Low Birth Weight-Frühgeborenen aus den letzten 30 Jahren erzielten

die meisten Kollektive deutlich niedrigere MDIs: Die ELBW-Frühgeborenen (222 Kinder, 1982-1989 geboren, GA $25,8 \pm 2,1$ SSW, GG 762 g) von Wilson-Costello et al. (2005) wiesen einen MDI von $86,4 \pm 20$ auf. [133] Bei Castro et al. (2004) erreichten die untersuchten ELBW-Frühgeborenen (1056 Kinder, 1993-1994 geboren, GA 26 SSW (19-37 SSW), GG 796g (428-1000g)) einen MDI von 78 (Median). [132] In diesem Kollektiv waren allerdings alle Kinder der ELBW-Gruppe zugehörig, in unserem Kollektiv „nur“ 95% (87 Kinder). Die ELBW-Frühgeborenen bei Vohr et al. (2000) (1151 Kinder, 1993-1994 geboren, GA 26 SSW, GG $796 \text{ g} \pm 135 \text{ g}$) erzielten einen MDI von 76 ± 17 . [135] Ehrenkranz et al. (2006) berichteten von einem durchschnittlichen MDI von 78,5 in ihrem ELBW-Kollektiv (490 Kinder, 1994-1995 geboren, GA 26,4 SSW, GG 805 g). Dabei war der MDI, wenn die Gewichtszunahme eines Frühgeborenen postnatal in der höchsten Quartile lag, im Alter von 18-22 Monaten um bis zu 5 Punkte besser, als bei einem gleichaltrigen Frühgeborenen, bei dem die Gewichtszunahme in der untersten Quartile gelegen hatte. [82] Bei Benjamin et al. erreichten die ELBW-Frühgeborenen (2707 Kinder, 1998-2001 geboren) einen durchschnittlichen MDI von $79,4 (\pm 17,9, \text{Mittelwert; Median } 81)$. [136] Auch hier lag die Rate an mentaler Retardierung deutlich höher als in unserem Kollektiv (MDI < 70 bei 29,7% vs. 2% in unserem Kollektiv). Die ELBW-Frühgeborenen bei Vohr et al. (2012) waren auch in Bezug auf das Geburtsjahr mit den Kindern unseres Kollektivs vergleichbar (1844 Kinder, 2006-2007 und 2008-2011 geboren). Hier erzielten die Kinder der ersten Phase einen MDI von $77,9 \pm 19$, die Kinder der 2. Phase einen MDI von 88 ± 15 . Allerdings war hier die Gruppe der ersten Phase mit den BSID-II untersucht worden, die der zweiten Phase mit den BSID-III. [212] Die einzigen Studien, in denen vergleichbar hohe MDI-Scores erzielt wurden, sind einerseits Kitchen et al. aus dem Jahre 1986 (54 Kinder, 1977-1980 geboren, GA $27,2 \pm 2$ SSW, GG 864 ± 99 g, mittlerer MDI 91,1) [140] und Kindl aus dem Jahre 2009 (24 Kinder, 2001-2002 geboren, GA 27,3 SSW $\pm 2,2$, mittlerer MDI $88,3 \pm 19$) [141]. Es fällt auf, dass in beiden Studien die Patientenzahl, ebenso wie in unserer Studie, verhältnismäßig gering ist im Gegensatz zu den großen Patientenzahlen der anderen Studien. Darüber hinaus ist der Anteil an ELBW-Kindern in unserem

Kollektiv „nur“ 95%, im Gegensatz zu 100% in allen anderen Studien. Dies könnte den MDI positiv zugunsten eines höheren Scores in unserer Studie beeinflusst haben.

Zuletzt müssen auch die Auswirkungen des weiter oben beschriebenen Flynn-Effekts beachtet werden; generell ist davon auszugehen, dass sich der durchschnittliche MDI um 3-5 Punkte pro Jahrzehnt verbessert, was die besseren MDI-Scores in den neueren Untersuchungen (bis auf Kitchen et al.), so auch in der vorliegenden Arbeit, erklären könnte. [172]

Bei den Kindern unseres Kollektivs zeigte sich tendenziell ein höherer MDI im Alter von 2 Jahren bei den Kindern, die bei Geburt verhältnismäßig reif und schwer waren. Dies deckt sich auch mit den Beobachtungen von Bhutta et al. (2002), die berichten, dass sich bei ehemaligen ELBW-Frühgeborenen und ihren normalgewichtigen Kontrollpatienten die kognitiven Scores im Schulalter direkt proportional zum Gestationsalter und zum Geburtsgewicht verhalten. [213] Auch bei Wolke et al. (2001) gibt es hier einen Zusammenhang, wobei der Effekt bei einem Geburtsgewicht von < 1500 g am schwerwiegendsten ist (Gewichtsabnahme um 100 g ergibt einen Verlust von 2,1 IQ-Punkten). [214]

4.2.2.2 Cholinzufuhr und neurokognitives Outcome

Um herauszufinden, ob eine erhöhte postnatale Cholinzufuhr die neurokognitive Entwicklung Frühgeborener positiv beeinflusst, wurden die *Mental Scale Indices* der untersuchten Kinder (im Alter von ca. 2 Jahren) mit der innerhalb der ersten 28 Lebenstage zugeführten Cholinmenge ins Verhältnis gesetzt. Hier ergab sich kein statistisch signifikanter positiver Zusammenhang; es ergab sich allenfalls der Eindruck einer positiven Tendenz im Sinne eines etwas höheren MDI bei einer höheren Gesamtcholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage. Wie in Kapitel 1 bereits beschrieben, wäre aufgrund der aktuellen Studienlage in der Literatur davon auszugehen, dass eine erhöhte Cholinzufuhr ein besseres neurokognitives Outcome nach sich zieht. [19, 55, 56, 58-60] In unserer Studie ließ sich jedoch nun kein Effekt der Cholinversorgung auf die kognitiven Leistungen nachweisen. Dies lag einerseits vermutlich an der geringen Fallzahl (N=48), andererseits auch daran, dass die Kinder unserer Studie unter den zum

Zeitpunkt unserer Studie vorherrschenden Ernährungsregimes innerhalb der ersten 28 Lebenstage nicht ausreichend mit Cholin versorgt waren. Es sind folglich im Verlauf weitere Studien notwendig, um zunächst herauszufinden, unter welchen Ernährungsregimes eine optimale Versorgung mit Cholin gewährleistet ist, und um dann zu erforschen, ob sich diese optimierte Versorgung auf die kognitiven Leistungen der Kinder positiv auswirkt.

Da bekannt ist, dass auch ein größerer *Kopfumfang* bei VLBW-Frühgeborenen mit einem besseren neurologischen Outcome (IQ sowie Test of Motor Impairment) assoziiert ist, [128] [129] untersuchten wir, ob sich die Menge an zugeführtem Cholin positiv auf den Kopfumfang auswirkt. Tong et al. (2006) wiesen beispielsweise bei reifen Neugeborenen eine starke positive Korrelation zwischen dem Kopfumfang bei Geburt und den kognitiven Leistungen im Alter von 2-7 Jahren nach. [176] Gale et al. (2003) zeigten, dass das Kopfumfangswachstum in der frühen postnatalen Phase für spätere kognitive Leistungen wichtiger ist, als der Kopfumfang bei Geburt. [215] Liegt der Kopfumfang im Alter von 4, 8 und 12 Monaten unter der 3. Perzentile, so ist beim betroffenen Kind im Alter von 6 Jahren das Risiko für schlechte kognitive Leistungen stark erhöht. [216] Da besonders die Differenz aus dem SD-Score des Kopfumfangs bei Entlassung und dessen bei Geburt (und damit das frühe postnatale Kopfumfangswachstum) das neurologische Outcome beeinflussen [85], zogen wir zur Auswertung den SD-Score des Kopfumfangs bei Entlassung heran. Dabei zeigte sich ebenso ein statistisch nicht signifikanter, aber tendenziell vorhandener positiver Zusammenhang sowohl zwischen der enteralen, als auch der Gesamtcholinzufuhr und dem Kopfumfang. Beim Vergleich der parenteralen Cholinzufuhr mit dem SDS des Kopfumfangs jedoch zeigte sich ein anderes Bild: Umso mehr Cholin ein Kind innerhalb der ersten 14 und der ersten 28 Lebenstage auf parenteralem Wege erhalten hatte, desto niedriger war tendenziell der SDS seines Kopfumfangs bei Entlassung. Dies lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass diejenigen Kinder, die absolut gesehen mehr Cholin auf parenteralem Wege als auf enteralem Wege erhalten hatten, eine niedrigere Gesamtmenge an Cholin erhielten, als diejenigen, bei denen das enteral zugeführte Cholin das parenterale überwog. Vom 0.-14.

Lebenstag bekamen 6 der untersuchten 48 Patienten mehr Cholin parenteral als enteral zugeführt. Diese 6 Patienten bekamen im Mittel eine Gesamtcholinmenge von 13,4 mg/kg/d innerhalb der ersten 14 Lebenstage, während die anderen 42 Patienten im Mittel eine Gesamtcholinmenge von 16 mg/kg/d erhalten hatten. Innerhalb der ersten 28 Lebenstage waren es nur noch 2 der untersuchten 48 Patienten, die mehr Cholin parenteral als enteral erhielten. Sie bekamen eine Gesamtcholinmenge von 16,1 mg/kg/d, die anderen 40 Patienten dagegen mit 19,1 mg/kg/d deutlich mehr Gesamtcholin. Die Ergebnisse für die enterale und Gesamtcholinzufuhr bedeuten möglicherweise, dass sich entweder die Cholinzufuhr positiv auf das Wachstum des Kopfumfangs auswirkt; oder aber, dass eben jene Kinder viel Cholin bekommen haben, die größer/reifer und leichter aufzubauen waren, und damit auch einen größeren Kopfumfang bei Entlassung erreichen konnten. Da jedoch dem Wachstum des Kopfumfangs und damit dem Gehirnwachstum eine tragende Bedeutung für die neurokognitive Entwicklung zukommt, sollte sicherlich in Folgestudien mit größeren Fallzahlen und unter optimierten Ernährungsbedingungen dieser Sachverhalt nochmals beleuchtet werden.

Weitere wichtige neurologische Outcomegrößen bei Extremfrühgeborenen sind das Auftreten einer Frühgeborenenretinopathie (Retinopathia praematurorum) und einer Cerebralparese im weiteren Verlauf, sowie die Grob- und Feinmotorik, die anhand der Motorischen Skala der Bayley Scales of Infant Development beurteilt werden können. Es wurde untersucht, ob die Cholinzufuhr sich auf diese Outcomegrößen auswirkt.

Im Hinblick auf die *Cerebralparese* wurde zunächst deutlich, dass erfreulich wenige Cerebralparesen in unserem Kollektiv aufgetreten waren. Insgesamt litten nur 2 Kinder aus der gesamten Gruppe, die auf CP untersucht worden war, tatsächlich an einer Cerebralparese. Dabei handelte es sich in einem Fall um eine unilateral spastische CP, im anderen Fall um eine bilateral spastische CP. Dies waren auch genau jene beiden Kinder, die innerhalb der ersten 28 Lebenstage < 10 mg/kg/d an Gesamtcholinzufuhr erhalten hatten. Alle anderen Patienten hatten in den ersten 28 Lebenstagen > 10 mg/kg/d an Gesamtcholin

erhalten, und keiner dieser Patienten litt an einer Cerebralparese. Allerdings waren nicht alle der Kinder, die zur Beurteilung der Entwicklung mittels BSID vorgestellt worden waren, auch bezüglich einer CP beurteilt worden. Damit konnte kein relevanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

Im Bereich der Grobmotorik zeigten sich in der Gruppe der Kinder, die < 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatten (32 von 48 Kindern mit verwertbarem MDI), 81% motorisch unauffällig (26 Kinder), während 19% zumindest leicht auffällig waren (bei 3 Kindern wurde die Motorik als verdächtig eingestuft, bei 3 Kindern sogar als ungeschickt beurteilt). In der Gruppe der Kinder jedoch, die > 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatten (16 von 32 Kindern), wurden 94 % (N=15) als unauffällig beurteilt, und nur ein Kind als verdächtig eingestuft. Damit erreichten die Kinder, die > 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatten, auf der Grobmotorikskala der BSID höhere Scores als die Kinder mit niedrigerer Gesamtcholinzufuhr. Ein ähnliches Bild zeigte sich im Bereich der Feinmotorik. Hier wurden 94% der Kinder, die < 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatten (N=30 von 32) als unauffällig eingestuft, nur 2 Kinder waren auffällig (beide < 90. Perzentile). Bei den 16 Kindern, die > 20 mg/kg/d an Gesamtcholin erhalten hatten, wurden alle Kinder als unauffällig eingestuft.

Somit erreichten scheinbar jene Kinder mit höherer Cholinzufuhr insgesamt bessere Werte in der Beurteilung der Motorik, es ließ sich jedoch kein relevanter Zusammenhang nachweisen.

Zuletzt wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Ausbildung einer ROP und der Cholinzufuhr bestand. Hier konnte beobachtet werden, dass in der Gruppe mit einer täglichen Cholinzufuhr von > 20 mg/kg/d weniger Kinder eine ROP jeglicher Art entwickelten (nur 40 % im Vgl. zu 50 % bei den Kindern mit geringerer Gesamtcholinzufuhr) als in der Gruppe mit der niedrigeren Cholinzufuhr. Es ist jedoch fraglich, ob tatsächlich die vergleichsweise hohe Cholinzufuhr für diesen Umstand verantwortlich ist. Die wichtigsten Risikofaktoren einer Frühgeborenenretinopathie sind bekanntlich extreme Unreife und die maschinelle Beatmung. So ist die Inzidenz der ROP abhängig von der Schwangerschaftswoche. [217] Die Kinder unserer Studie mit einer

drittgradigen Retinopathie hatten auch eine deutlich höhere Zahl an Tagen mit zusätzlicher Sauerstoffgabe als die Kinder, die nie eine ROP ausbildeten (83,8 vs. 31,8 Tage).

4.3 Fazit

Es lässt sich feststellen, dass eine ausreichende Cholinzufuhr essentiell für die Entwicklung des Frühgeborenen ist. Aktuell wird mit Nachdruck an der Feststellung des exakten Cholinbedarfs von Extremfrühgeborenen geforscht. Es ist anzunehmen, dass er höher als der gewichtsbezogene Bedarf von Erwachsenen ist, und im Bereich von mindestens 25 mg/kg/d liegt. In unserer aktuellen Studie konnten wir zeigen, dass die Versorgung Frühgeborener mit Cholin innerhalb der ersten 28 Lebenstage unter den 2006/2007 gültigen Ernährungsregimes wahrscheinlich nicht ausreichend war. Bedenkt man, dass der Cholinbedarf aufgrund von Verlusten über Urin und Stuhl möglicherweise noch höher ist, wäre eine grundlegende Änderung der Ernährungsstrategien erforderlich, um eine ausreichende und kontinuierliche Cholinversorgung des Frühgeborenen zu gewährleisten. Dies kann möglicherweise durch eine noch frühere Etablierung der vollen enteralen Ernährung oder eine stärkere Anreicherung von Muttermilch und Formulanahrung mit Cholin erreicht werden. Obwohl sich Cholin erwiesenermaßen in einer Vielzahl von Tierversuchen und auch beim Menschen positiv auf die neurokognitive Entwicklung ausgewirkt hat, konnte in unserer Studie kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Cholinzufuhr und den kognitiven Leistungen im BSID-II nachgewiesen werden. Es werden zukünftige Studien mit größeren Fallzahlen benötigt, um potenziell vorhandene kleine Unterschiede nachzuweisen.

5 Zusammenfassung

Als wesentlicher Bestandteil aller Membran- und Sekretphospholipide (Phosphatidylcholin, Sphingomyelin), sowie als Vorläufermolekül des Neurotransmitters Acetylcholin, spielt Cholin eine bedeutende Rolle in der Differenzierung und Funktion des zentralen Nervensystems. Tierstudien legen nahe, dass insbesondere die adäquate Cholinversorgung in einer frühen perinatalen Phase essentiell für die Entwicklung kognitiver Leistungen ist. Während die Bedeutung des Cholins für die fetale und neonatale Entwicklung allgemein anerkannt ist, wurde seiner Rolle in der Ernährung Frühgeborener bisher nicht viel Aufmerksamkeit zuteil.

Ziel dieser Arbeit war es, einen möglichen Zusammenhang zwischen der Versorgung Frühgeborener mit Cholin und der neurokognitiven Entwicklung dieser Kinder aufzuzeigen. Dazu wurde die tatsächliche Cholinzufuhr im Rahmen des postnatalen Klinikaufenthalts von 93 in den Jahren 2006 und 2007 am Universitätsklinikum Tübingen geborenen Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von < 1000 g oder einem Gestationsalter von < 28 SSW aus den Patientenkurven ermittelt. Zusätzlich wurde die Versorgung mit weiteren Mikro- (Folsäure, Methionin) und Makronährstoffen (Eiweiß, Fett, Kohlenhydrate) untersucht. Es wurde deutlich, dass die Zufuhr an Makronährstoffen unter den 2006/2007 am Uniklinikum Tübingen gültigen Ernährungsregimes die Anforderungen der damals gültigen Ernährungsleitlinien erfüllte, während hingegen die Gesamtcholinzufuhr innerhalb der ersten 28 Lebenstage nur in 2% der Fälle im Bereich der berechneten adäquaten Zufuhr von mindestens 27,4 mg/kg/d lag. Diese Unterversorgung mit Cholin war einerseits der Unreife des Gastrointestinaltrakts der Extremfrühgeborenen geschuldet, welche einen enteralen Nahrungsaufbau teilweise stark verzögerte. Zum anderen traten bei einzelnen Frühgeborenen durch die Unreife bedingte Komplikationen wie NEC oder fokale intestinale Perforationen auf, welche eine enterale Cholinzufuhr weiterhin erschwerten, oder sogar durch septische Komplikationen zusätzlich eine Verminderung der parenteralen Fettzufuhr mit nachfolgender Verminderung der parenteralen Cholinzufuhr bewirkten.

Für die Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen der postnatalen Cholinzufuhr und den kognitiven Leistungen der Frühgeborenen wurden Daten herangezogen, die im korrigierten Alter von durchschnittlich 22,3 Monaten im

Rahmen einer neuropädiatrischen Routine-Untersuchung mithilfe der Bayley Scales of Infant and Toddler Development (Second Edition, BSID-II) im Sozialpädiatrischen Zentrum der Universitätskinderklinik Tübingen erhoben worden waren. Dabei erzielten jene 48 der ursprünglich 93 Kinder (Dropout-Rate 45%), für die zuverlässige Daten vorlagen, mit einem mittleren mentalen Entwicklungsindex (MDI) des BSID-II von 95,5 (\pm 11,9) einen leicht unterdurchschnittlichen Wert. Obwohl Cholin bei Tier und Mensch essentiell für die neurokognitive Entwicklung ist, konnte in unserer kleinen Studie kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Cholinzufuhr und den kognitiven Leistungen der Frühgeborenen im BSID-II im Alter von knapp 2 Jahren nachgewiesen werden. Dies lag vermutlich an der geringen Fallzahl (N=48). Außerdem wurde eine adäquate Cholinzufuhr nur bei einem so geringen Teil der Patienten erreicht, dass die Frage, ob Kinder mit einer adäquaten Cholinzufuhr eine bessere kognitive Entwicklung zeigen, in dieser Studie nicht beantwortet werden kann.

Es sind folglich in der Zukunft weitere prospektive Studien mit ausreichender Fallzahl notwendig, um die optimale Versorgung von Frühgeborenen mit Cholin und deren mögliche Auswirkung auf die neurokognitive Entwicklung zu erforschen.

6 Literaturverzeichnis

1. Grisaru-Granovsky, S., et al., *Population-based Trends in Mortality and Neonatal Morbidities among Singleton, Very Preterm, Very Low Birth Weight Infants over 16 Years Early Human Development*, 2014. **90**(12): p. 821-827.
2. Groenendaal, F., et al., *Complications Affecting Preterm Neonates from 1991 to 2006: What Have We Gained?* Acta Paediatrica, 2010. **99**: p. 354-58.
3. Hack, M. and D.W. Costello, *Trends in the Rates of Cerebral Palsy Associated with Neonatal Intensive Care of Preterm Children*. Clinical Obstetrics and Gynecology, 2008. **51**(4): p. 763-74.
4. Fusch, C., et al., *Neonatologie/Pädiatrie - Leitlinie Parenterale Ernährung der DGEM*. Aktuelle Ernährungsmedizin, 2007. **32**(Supplement 1): p. 72-88.
5. Zeisel, S.H., *Nutritional Importance of Choline for Brain Development*. The Journal of the American College of Nutrition, 2004. **23**: p. 621-26.
6. Zeisel, S.H., *The Fetal Origins of Memory: the Role of Dietary Choline in Optimal Brain Development*, in *Journal of Pediatrics*. 2006. p. 149: 131-36.
7. Zeisel, S.H., *Choline: Needed for Normal Development of Memory*. Journal of the American College of Nutrition, 2000. **19**(5): p. 528-31.
8. Sanders, L.M. and S.H. Zeisel, *Choline: Dietary Requirements and Role in Brain Development*. Nutrition Today, 2007. **42**(4): p. 181-86.
9. Yates, A.A., S.A. Schlicker, and C.W. Suitor, *Dietary Reference Intakes: The new Basis for Recommendations for Calcium and Related Nutrients, B Vitamins and Choline*. Journal of the American Dietetic Association, 1998. **98**: p. 699-706.
10. Königshoff, M., *Kurzlehrbuch Biochemie*. Vol. 2. 2007. 52.
11. Mayer, G. and W. Arneith. *Cholin*. 2016 [cited 2016 18.04.2016]; Available from: <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-03-01632>.
12. Neurotiker. *Cholin*. 2016 [cited 2016 18.04.2016]; Available from: <https://de.wikipedia.org/wiki/Cholin#/media/File:Cholin.svg>.
13. Zeisel, S.H., et al., *Choline, an Essential Nutrient for Humans*. The FASEB Journal, 1991. **5**: p. 2093-98.
14. Zeisel, S.H. and J.K. Blusztajn, *Choline and human nutrition*, in *Annual Reviews in Nutrition*. 1994. p. 14: 269-96.
15. Schmitz, G. and G. Müller, *Structure and Function of Lamellar Bodies, Lipid-Protein Complexes Involved in Storage and Secretion of Cellular Lipids*. The Journal of Lipid Research, 1991. **32**: p. 1539-1570.
16. Cohen, D.E., *Hepatocellular Transport and Secretion of Biliary Phospholipids*. Seminars in Liver Disease, 1996. **16**: p. 191-200.
17. Burdge, B.C., A.N. Hunt, and A.D. Postle, *Mechanisms of Hepatic Phosphatidylcholine Synthesis in Adult Rat: Effects of Pregnancy*. Biochemical Journal, 1994. **303**: p. 941-47.
18. Zeisel, S.H., *Choline - Nutrient Information*, in *American Society for Nutrition*. 2010. p. Adv. Nutr. 1: 46-48.
19. Blusztajn, J.K., *Choline, a vital amine*, in *Science*. 1998. p. 794-95.
20. Vance, D.E., *Phosphatidylcholine Metabolism: Masochistic Enzymology, Metabolic Regulation, and Lipoprotein Assembly*. Biochemistry and Cell Biology, 1990. **68**: p. 1151-65.
21. Farrell, P.M., et al., *Lung Lecithin Biosynthesis In The Nonhuman Primate Fetus: Determination Of The Primary Pathway In Vivo*. Biology Of The Neonate, 1976. **29**: p. 238-46.

22. Watkins, J.D. and C. Kent, *Immunolocalization Of Membrane-Associated CTP:Phosphocholine Cytidylyltransferase In Phosphatidylcholine-Deficient Chinese Hamster Ovary Cells*. The Journal of Biological Chemistry, 1992. **267**(8): p. 5686-5692.
23. Jamil, H., G.M. Hatch, and D. Vance, *Evidence That Binding Of CTP: Phosphocholine Cytidylyltransferase To Membranes In Rat Hepatocytes Is Modulated By The Ratio Of Bilayer- To Non-Bilayer-Forming Lipids*. Biochemical Journal, 1993. **291**: p. 419-27.
24. Yao, Z., H. Jamil, and D.E. Vance, *Choline Deficiency Causes Translocation Of CTP:Phosphocholine Cytidylyltransferase From Cytosol To Endoplasmic Reticulum In Rat Liver*. The Journal of Biological Chemistry, 1990. **265**: p. 4326-31.
25. Aoyama, C., H. Liao, and K. Ishidate, *Structure And Function Of Choline Kinase Isoforms In Mammalian Cells*. Progress in Lipid Research, 2004. **43**: p. 266-81.
26. Li, Z. and D.E. Vance, *Phosphatidylcholine and Choline Homeostasis*. The Journal of Lipid Research, 1998. **49**: p. 1187-94.
27. Chen, A.H., et al., *Phosphatidylcholine and Lysophosphatidylcholine Excretion is Increased in Children with Cystic Fibrosis and is Associated with Plasma Homocysteine, S-adenosylcysteine and S-adenosylmethionine*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005. **81**: p. 686-91.
28. Vance, D.E. and N.D. Ridgway, *The Methylation of Phosphatidylethanolamine*. Progress in Lipid Research, 1988. **27**: p. 61-79.
29. Blusztajn, J.K., S.H. Zeisel, and R.J. Wurtman, *Developmental Changes in the Activity of Phosphatidylethanolamin N-Methyltransferases in Rat Brain*. The Journal of Biochemistry, 1985. **232**: p. 505-11.
30. Yang, E.K., et al., *Rat and Human Mammary Tissue can Synthesize Choline Moiety via the Methylation of Phosphatidylethanolamine*. Biochemical Journal, 1988. **256**: p. 821-28.
31. Sundler, R. and B. Akesson, *Regulation of Phospholipid Biosynthesis in Isolated Rat Hepatocytes*. The Journal of Biological Chemistry, 1975. **250**(9): p. 3359-67.
32. Resseguie, M., et al., *Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase (PEMT) Gene Expression is Induced by Estrogen in Human and Mouse Primary Hepatocytes*. The FASEB Journal, 2007. **21**: p. 2622-32.
33. Fischer, L.M. and S.H. Zeisel, *Sex and Menopausal Status Influence Human Dietary Requirements for the Nutrient Choline*, in *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007. p. 85: 1275-85.
34. Hollenbeck, C.B., *An Introduction to the Nutrition and Metabolism of Choline*. Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry, 2012. **12**(2): p. 100-113.
35. Shrouts, E.P., *Essential Nature of Choline with Implications for Total Parenteral Nutrition*. Journal of the American Dietetic Association, 1997. **97**: p. 639-49.
36. Fischer, L.M., et al., *Choline Intake and genetic polymorphisms influence choline metabolite concentrations in human breast milk and plasma*, in *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2010. p. 92: 336-46.
37. Postle, A.D., G.C. Burdge, and G. Hornstra, *The Composition of Individual Molecular Species of Plasma Phosphatidylcholine in Human Pregnancy*. Early Human Development, 1995. **43**: p. 47-58.

38. Xu, X., et al., *Choline Metabolism and Risk of Breast Cancer in a Population-Based Study*. The FASEB Journal, 2008. **22**: p. 2045-52.
39. Cho, E., et al., *Dietary Choline and Betaine and the Risk of Distal Colorectal Adenoma in Women*. Journal of the National Cancer Institute, 2007. **99**(1224-31).
40. Ibiebele, T.I., et al., *High Intake of Folate from Food Sources is associated with Reduced Risk of Esophageal Cancer in an Australian Population*. Journal of the National Cancer Institute, 2011. **141**: p. 274-83.
41. Cho, E., et al., *Nutrients involved in One-carbon Metabolism and Risk of Breast Cancer among Premenopausal Women*. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 2007. **16**(12): p. 2787-90.
42. Cho, E., et al., *Choline and Betaine Intake and Risk of Breast Cancer among post-menopausal Women*. British Journal of Cancer, 2010. **102**: p. 489-94.
43. Lee, J.E., et al., *Choline and Betaine Intake and the Risk of Colorectal Cancer in Men*. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 2010. **19**(3): p. 884-7.
44. Caudill, M.A., *Pre- and postnatal Health: Evidence of Increased Choline Needs*. Journal of the American Dietetic Association, 2010. **110**: p. 1198-1206.
45. Velzing-Aarts, F.V., et al., *Plasma Choline and Betaine and their Relation to Plasma Homocysteine in Normal Pregnancy*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005. **81**: p. 1383-89.
46. Ilcol, Y.O., G. Uncu, and I.H. Ulus, *Free and Phospholipid-bound Choline Concentrations in Serum During Pregnancy, after Delivery and in Newborns*. Archives of Physiology and Biochemistry, 2002. **110**: p. 393-400.
47. Van der Aa, E.M., et al., *Uptake of Choline into Syncytial Microvillus Membrane Vesicles of Human Term Placenta*. Biochemical Pharmacology, 1994. **47**: p. 453-56.
48. Zeisel, S.H., *Choline, Homocysteine and Pregnancy*, in *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005. p. 82: 719-20.
49. Molloy, A.M., et al., *Choline and Homocysteine Interrelations in Umbilical Cord and Maternal Plasma at Delivery*, in *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005. p. 82: 836-42.
50. Gwee, M.C. and M.K. Sim, *Free Choline Concentration and Cephalin-N-methyltransferase Activity in the Maternal and Foetal Liver and Placenta of Pregnant Rats*. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 1978. **5**: p. 649-53.
51. Gwee, M.C. and M.K. Sim, *Changes in the Concentration of Free Choline and Cephalin-N-Methyltransferase Activity of the Rat Material and Foetal Liver and Placenta during Gestation and of the Maternal and Neonatal Liver in the early Postpartum Period*. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 1979. **6**: p. 259-65.
52. Zeisel, S.H., et al., *Pregnancy and Lactation are Associated with Diminished Concentrations of Choline and its Metabolites in Rat Liver*. Journal of Nutrition, 1995. **125**: p. 3049-54.
53. Zeisel, S.H. and R.J. Wurtman, *Developmental Changes in Rat Blood Choline Concentration*. Biochemical Journal, 1981. **198**: p. 565-570.
54. Vollset, S., et al., *Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: The Hordaland Homocysteine study*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000. **71**: p. 962-68.
55. Zeisel, S.H., *The Supply of Choline is Important for Fetal Progenitor Cells*, in *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2011. p. 624 - 28.

56. Meck, W.H., R.A. Smith, and C.L. Williams, *Pre- and Postnatal Choline Supplementation Produces Long-Term Facilitation of Spatial Memory*. *Developmental Psychobiology*, 1988. **21**: p. 339-53.
57. Loy, R., et al., *Choline-Induced Spatial Memory Facilitation Correlates with Altered Distribution and Morphology of Septal Neurons*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1991. **295**: p. 373-82.
58. Williams, C.L., et al., *Hypertrophy of basal forebrain neurons and enhanced visuospatial memory in perinatally choline-supplemented rats*, in *Brain Research*. 1998. p. 794: 225-38.
59. Jones III, J.P., et al., *Choline availability to the developing rat fetus alters adult hippocampal long-term potentiation*, in *Developmental Brain Research (118)*. 1999. p. 159-67.
60. Meck, W.H., R.A. Smith, and C.L. Williams, *Organizational Changes in Cholinergic Activity and Enhanced Visuospatial Memory as a Function of Choline Administered Prenatally or Postnatally or Both*. *Behavioural Neuroscience*, 1989. **103**: p. 1234-41.
61. Czeizel, A.E. and I. Dudas, *Prevention of the First Occurrence of Neural-Tube Defects by Periconceptional Vitamin Supplementation*, in *The New England Journal of Medicine*. 1992. p. 1832-35.
62. Czeizel, A.E., L. Timar, and A. Sarközi, *Dose-dependant Effect of Folic Acid on the Prevention of Orofacial Clefts*, in *Pediatrics Vol. 104 No. 6*. 1999.
63. Shaw, G.M., et al., *Periconceptional Dietary Intake of Choline and Betaine and Neural Tube Defects in Offspring*, in *American Journal of Epidemiology*. 2004. p. 160: 102-09.
64. Shaw, G.M., et al., *Choline and Risk of Neural Tube Defects in a Folate-fortified Population*. *Epidemiology*, 2009. **20**(5): p. 714-19.
65. Fisher, M.C., et al., *Inhibitors of Choline Uptake and Metabolism Cause Developmental Abnormalities in Neurotating Mouse Embryos*. *Teratology*, 2001. **64**: p. 114-22.
66. McMahon, K.E. and P.M. Farrell, *Measurement of Free Choline Concentrations in Maternal and Neonatal Blood by Micropyrolysis Gas Chromatography*. *Clinica Chimica Acta*, 1985. **149**: p. 1-12.
67. Jensen, H., et al., *Choline in the Diets of the US Population: NHANES, 2003-2004*. *FASEB J*, 2007. **21**: p. 1b219.
68. Yan, J., et al., *Maternal Choline Intake Modulates Maternal and Fetal Biomarkers of Choline Metabolism in Humans* *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2012. **95**: p. 1060-71.
69. Jiang, X., et al., *A Higher Maternal Choline Intake Among Third-Trimester Pregnant Women Lowers Placental and Circulating Concentrations of the Antiangiogenic Factor fms-like Tyrosine kinase-1 (sFLT1)*. *The FASEB Journal*, 2013. **27**: p. 1245-53.
70. Zeisel, S.H., D. Char, and N.F. Sheard, *Choline, Phosphatidylcholine and Sphingomyelin in Human and Bovine Milk and Infant Formulas*. *Journal of Nutrition*, 1986. **116**: p. 50-58.
71. Rohlf, E.M., et al., *Glycerophosphocholine and Choline are the Major Choline Metabolites in Rat Milk*. *Journal of Nutrition*, 1993. **123**: p. 1762-68.
72. Ilcol, Y.O., et al., *Choline Status in Newborns, Infants, Children, Breast-feeding Women, Breast-fed Infants and Human Breast Milk*. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2005. **16**: p. 489-99.
73. Koletzko, B., et al., *1. Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*

- (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paediatric Research (ESPR). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2005. **41**: p. 1-4.
74. Zeisel, S.H., M.F. Epstein, and R.J. Wurtman, *Elevated Choline Concentration in Neonatal Plasma*. *Life Sciences*, 1980. **26**: p. 1827-31.
 75. Blusztajn, J.K. and R.J. Wurtman, *Choline and Cholinergic Neurons*. *Science*, 1983. **221**: p. 614-20.
 76. Braun, L.D., E.M. Conford, and W.H. Oldendorf, *Newborn Rabbit Blood-Brain Barrier is Selectively Permeable and Differs substantially from the Adult*. *Journal of Neurochemistry*, 1980. **34**: p. 147-52.
 77. Klein, J., A. Koppen, and K. Loffelholz, *Small Rises in Plasma Choline Reverse the Negative Arteriovenous Difference of Brain Choline*. *Journal of Neurochemistry*, 1990. **55**: p. 1231-36.
 78. Holmes-McNary, M.Q., et al., *Choline and Choline Esters in Human and Rat Milk and in Infant Formulas*. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1996. **64**: p. 572-76.
 79. Food and Nutrition Board, I.o.M., National Academy of Sciences, *Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B-6, Vitamin B-12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. National Academy Press, Washington DC, 1998. **1**: p. 390-422.
 80. Wikland, K.A., et al., *Swedish Population-based Longitudinal Reference Values from Birth to 18 Years of Age for Height, Weight and Head Circumference*. *Acta Paediatrica*, 2002. **91**: p. 739-754.
 81. Bernhard, W., et al., *Choline Supply of Preterm Infants: Assessment of Dietary Intake and Pathophysiological Considerations*. *European Journal of Nutrition*, 2013. **52**: p. 1269-78.
 82. Ehrenkranz, R.A., et al., *Growth in the Neonatal Intensive Care Unit Influences Neurodevelopmental and Growth Outcomes of Extremely Low Birthweight Infants*. *Pediatrics*, 2006. **117**(4): p. 1253-61.
 83. Embleton, N.E., N. Pang, and R.J. Cooke, *Postnatal Malnutrition and Growth Retardation: An Inevitable Consequence of Current Recommendations in Preterm Infants?* *The Journal of Pediatrics*, 2001. **107**: p. 270-73.
 84. Stephens, B.E., et al., *First-Week Protein and Energy Intakes Are Associated With 18-Month Developmental Outcomes in Extremely Low Birth Weight Infants*. *Pediatrics*, 2009. **123**(5): p. 1337-43.
 85. Franz, A.F., et al., *Intrauterine, Early Neonatal, and Postdischarge Growth and Neurodevelopmental Outcome at 5.4 Years in Extremely Preterm Infants After Intensive Neonatal Nutritional Support*. *Pediatrics*, 2009. **123**: p. 101-09.
 86. Mishra, S., et al., *Minimal Enteral Nutrition*. *The Indian Journal of Pediatrics*, 2008. **75**(3): p. 267-69.
 87. Tyson, J.E. and K.A. Kennedy, *Minimal Enteral Nutrition for Promoting Feeding Tolerance and Preventing Morbidity in Parenterally Fed Infants*. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2000.
 88. Murphy, K.E., et al., *Multiple Courses of Antenatal Corticosteroids For Preterm Birth (MACS): A Randomized Controlled Trial*. *The Lancet*, 2008. **372**: p. 2143-51.
 89. Fabres, J., et al., *Both Extremes of Arterial Carbon Dioxide Pressure and the Magnitude of Fluctuations in Arterial Carbon Dioxide Pressure Are Associated With Severe Intraventricular Hemorrhage in Preterm Infants*. *Pediatrics*, 2007. **119**(2): p. 299-305.

90. Schmid, M.B., et al., *Prospektive Überwachung von Risikofaktoren reduziert Hirnblutungsrate bei Frühgeborenen*. Deutsches Ärzteblatt, 2013. **29-30**: p. 489-96.
91. Heuchan, A.M., et al., *Perinatal Risk Factors for Major Intraventricular Haemorrhage in the Australian and New Zealand Neonatal Network, 1995–97*. Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition, 2002. **86**: p. 86-90.
92. Synnes, A.R., et al., *Variations in Intraventricular Hemorrhage Incidence Rates Among Canadian Neonatal Intensive Care Units*. Pediatrics, 2001. **138**: p. 525-31.
93. McMenamin, J.B., G.D. Shackelford, and J.J. Volpe, *Outcome of Neonatal Intraventricular Hemorrhage with Periventricular Echodense Lesions*. Annals of Neurology, 1984. **15**: p. 285-90.
94. Volpe, J.J., *Brain Injury in the Premature Infant - from the Pathogenesis to Prevention*. Brain and Development, 1997. **19**(519-34).
95. Hatzidaki, E., et al., *Risk Factors for Periventricular Leukomalacia*. Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica, 2009. **88**(1): p. 110-15.
96. Gerstner, B., et al., *Hyperoxia Causes Maturation-Dependent Cell Death in the Developing White Matter*. The Journal of Neuroscience, 2008. **28**(5): p. 1236-45.
97. Lorenz, B., *Screening for Retinopathy of Prematurity*. Pediatric Ophthalmology, Neuro-Ophthalmology, Genetics; Springer, Berlin, 2006: p. 63-79.
98. Allegaert, K., et al., *Perinatal Growth Characteristics and Associated Risk of Developing Threshold Retinopathy of Prematurity*. Journal of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, 2003. **7**: p. 34-37.
99. McGolm, J.R. and B.W. Fleck, *Retinopathy of Prematurity: Causation*. Seminars in Neonatology, 2001. **6**(6): p. 453-60.
100. Penn, J.S., et al., *The Range of PaO₂ Variation Determines the Severity of Oxygen-Induced Retinopathy in Newborn Rats*. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 1995. **36**: p. 2063-70.
101. Ben-Sira, I., et al., *An International Classification of Retinopathy of Prematurity*. Pediatrics, 1984. **74**: p. 127-33.
102. Tarnow-Mordi, W. and G. Parry, *The CRIB (Clinical Risk Index for Babies) Score: A Tool for Assessing Initial Neonatal Risk and Comparing Performance of Neonatal Intensive Care Units*. The Lancet, 1993. **342**: p. 193-98.
103. Schnabl, K.L., et al., *Necrotizing Enterocolitis: A Multifactorial Disease With No Cure*. World Journal of Gastroenterology, 2008. **14**: p. 2142-61.
104. Henry, M.C.W. and R.L. Moss, *Current Issues in the Management of Necrotizing Enterocolitis*. Seminars in Perinatology, 2004. **28**(3): p. 221-33.
105. Kliegman, R.M. and M.C. Walsh, *Neonatal Necrotizing Enterocolitis: Pathogenesis, Classification, and Spectrum of Illnesses*. Current Problems in Pediatrics, 1987. **17**(4): p. 219-88.
106. Kliegman, R.M., W.A. Walker, and R.H. Yolken, *Necrotizing Enterocolitis: Research Agenda for a Disease of Unknown Etiology and Pathogenesis*. Pediatric Research, 1993. **34**(701-08).
107. Bell, M.J., et al., *Neonatal Necrotizing Enterocolitis - Therapeutic Decisions Based Upon Clinical Staging*. Annals of Surgery, 1978. **187**(1): p. 1-7.
108. Bax, M.C., *Terminology and Classification of CP*. Developmental Medicine and Child Neurology, 1964. **11**: p. 295-97.

109. Krägeloh-Mann, I., et al., *Bilateral Spastic Cerebral Palsy - A Comparative Study Between Southwest Germany and Western Sweden. I: Clinical Patterns and Disabilities*. Developmental Medicine and Child Neurology, 1993. **35**: p. 1037-47.
110. Michaelis, R. and K. Edebol-Tysk, *New Aetiopathological and Nosological Aspects of Cerebral Palsy Syndromes*. Giornale di Neuropsichiatria dell'eta' Evolutiva, 1989. **3**: p. 25-30.
111. Niemann, G. and R. Michaelis, *Zerebralparese (I) - Analyse eines Begriffs*. Klinische Pädiatrie, 1996. **208**(5): p. 276-79.
112. Reinhardt, D., *Therapie der Krankheiten im Kindes- und Jugendalter*. Vol. 8. 2007, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
113. Krägeloh-Mann, I. and G. Niemann, *Zur Diskussion um die so genannten Zerebralparesen*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2002. **150**: p. 1397-1401.
114. Hagberg, B. and G. Hagberg, *The Origins of Cerebral Palsy*. Recent Advances in Pediatrics, 1993. **11**: p. 67-83.
115. Palisano, R.J., et al., *Validation of a Model of Gross Motor Function for Children With Cerebral Palsy*. Physical Therapy, 2000. **80**(10): p. 974-85.
116. Heinen, F., et al. *Gross Motor Function Classification System - Klassifikation und Therapiekurven für Kinder mit Zerebralparesen Version 3_2014*. 2014 [cited 2016 17.04.2016]; Available from: http://www.klinikum.uni-muenchen.de/mashup/blaetterkatalog_ispz_gmfcs/blaetterkatalog/pdf/complet_e.pdf.
117. Reuner, G. and J. Pietz, *Entwicklungsdiagnostik im Säuglings- und Kleinkindalter*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2006. **154**: p. 305-13.
118. Bayley, N., *Bayley Scales of Infant Development—Second Edition*. 1993, San Antonio: TX: The Psychological Corporation.
119. Bayley, N., *Test Reviews - Bayley, N. (2006). Bayley Scales of Infant and Toddler Development—Third Edition*. San Antonio, TX: Harcourt Assessment. Journal of Psychoeducational Assessment, 2007. **25**(2): p. 180-98.
120. Reuner, G., et al., *Comparison of the Developmental Tests Bayley-III and Bayley-II in 7-month-old Infants Born Preterm*. European Journal of Pediatrics, 2013. **172**: p. 393-400.
121. Zeisel, S.H., *Choline: Critical Role During Fetal Development and Dietary Requirements in Adults*. Annual Review of Nutrition, 2006. **26**: p. 229-50.
122. Udipi, S.A., et al., *Vitamin B6, Vitamin C and Folicin Levels in Milk from Mothers of Term and Preterm Infants During the Neonatal Period*. The American Journal of Clinical Nutrition, 1985. **42**: p. 522-30.
123. De Onis, M. and M. Blössner, *WHO Global Database on Child Growth and Malnutrition*. 1997, Geneve: World Health Organization.
124. Delgado, H., et al., *Use and Interpretation of Anthropometric Indicators of Nutritional Status*. Bulletin of the World Health Organization, 1986. **64**(4): p. 929-41.
125. Gorstein, J., et al., *Issues in the Assessment of Nutritional Status Using Anthropometry*. Bulletin of the World Health Organization, 1994. **72**(2): p. 273-83.
126. Rodemann, S.M., *Anthropometrische, motorische und kognitive Entwicklung im Alter von 8 Jahren bei ehemaligen Frühgeborenen mit GG ≤ 1500 g und/oder Gestationsalter ≤ 32 SSW*. 2012, Tübingen.
127. Agostoni, C., et al., *Enteral Nutrient Supply for Preterm Infants: Commentary From the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and*

- Nutrition Committee on Nutrition. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2010. **50**(1): p. 85-91.
128. Hack, M. and N. Breslau, *Very Low Birth Weight Infants: Effects of Brain Growth During Infancy on Intelligence Quotient at 3 Years of Age*. *Pediatrics*, 1986. **77**: p. 196-202.
 129. Cooke, R.W.I., *Are there Critical Periods for Brain Growth in Children Born Preterm?* *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*, 2006. **91**: p. 17-20.
 130. Riegel, K., B. Ohrt, and R. Brandmaier, *Prognose von Früh- und Mangelgeborenen, in Pädiatrische Praxis*. 1990, Hans Marseille Verlag GmbH. p. 587-97.
 131. Wolke, D., et al., *Follow-Up of Preterm Children: Important to Document Dropouts*. *The Lancet*, 1995. **345**: p. 447.
 132. Castro, L., et al., *Bias in Reported Neurodevelopmental Outcomes Among Extremely Low Birth Weight Survivors*. *Pediatrics*, 2004. **114**(2): p. 404-10.
 133. Wilson-Costello, D., et al., *Improved Survival Rates With Increased Neurodevelopmental Disability For Extremely Low Birth Weight Infants in the 1990s*. *Pediatrics*, 2005. **115**: p. 997-1003.
 134. Wilson-Costello, D., et al., *Improved Neurodevelopmental Outcomes for Extremely Low Birth Weight Infants in 2000-2002*. *Pediatrics*, 2007. **119**(1): p. 37-45.
 135. Vohr, B.R., et al., *Neurodevelopmental and Functional Outcomes of Extremely Low Birth Weight Infants in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 1993–1994*. *Pediatrics*, 2000. **105**: p. 1216-26.
 136. Benjamin, D.K., et al., *Neonatal Candidiasis Among Extremely Low Birth Weight Infants: Risk Factors, Mortality Rates, and Neurodevelopmental Outcomes at 18 to 22 Months*. *Pediatrics*, 2006. **117**: p. 84-92.
 137. Wood, N.S., et al., *Neurologic and Developmental Disability after Extremely Preterm Birth*. *The New England Journal of Medicine*, 2000. **343**(6): p. 378-84.
 138. Hack, M., et al., *Neurodevelopment and Predictors of Outcomes of Children with Birth Weights of Less Than 1000g*. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*, 2000. **154**: p. 725-31.
 139. Weber, T., *Entwicklung unkomplizierter mono- und bilingual aufwachsender Frühgeborener im Alter von 6 und 12 Monaten, in Klinik für Neonatologie*. 2008, Charité Universitätsmedizin Berlin: Berlin. p. 80.
 140. Kitchen, W.H., et al., *Children of Birth Weight < 1000 g: Changing Outcome Between Ages 2 and 5 Years*. *The Journal of Pediatrics*, 1987. **110**: p. 283-88.
 141. Kindl, G., *Nachuntersuchung Extrem Kleiner Frühgeborener mit der Bayley Mental Scale im Alter von Drei Jahren, in Kinderklinik*. 2009, Julius-Maximilians-Universität Würzburg: Würzburg. p. 120.
 142. Laptook, A.R., et al., *Adverse Neurodevelopmental Outcomes Among Extremely Low Birth Weight Infants With a Normal Head Ultrasound: Prevalence and Antecedents*. *Pediatrics*, 2005. **115**: p. 673-80.
 143. Vohr, B.R., et al., *Beneficial Effects of Breast Milk in the Neonatal Intensive Care Unit on the Developmental Outcome of Extremely Low Birth Weight Infants at 18 Months of Age*. *Pediatrics*, 2006. **118**(1): p. e115-23.
 144. Hack, M., et al., *Poor Predictive Validity of the Bayley Scales of Infant Development for Cognitive Function of Extremely Low Birth Weight Children at School Age*. *Pediatrics*, 2005. **116**: p. 333-41.

145. Gross, S.J., J. Geller, and R.M. Tomarelli, *Composition of Breast Milk From Mothers of Preterm Infants*. *Pediatrics*, 1981. **68**(4): p. 490-93.
146. Bitman, J., et al., *Comparison of the Lipid Composition of Breast Milk From Mothers of Term and Preterm Infants* *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1983. **38**: p. 300-312.
147. Lönnerdal, B., et al., *Breast Milk Composition in Ethiopian and Swedish Mothers. II. Lactose, Nitrogen, and Protein Contents*. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1976. **29**: p. 1134-41.
148. Arslanoglu, S., G.E. Moro, and E.E. Ziegler, *Preterm Infants Fed Fortified Human Milk Receive Less Protein Than They Need*. *Journal of Perinatology*, 2009. **29**: p. 489-92.
149. Van der Schoor, S.R.D., et al., *Lysine Kinetics in Preterm Infants: The Importance of Enteral Feeding*. *Gut*, 2004. **53**: p. 38-43.
150. Als, H., et al., *A Three-Center, Randomized, Controlled Trial of Individualized Developmental Care for Very Low Birth Weight Preterm Infants: Medical, Neurodevelopmental, Parenting and Caregiving Effects*. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 2003. **24**(6): p. 399-408.
151. Stewart, A.L., E.O.R. Reynolds, and A.P. Lipscomb, *Outcome for Infants of Very Low Birth Weight: Survey of World Literature*. *The Lancet*, 1981: p. 1038-1041.
152. Hack, M., et al., *Outcomes in Young Adulthood For Very-Low-Birth-Weight Infants*. *The New England Journal of Medicine*, 2002. **346**(3): p. 149-57.
153. Horbar, J.D., et al., *Mortality and Neonatal Morbidity Among Infants 501 to 1500 Grams From 2000 to 2009*. *Pediatrics*, 2012. **129**(6): p. 1019-26.
154. Aarnoudse-Moens, C.S.H., et al., *Meta-Analysis of Neurobehavioral Outcomes in Very Preterm and/or Very Low Birth Weight Children*. *Pediatrics*, 2009. **124**: p. 717-28.
155. Stevenson, D.K., et al., *Very Low Birth Weight Outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, January 1993 through December 1994*. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1998. **179**: p. 1632-9.
156. Fanaroff, A.A., et al., *Trends in Neonatal Morbidity and Mortality for Very Low Birth Weight Infants*. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2007. **196**: p. 147.e1-147.e.8.
157. Gortner, L. and E. Landmann, *Prognose extrem unreifer Frühgeborener*. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 2005. **153**: p. 1148-56.
158. Neubauer, A.P., W. Voss, and E. Kattner, *Outcome of Extremely Low Birth Weight Survivors at School Age: The Influence of Perinatal Parameters on Neurodevelopment*. *European Journal of Pediatrics*, 2008. **167**: p. 87-95.
159. Moster, D., R.T. Lie, and T. Markestad, *Long-Term Medical and Social Consequences of Preterm Birth*. *The New England Journal of Medicine*, 2008. **359**: p. 262-73.
160. Anderson, P.J. and L.W. Doyle, *Cognitive and Educational Deficits in Children Born Extremely Preterm*. *Seminars in Perinatology*, 2008. **32**: p. 51-58.
161. Saigal, S., et al., *School-Age Outcomes In Children Who Were Extremely Low Birth Weight From Four International Population-Based Cohorts*. *Pediatrics*, 2003. **112**(4): p. 943-950.
162. Lefebvre, F., E. Mazurier, and R. Tessier, *Cognitive and Educational Outcomes in Early Adulthood for Infants Weighing 1000 Grams or Less at Birth*. *Acta Paediatrica*, 2005. **94**: p. 733-40.

163. Macha, T. and F. Petermann, *Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third Edition - Deutsche Fassung*. Zeitschrift für Psychiatrie, Psychologie und Psychotherapie, 2015. **63**(2): p. 139-43.
164. Wolke, D. and B. Söhne, *Wenn der Schein trügt: Zur kritischen Interpretation von Entwicklungsstudien*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 1997. **145**: p. 444-56.
165. Hanke, C., *Die Entwicklung frühgeborener Kinder mit sehr niedrigem Geburtsgewicht im Vorschulalter*, in *Fachbereich Psychologie*. 2002, Philipps-Universität Marburg: Marburg. p. 124.
166. Wolke, D., et al., *The Cognitive Outcome of Very Preterm Infants May Be Poorer Than Often Reported: An Empirical Investigation of How Methodological Issues Make a Big Difference*. European Journal of Pediatrics, 1994. **153**: p. 906-15.
167. Flynn, J.R., *Massive IQ Gains in 14 Nations: What IQ Tests Really Measure*. Psychological Bulletin, 1987. **101**: p. 171-91.
168. Flynn, J.R., *The Mean IQ of Americans: Massive Gains 1932 to 1978* Psychological Bulletin, 1984. **95**(1): p. 29-51.
169. Teasdale, T.W. and D.R. Owen, *Forty-Year Secular Trends in Cognitive Abilities*. Intelligence, 2000. **28**(2): p. 115-20.
170. Colom, R. and O. Garcia-Lopez, *Secular Gains in Fluid Intelligence: Evidence From the Culture-Fair Intelligence Test*. Journal of Biosocial Science, 2003. **35**: p. 33-39.
171. Colom, R., J.M. Lluís-Font, and A. Andrés-Pueyo, *The Generational Intelligence Gains Are Caused By Decreasing Variance In The Lower Half Of The Distribution: Supporting Evidence For The Nutrition Hypothesis*. Intelligence, 2005. **33**: p. 83-91.
172. Aylward, G.P., *Cognitive And Neuropsychological Outcomes: More Than IQ Scores*. Mental Retardation And Developmental Disabilities Research Reviews, 2002. **8**: p. 234-40.
173. Hoekstra, R.E., et al., *Survival and Long-Term Neurodevelopmental Outcome of Extremely Premature Infants Born at 23-26 Weeks' Gestational Age at a Tertiary Center*. Pediatrics, 2004. **113**: p. e1-e6.
174. Voss, W., et al., *Neurodevelopmental Outcome in Extremely Low Birth Weight Infants: What Is The Minimum Age For Reliable Developmental Prognosis?* Acta Paediatrica, 2007. **96**: p. 342-57.
175. Doyle, L.W., et al., *Cognitive Outcome at 24 Months Is More Predictive Than At 18 Months For IQ At 8-9 Years In Extremely Low Birth Weight Children*. Early Human Development, 2012. **88**: p. 95-98.
176. Tong, S., P. Baghurst, and A. McMichael, *Birthweight and Cognitive Development During Childhood*. Journal of Paediatrics and Child Health, 2006. **42**: p. 98-103.
177. Macha, T., A. Proske, and F. Petermann, *Validität von Entwicklungstests*. Kindheit und Entwicklung, 2005. **14**(3): p. 150-62.
178. Maas, C., et al., *Choline and Polyunsaturated Fatty Acids in Preterm Infants' Maternal Milk*. European Journal of Nutrition, 2016: p. 1-10.
179. Pynn, C.J., et al., *Specificity And Rate Of Human And Mouse Liver And Plasma Phosphatidylcholine Synthesis Analyzed In Vivo*. Journal of Lipid Research, 2011. **52**: p. 399-407.
180. Bernhard, W., et al., *Mass Spectrometric Analysis Of Surfactant Metabolism in Human Volunteers Using Deuteriated Choline*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2004. **170**: p. 54-58.

181. Hartnoll, G., P. Betremieux, and N. Modi, *Body Water Content of Extremely Preterm Infants At Birth*. Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition, 2000. **83**: p. F56-59.
182. Lieser, U., *Neonatologie - Die Medizin des Früh- und Reifgeborenen*. 2010, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG. 693.
183. Voigt, M., et al., *Birth Weight Percentile Charts Based On Daily Measurements For Very Preterm Male And Female Infants At The Age Of 154–223 Days*. Journal of Perinatal Medicine, 2010. **38**: p. 289-95.
184. Bernhard, W., et al., *Choline Concentrations Are Lower In Postnatal Plasma Of Preterm Infants Than In Cord Plasma*. European Journal of Nutrition, 2015. **54**: p. 733-41.
185. Scott, B.L. and N.G. Bazan, *Membrane Docosahexaenoate Is Supplied To The Developing Brain And Retina By The Liver*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989. **86**(8): p. 2903-7.
186. Holmes, H.C., G.J.A.I. Snodgrass, and R.A. Iles, *Changes In The Choline Content Of Human Breast Milk In The First 3 Weeks After Birth*. European Journal of Pediatrics, 2000. **159**: p. 198-204.
187. Li, Z. and D.E. Vance, *Phosphatidylcholine and Choline Homeostasis*. Journal of Lipid Research, 2008. **49**: p. 1187-94.
188. Blusztajn, J.K. and T.J. Mellot, *Choline Nutrition Programs Brain Development Via DNA And Histone Methylation*. Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry, 2012. **12**: p. 82-94.
189. Finkelstein, J.D., *Metabolic Regulatory Properties Of S-Adenosylmethionine and S-Adenosylhomocysteine*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2007. **45**(12): p. 1694-99.
190. Brosnan, J.T. and M.E. Brosnan, *The Sulfur-Containing Amino Acids: An Overview*. Journal of Nutrition, 2006. **136**: p. 1636S-40S.
191. Resseguie, M.E., et al., *Aberrant Estrogen Regulation of PEMT Results In Choline Deficiency-Associated Liver Dysfunction*. The Journal of Biological Chemistry, 2011. **286**(2): p. 1649-58.
192. Koletzko, B., et al., *Global Standard For The Composition Of Infant Formula: Recommendations For The ESPGHAN Coordinated International Expert Group*. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2005. **41**: p. 584-99.
193. Huang, L., et al., *Methionine Requirement Of The Enterally Fed Term Infant In The First Month Of Life In The Presence Of Cysteine*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2012. **95**: p. 1048-54.
194. Simmer, K. and S.C. Rao, *Early Introduction Of Lipids To Parenterally-Fed Preterm Infants*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2005(2): p. 1-30.
195. Koletzko, B., et al., *Physiological Aspects Of Human Milk Lipids*. Early Human Development, 2001. **65**: p. S3-S18.
196. Georgieff, M.K., *Nutrition And The Developing Brain: Nutrient Priorities And Measurement*. The American Journal of Clinical Nutrition, 2007. **85**: p. 614S-20S.
197. Clandinin, T., et al., *Growth And Development Of Preterm Infants Fed Formulas Containing Docosahexaenoic Acid And Arachidonic Acid*. Journal of Pediatrics, 2005. **146**: p. 461-8.
198. Cohen, J.T., et al., *A Quantitative Analysis Of Prenatal Intake Of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids And Cognitive Development*. American Journal of Preventive Medicine, 2005. **29**(4): p. 366-74.

199. Helland, I.B., et al., *Maternal Supplementation With Very-Long-Chain n-3 Fatty Acids During Pregnancy And Lactation Augments Children's IQ At 4 Years Of Age*. *Pediatrics* 2003. **111**: p. e39-e44.
200. Koletzko, B., et al., *The Roles Of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids In Pregnancy, Lactation And Infancy: Review Of Current Knowledge And Consensus Recommendations*. *Journal of Perinatal Medicine*, 2008. **36**(1): p. 5-14.
201. Jensen, C.L., et al., *Effects Of Maternal Docosahexaenoic Acid Intake On Visual Function And Neurodevelopment In Breastfed Term Infants*. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005. **82**: p. 125-32.
202. Birch, E.E., et al., *Visual Acuity And The Essentiality Of Docosahexanoic Acid And Arachidonic Acid In The Diet Of Term Infants*. *Pediatric Research*, 1998. **44**: p. 201-09.
203. Birch, E.E., et al., *Dietary Essential Fatty Acid Supply And Visual Acuity Development*. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 1992. **33**(11): p. 3242-53.
204. Makrides, M., et al., *Are Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids Essential Nutrients In Infancy?* *Lancet*, 1995. **345**: p. 1463-8.
205. Ziegler, E.E., *Meeting The Nutritional Needs Of The Low-Birth-Weight-Infant*. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2011. **58**: p. 8-18.
206. Embleton, N.D., *Optimal Protein and Energy Intakes In Preterm Infants*. *Early Human Development*, 2007. **83**: p. 831-37.
207. Olsen, I.E., et al., *Intersite Differences in Weight Growth Velocity Of Extremely Premature Infants* *Pediatrics*, 2002. **110**: p. 1125-32.
208. Carlson, S.J. and E.E. Ziegler, *Nutrient Intakes And Growth Of Very Low Birth Weight Infants*. *Journal of Perinatology*, 1998. **18**(4): p. 252-58.
209. Loys, C.-M., et al., *Extremely Low Birthweight Infants: How Neonatal Intensive Care Unit Teams Can Reduce Postnatal Malnutrition And Prevent Growth Retardation*. *Acta Paediatrica*, 2012. **102**: p. 242-48.
210. Lucas, A., *Programming By Early Nutrition In Man*. 1991, Chichester: Wiley.
211. Ernst, K.D., et al., *Postnatal Malnutrition Of Extremely Low Birth-Weight Infants With Catch-Up Growth Postdischarge*. *Journal of Perinatology*, 2003. **23**: p. 477-82.
212. Vohr, B.R., et al., *Are Outcomes Of Extremely Low Birth Weight Infants Improving? Impact Of Bayley Assessment On Outcomes*. *The Journal of Pediatrics*, 2012. **161**: p. 222-28.
213. Bhutta, A.T., et al., *Cognitive And Behavioral Outcomes Of School-Aged Children Who Were Born Preterm*. *The Journal of The American Medical Association*, 2002. **288**(6): p. 728-37.
214. Wolke, D., J. Schulz, and R. Meyer, *Entwicklungslangzeitfolgen bei ehemaligen, sehr unreifen Frühgeborenen*. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 2001. **149**: p. S53-S61.
215. Gale, C.R., S. Walton, and C.N. Martyn, *Foetal and Postnatal Head Growth And Risk Of Cognitive Decline In Old Age*. *Brain*, 2003. **126**: p. 2273-78.
216. Stathis, S.L., et al., *Head Circumference In ELBW Babies Is Associated With Learning Difficulties And Cognition But Not ADHD In The School-Aged Child*. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 1999. **41**: p. 375-80.
217. McCollm, J.R. and B.W. Fleck, *Retinopathy Of Prematurity: Causation*. *Seminars in Neonatology*, 2001. **6**: p. 453-60.

7 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die vorliegende Arbeit wurde in der Universitätskinderklinik Tübingen, Abteilung Neonatologie, unter Betreuung von PD Dr. med. Axel Franz durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Dr. Wolfgang Bernhard.

Die Erhebung der Daten zur enteralen Ernährung der Frühgeborenen wurde nach Einweisung durch PD Dr. Franz von mir eigenständig durchgeführt. Die Erhebung der Daten zur parenteralen Ernährung erfolgte mit Unterstützung durch Oberarzt der Neonatologie Dr. med. Jörg Arand.

Die Daten zur neurokognitiven Entwicklung wurden durch das SPZ der Universitätskinderklinik Tübingen erhoben.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Die Abbildungen 16, 17, 18, 21, 22, 28 und 29 wurden von mir eigenständig in Anlehnung an Fig. 2A, 3B, 3A, 4A, 4B, 6A, 6B aus dem Paper „Choline Supply of Preterm Infants: Assessment of Dietary Intake and Pathophysiological Considerations“ von Bernhard, W., Full, A., Arand, J. et al. (2012) erstellt.

Heilbronn, den 22.08.2016

